



UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

FACULTAD DE VETERINARIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y SANIDAD ANIMAL

**“ESTADO ACTUAL DE LA CONTAMINACIÓN POR METALES
PESADOS Y PESTICIDAS ORGANOCORADOS EN EL
PARQUE NATURAL DE MONFRAGÜE”**

Memoria que presenta el Licenciado en
Veterinaria D. Jesús Pablo García Cambero
para optar al grado de Doctor

VºBº LOS DIRECTORES

Fdo.: Francisco Soler Rodríguez Fdo.: Maria del Prado Miguez Santiyán
Cáceres, junio de 2002

Edita: Universidad de Extremadura

Servicio de Publicaciones

c/ Pizarro, 8

Cáceres 10071

Correo e.: publicac@unex.es

<http://www.pcid.es/public.htm>

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que en todo momento me han apoyado en la realización de este trabajo. En especial, a mis directores de Tesis, mis compañeros de trabajo, mis amigos y a mi familia.

Agradecer la colaboración de D. Ángel Rodríguez, Director del Parque Natural de Monfragüe en la realización de este estudio y a los Agentes de Medioambiente del Parque Natural por su colaboración en la tarea de recogida de muestras de agua y peces.

Agradecer también a la Consejería de Educación y Juventud de la Junta de Extremadura por la financiación de parte de este proyecto de investigación.

I.- INTRODUCCIÓN.....	1
II.- REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.....	5
1.- El Parque Natural de Monfragüe.....	5
1.1.-Introducción.....	5
1.2.-Características e importancia del Parque Natural de Monfragüe	5
2.- Plaguicidas Organoclorados.....	13
2.1.-Introducción.....	13
2.2.-Concepto de plaguicida.....	13
2.3.-Evolución histórica de los plaguicidas organoclorados.....	14
2.4.-Restricciones al uso de pesticidas organoclorados.....	16
2.5.-Identidad, propiedades y usos de los plaguicidas organoclorados.....	18
• DDT	20
• Análogos del DDT	21
• HCH.....	24
• Derivados ciclodiénicos	25
• Derivados del pentaclorociclodecano	28
2.6.-Distribución medioambiental de los pesticidas organoclorados	29
• Fuentes de plaguicidas organoclorados en el medio ambiente.....	29
• Movimiento de residuos de organoclorados en el medio ambiente.....	31
• Distribución y niveles de plaguicidas organoclorados en los diferentes sistemas acuáticos.....	35
-Plaguicidas organoclorados en agua	35
-Niveles de organoclorados en agua.....	37
-Legislación relativa a la protección del medio acuático.....	41
-Plaguicidas organoclorados en la materia en suspensión	43
-Plaguicidas organoclorados en sedimentos.....	44
-Niveles de organoclorados en sedimentos	45
-Plaguicidas organoclorados en fases bióticas: peces.....	45
-Niveles de organoclorados en peces	46
-Legislación española sobre niveles de organoclorados permitidos en peces	53
2.7.-Factores que influyen en los niveles de residuos de pesticidas organoclorados.....	55
• Tipo de compuesto.....	55
• Rango de valores	55
• Tamaño y edad del pez frente a concentración de residuos.....	56
• Relación entre contenido lipídico y carga de residuos	57
• Influencia de la estación o época del año	58
• Influencia del nivel trófico	59

• Influencia del estado reproductivo.....	59
2.8.-Distribución de los residuos en diferentes tejidos del cuerpo o toxicocinética de plaguicidas organoclorados	61
• Introducción.....	61
• Ingestión, distribución, metabolismo y eliminación de pesticidas organoclorados	61
• Bioconcentración, bioacumulación y biomagnificación de pesticidas organoclorados.....	67
• Bioacumulación.....	69
• Biomagnificación	71
2.9.-Toxicidad de pesticidas organoclorados en peces	73
• Toxicidad aguda.....	73
• Toxicidad crónica y concentraciones de seguridad.....	78
• Factores que afectan la toxicidad de los organoclorados.....	80
• Edad.....	80
• Contenido lipídico.....	81
• Exposiciones previas a plaguicidas organoclorados	81
• Factores ambientales	81
2.10.-Efectos de los plaguicidas organoclorados en peces	85
• Cambios anatomo-morfológicos inducidos por los plaguicidas organoclorados	85
• Cambios en el comportamiento de los peces.....	86
• Efectos sobre la respiración	87
• Plaguicidas organoclorados como disruptores endocrinos	88
• Efectos sobre la reproducción. Embriotoxicidad	88
• Efectos sobre el funcionamiento endocrino.....	88
• Efectos de pesticidas sobre sistema inmunitario.....	89
• Cambios bioquímicos	89
• Cambios sobre el equilibrio iónico.....	92
• Cambios histopatológicos provocados por los pesticidas organoclorados	92
3.- Metales pesados	94
3.1.-Introducción.....	94
3.2.-Funciones fisiológicas de los metales pesados.....	95
3.3.-Distribución medioambiental de los metales pesados.....	96
• Fuentes de polución de los metales pesados.....	96
• Movimiento de residuos de metales pesados en el medio ambiente.....	99
-Distribución y niveles de metales pesados en agua.....	99
--Niveles de metales pesados en aguas continentales	104
-Niveles de metales pesados en plantas y algas acuáticas.....	106

-Niveles de metales pesados en invertebrados acuáticos	107
-Distribución y niveles de metales pesados en peces	107
3.4.-Factores que afectan la acumulación de metales pesados en peces.....	112
• Ingestión de metales <i>versus</i> concentración en agua.....	112
• Dieta	113
• Estación del año.....	113
• pH del agua	114
• Concentración de sales en el agua	115
• Concentración en materia orgánica disuelta	115
• Diferencias interespecíficas.....	115
• Diferencias entre sexos	116
• Tamaño corporal	117
• Variaciones estacionales.....	117
3.5.-Toxicidad de los metales pesados para los peces	120
• Toxicidad del zinc.....	120
• Toxicidad del cadmio.....	121
• Toxicidad del plomo	124
• Toxicidad del cobre	125
3.6-Factores que afectan toxicidad de los metales pesados en peces.....	128
• Forma química del metal.....	128
• Dureza del agua.....	128
• Concentración de oxígeno disuelto	129
• Influencia del pH acuático	129
• Efecto de la salinidad del agua	130
• Efecto de la temperatura del agua	130
• Influencia de agentes quelantes.....	132
• Edad de los peces.....	132
• Sexo	133
• Fenómeno de adaptación.....	133
3.7.-Efectos de los metales pesados en peces	135
• Parámetros generales	135
• Mortalidad y crecimiento.....	136
• Efectos sobre el comportamiento migratorio	136
• Efectos sobre el comportamiento predador.....	136
• Efectos hematológicos	137
• Efectos sobre la bioquímica sanguínea.....	138
• Otros efectos	140
• Hallazgos anatomopatológicos.....	141
3.8.-Niveles de tolerancia por la legislación.....	143
• Aguas	143

• Peces	147
III.- MATERIAL Y METODOS	149
1.- Toma de muestras.....	149
1.1.-Aguas	149
1.1.1.-Localización de los puntos de muestreo	149
1.1.2.-Periodicidad de los muestreos	150
1.1.3.-Técnica de muestreo.....	150
1.1.4.-Características de las aguas de los ríos	151
1.2.-Peces	154
1.2.1.-Localización de los puntos de muestreo	154
1.2.2.-Periodicidad de los muestreos	154
1.2.3.-Técnica de muestreo.....	155
1.2.4.-Características de la especie seleccionada	155
2.- Análisis químico.....	158
2.1.-Determinación de metales pesados en agua	159
2.1.1.-Método	159
2.1.1.1.-Determinación de metales pesados disueltos en agua	159
2.1.1.2.-Determinación de metales pesados totales en muestras de agua.....	160
2.1.2.-Polarografía.....	160
2.1.3.-Validación de la técnica de análisis.....	161
2.2.-Determinación de pesticidas organoclorados en agua	163
2.2.1.-Método	163
2.2.2.-Cromatografía de gases.....	164
2.2.3.-Validación de la técnica de análisis.....	165
2.3.-Determinación de metales pesados en peces.....	168
2.3.1.-Método	168
2.3.2.-Polarografía.....	169
2.3.3.-Validación de la técnica de análisis.....	170
2.4.-Determinación de pesticidas organoclorados en peces	171
2.4.1.-Método	171
2.4.2.-Cromatografía de gases.....	172

2.1.11.- DDTs.....	233
2.1.12.- Metoxicloro	236
3.- Niveles de metales pesados disueltos en aguas	238
3.1.-Niveles de zinc	238
3.2.-Niveles de cadmio	239
3.3.-Niveles de plomo.....	241
3.4.-Niveles de cobre.....	243
4.- Niveles de metales pesados totales en aguas	245
4.1.-Niveles de zinc	245
4.2.-Niveles de cadmio	247
4.3.-Niveles de plomo.....	249
4.4.-Niveles de cobre.....	250
4.5.-Correlación entre los niveles de metales encontrados entre sí	257
4.6.-Ecotoxicidad de los niveles encontrados.....	258
5.- Niveles de metales pesados en peces	259
5.1.-Niveles de metales pesados en branquias	260
• Relación niveles en branquia con niveles en aguas	267
5.2.-Niveles de metales pesados en hígado.....	269
5.3.-Niveles de metales pesados en músculo	276
5.4.-Niveles de metales pesados en riñón.....	286
5.5.-Patrón de acumulación de metales pesados en órganos.....	292
• Acumulación de zinc en órganos de barbos	292
• Acumulación de cadmio en órganos de barbos	293
• Acumulación de plomo en órganos de barbos.....	294
• Acumulación de cobre en órganos de barbos.....	294
Relación entre el contenido de metales pesados en órganos y datos biométricos del pez	296
Relación entre los niveles de metales pesados y el sexo de los barbos	297
Relación de los niveles de metales pesados entre sí	299
Comparación de los niveles encontrados con la legislación española	299
V.- CONCLUSIONES	301
VI.- BIBLIOGRAFIA	303

El Parque Natural (P. N.) de Monfragüe es un enclave natural localizado en Extremadura que es reconocido internacionalmente entre otros parajes representativos del clima mediterráneo por su riqueza faunística, imposible de encontrar en el resto del continente europeo.

Esta fauna constituye, sin lugar a dudas, el elemento más importante y espectacular del Parque. Hay que destacar dos aspectos: el elevado número de poblaciones de ciertas especies como el buitre negro o leonado, que nos habla de la riqueza en número de elementos biológicos en este territorio, y en segundo lugar la diversidad de especies. Un factor añadido a esta diversidad lo constituye la catalogación de las especies debido a su escasez o riqueza. En este sentido hay tres especies en peligro de extinción (cigüeña negra, águila imperial ibérica y lince ibérico) y un número importante de especies catalogadas como de interés especial (11 de anfibios, 14 de reptiles, 15 de mamíferos y 122 de aves), constituyendo las rapaces su verdadero tesoro. También conviene resaltar la importancia de Monfragüe para miles de aves acuáticas que invernan en las tranquilas aguas embalsadas, así como la elevada cantidad de paseriformes que encuentran comida y abrigo en el bosque mediterráneo cuando se trasladan a sus cuarteles invernales.

Este acúmulo de naturaleza ha sido fruto de diversos factores, uno de los cuales es la presencia de un abundante recurso, escaso y fundamental en estos climas, como es el agua.

El Parque se desarrolla en el entorno de la confluencia de los ríos Tiétar y Tajo, constituyendo este último su eje natural. El curso de ambos ríos se encuentra embalsado en el interior del Parque, lo que constituye un medio importante para el desarrollo y abrigo de una gran cantidad de aves acuáticas invernantes procedentes de países centroeuropeos.

Además de ser eje de vida, este medio acuático representa una de las principales, si no la principal vía de entrada al Parque de contaminantes ambientales. Estos procederán de la actividad agrícola de la Comarca de la Vera, a través del río Tiétar, así como de la actividad agrícola, industrial y aquella derivada de los grandes núcleos de población que existen a lo largo de la cuenca del río Tajo.

Existe hoy en día una preocupación por la protección del medio acuático frente a la contaminación, en particular la causada por determinadas sustancias persistentes, tóxicas y bioacumulables, lo que se evidencia en la promulgación de numerosas normativas nacionales o internacionales al efecto. Tal es el caso de recientemente publicada Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. En ella se contempla que el agua no es un bien comercial como los demás, sino un patrimonio que hay que proteger, defender y tratar como

tal. Una política de aguas eficaz y coherente debe tener en cuenta la vulnerabilidad de los ecosistemas acuáticos y que la protección de las aguas en las cuencas hidrográficas proporcionará beneficios económicos, al contribuir a la protección de las poblaciones piscícolas, incluidas aquellas que tienen su hábitat cerca de las costas, así como un beneficio para la salud pública relacionado con las aguas naturales utilizadas para el abastecimiento de aguas potables.

El objetivo último de esta Directiva es lograr la eliminación de todas las sustancias peligrosas prioritarias mediante la progresiva reducción de los vertidos de sustancias peligrosas para el agua. Se definen estas sustancias peligrosas como *las sustancias o grupos de sustancias que son tóxicas, persistentes y pueden causar bioacumulación, así como otras sustancias o grupos de sustancias que entrañan un nivel de riesgo análogo*. Igualmente se deben establecer registros de todas las zonas incluidas en cada demarcación hidrográfica que hayan sido declaradas de una protección especial en virtud a la conservación de los hábitats y las especies que dependen directamente del agua.

El P. N. de Monfragüe tiene la suficiente importancia para estar encuadrado en este registro aunque las especies que lo habitan (su patrimonio más importante) no dependan directamente del agua que circula por los cauces que lo atraviesan.

Como estrategias para combatir la contaminación de las aguas, las sustancias objeto de esta Directiva deberán ser definidas en función de su ecotoxicidad acuática y su toxicidad humana a través de vías acuáticas de exposición, así como de un seguimiento de una contaminación medioambiental extensa, de ahí el interés de realizar monitorizaciones sobre los cauces fluviales. Entre las sustancias consideradas como principales contaminantes se encuentran entre otras los compuestos halogenados (entre ellos los pesticidas organoclorados) y los metales y sus compuestos, que son objeto de estudio en esta tesis doctoral.

Así, la Directiva 76/464/CEE (modificada por la 91/692/CEE y la 2000/60/CEE) relativa a la contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas vertidas en el medio acuático de la Comunidad detalla una Lista I, que recoge determinadas sustancias escogidas principalmente por su toxicidad, persistencia y bioacumulación, entre las que contempla los compuestos organohalogenados, y una Lista II, que recoge sustancias que tienen efectos perjudiciales sobre el medio acuático y que, no obstante, pueden limitarse a una zona determinada según las características de las aguas receptoras y su localización; entre las que contempla el zinc, cobre y plomo.

Hasta la fecha no tenemos noticia de que se haya realizado ningún estudio de los niveles de contaminación por pesticidas clorados y/o metales pesados en el P. N. de Monfragüe, y las únicas referencias que hemos encontrado al respecto han sido dos estudios sobre los niveles de metales y compuestos clorados en huevos

de águila imperial ibérica (Hernández et *al.*, 1988, 1989) recogidos en dicho Parque. Por tanto el entorno acuático, eje del Parque, no ha sido estudiado en relación a su posible contaminación por compuestos clorados y metales pesados. Sin embargo, este tipo de estudios sí que se llevan a cabo de forma rutinaria en diversos enclaves naturales, de importancia reconocida o no, tanto a nivel internacional como en España. Al respecto de esto último, son conocidos estudios más o menos exhaustivos de monitorización de la contaminación, que se han desarrollado en entornos naturales de la Península Ibérica como el Parque Nacional de Doñana, la Albufera valenciana o el Delta del Ebro.

Una de las líneas de investigación que se realiza en la Unidad de Toxicología del Dpto. de Medicina y Sanidad Animal de la UEX es la de la contaminación por pesticidas y metales en el medio ambiente y sus repercusiones en aves y peces. Esto hizo que en marzo de 1996 tomáramos contacto con la Dirección del P. N. de Monfragüe para iniciar una colaboración entre ambas partes y llevar a cabo un estudio inicial sobre los niveles de pesticidas clorados en las aguas del Parque. Afortunadamente, el día 22 de marzo la Junta Rectora del Parque dio su aprobación. Con estos antecedentes, se solicitó la financiación de un proyecto de investigación a la Consejería de Educación y Juventud de la Junta de Extremadura, que nos fue concedido (ref. PRI96100046) y a la cual manifestamos nuestro agradecimiento, ya que no se hubiese podido llevar a cabo este trabajo.

Por todo lo anteriormente expuesto, el objetivo de esta Tesis Doctoral, común con el del proyecto subvencionado y en función de las posibilidades de nuestro laboratorio, es el de determinar por primera vez el grado de contaminación existente en el medio acuático del P. N. de Monfragüe, mediante una monitorización anual de los niveles de pesticidas organoclorados y metales pesados (cobre, zinc, plomo y cadmio) en el agua de los ríos Tajo y Tiétar, y su grado de acumulación en la piscifauna representativa de este enclave ecológico, el barbo comiza.

1.- EL PARQUE NATURAL DE MONFRAGÜE

1.1.- INTRODUCCIÓN

El clima peculiar de la región mediterránea, en el que las precipitaciones se reparten estacionalmente a lo largo del año, ha dado lugar a la aparición de una flora también peculiar, respecto a las grandes zonas climáticas del globo, universalmente conocida como “vegetación mediterránea”, y que representa una facies muy especial a nivel planetario.

El P. N. de Monfragüe conjuga de una forma inigualable la belleza de sus paisajes rocosos (Salto del Gitano, del Corzo o El Boquerón de Valero), una lujuriosa vegetación mediterránea extendida como un verde tapiz en una mancha ininterrumpida de 25 Km de longitud, y una riqueza faunística imposible de encontrar en todo el continente europeo, tanto en número de especies como de individuos. Además, a la vegetación salvaje espontánea hay que añadir los aledaños del Parque donde el hombre ha intervenido, eliminando el matorral y dejando amplias zonas de encinas y alcornoques, destinadas al aprovechamiento agropecuario. Conforman así un espacio sostenible, en el sentido que tiene un aprovechamiento y conviven especies domésticas con especies salvajes en perfecto equilibrio.

1.2.- CARACTERÍSTICAS E IMPORTANCIA DEL P. N. DE MONFRAGÜE

La comarca de Monfragüe está situada en el centro de la Alta Extremadura, aproximadamente dentro del triángulo imaginario definido por las ciudades de Cáceres, Plasencia y Trujillo.

El P. N. de Monfragüe, fue el primer espacio natural protegido en Extremadura. Este área natural puede considerarse como un valle surcado por los ríos Tajo y Tiétar, de unos 30 Km. de longitud por unos 7 Km. de anchura. Ocupa una superficie de 17.852 hectáreas que abarca varios municipios:

Municipio	Superficie	Municipio	Superficie
Serradilla	4.662	Torrejón el Rubio	4.122
Malpartida de Plasencia	673	Toril	1.851
Jaraicejo	2.211	Casas de Miravete	609
Serrejón	2.791		

Tabla 1. Superficie (Has) de cada municipio integradas en P. N. de Monfragüe. Las 932 has que falta corresponden a masas de agua.

La situación esquemática del P. N. de Monfragüe, dentro de la Península Ibérica y la Comunidad Autónoma de Extremadura está reflejada en la figura:

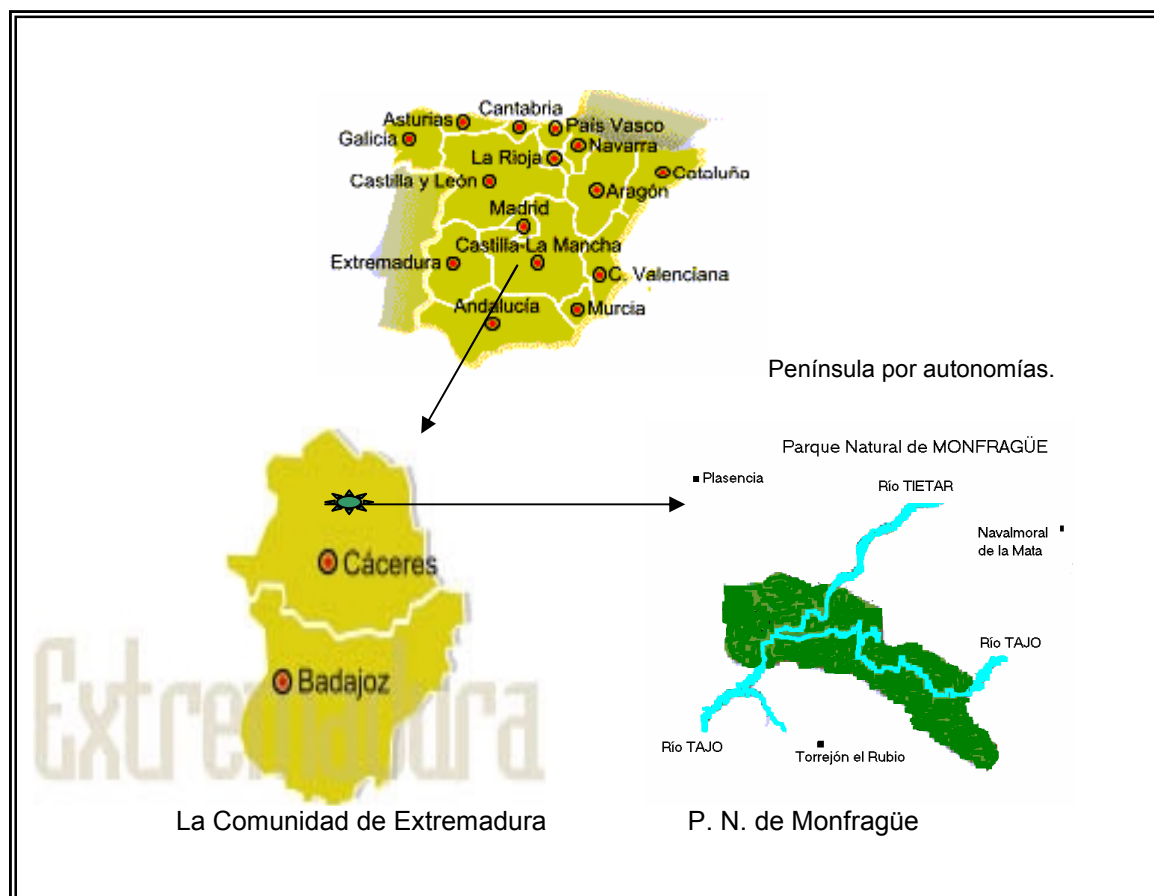


Figura 1. Situación geográfica del P. N. de Monfragüe.

El **clima** de Monfragüe puede considerarse como mediterráneo típico continental, aunque matizado por su proximidad al Atlántico; esta situación da lugar a unos veranos secos y calurosos (temperatura media mensual de 36°C en julio y agosto, llegándose a máximas absolutas de 48°C), otoños suaves y primaveras e inviernos fugaces, templados y húmedos (temperatura media en los meses de diciembre y enero de 8°C).

La precipitación media se sitúa en torno a los 750 litros/m² con oscilaciones que varían entre los 500 l/m² para los años más secos y los 1.100 l/m² para los más lluviosos.

La **flora** del P. N. de Monfragüe es una flora típicamente mediterránea, de acuerdo con el clima, el sustrato geológico y los suelos de la región. La formación vegetal dominante es la del bosque esclerófilo mediterráneo (encinares y alcornocales), o bien sus primeras etapas de sustitución, madroñales, jarales y jaral-brezales, dependiendo del estado de conservación que tenía la etapa madura.

En el P. N. de Monfragüe pueden reconocerse distintas unidades de vegetación: por un lado la vegetación climática, que se encuentra en los suelos que sólo

reciben agua de lluvia y que representa la práctica totalidad de la superficie del Parque, representado por encinares y alcornocales y por otro lado existe una vegetación edafónica o higrófila, que se halla en suelos encharcados o con una alta humedad edáfica, y lógicamente se encuentra en bandas muy estrechas y alargadas, bordeando los cursos de agua, representada por fresnos, alisos y sauces.

La **fauna** de Monfragüe constituye, sin lugar a dudas, el elemento más importante y espectacular del Parque. Un contacto inicial con Monfragüe nos revela inmediatamente un primer aspecto importante, cual es el elevado número de las poblaciones de ciertas especies como el Buitre negro (250 parejas) o el Leonado. Un segundo aspecto, menos apreciable pero también de gran importancia, lo constituye su diversidad; esta diversidad queda reflejada en las elevadas cifras correspondientes a especies que habitan de forma estacional o permanente en estas tierras, como son 15 especies de anfibios, 20 especies de reptiles, 16 especies de peces, 52 especies de mamíferos, 173 especies de aves.

Un factor añadido a esta diversidad lo constituye la catalogación que estas especies tengan debido a su escasez y rareza. En este sentido, en el Parque habitan tres especies en peligro de extinción, que son la Cigüeña negra (más de 30 parejas), el Águila imperial ibérica (11 parejas) y el Lince ibérico, y un número importante de especies catalogadas como de interés especial (11 especies de anfibios, 14 especies de reptiles, 15 especies de mamíferos y 122 especies de aves).

En los ríos del interior del Parque se pueden encontrar 26 especies de peces y 15 de anfibios, así como 2 de galápagos: el europeo (*Emis orbicularis*) y el leproso (*Mauremis caspica*). La nutria (*Lutra lutra*) abunda en las aguas del Parque y también diversas especies de aves como el chorlito (*Charadrius dubius*), martín pescador (*Alcedo atthis*), zampullín (*Tachybatus ruficollis*), ánade real (*Anas platyrhynchos*), garza real (*Ardea cinerea*), etc. También conviene resaltar la importancia de Monfragüe para miles de aves acuáticas que invernan en las tranquilas aguas embalsadas y destacar el aumento de anátidas durante el invierno, pasando los meses fríos en el Parque: porrones (*Aythya ferina*), cercetas (*Anas crecca*), etc...

La **fauna acuícola** está representada por especies autóctonas y especies introducidas. Entre las especies del país, destaca por su mayor presencia el barbo común (*Barbus barbus*) y barbo comiza (*Barbus comiza*), en el río Tajo y Tiétar. La pardilla (*Rutilus lemmingii*) es otro pez frecuente de encontrar en el río Tajo, pero menos frecuente en el río Tiétar. El cachuelo (*Leuciscus pyrenaicus*) es abundante en el río Tiétar y en arroyos y ríos que desembocan en el río Tajo, estando menos presente en las aguas embalsadas del río Tajo. El calandino (*Rutilus alburnoides*) es otro pez muy común en los afluentes del Tajo y Tiétar, pero se ve con poca frecuencia en estos dos grandes ríos. Esto mismo ocurre con la tenca (*Tinca tinca*), que puede aparecer de forma esporádica en el río Tajo o Tiétar. La boga (*Leporinus obtusidens*) es un pez que empieza a ser frecuente

en los dos ríos, existiendo poblaciones escasas, pero más o menos estables, siendo mucho más frecuente en los arroyos y ríos que llegan a Monfragüe.

Entre las especies no autóctonas destaca por su elevada presencia la carpa (*Cyprinus carpio*), tan frecuente como el barbo. Las poblaciones de black-bass (*Micropterus salmoides*), percasol (*Lepomis gibbosus*), pez gato (*Ictalurus punctatus*) y carpín (*Carassius auratus*) son también abundantes en los dos ríos que afluyen al río Tajo o Tiétar, pero también se pueden encontrar en los ríos del Tajo y Tiétar. Menos común, y de forma más esporádica, se encuentra el pez gambusino (*Gambusia affinis*), y el lucio (*Esox lucius*), que aunque nombrado, su presencia es bastante escasa.

Por todo ello, ante la evidencia de las cifras, estimamos que Monfragüe merece la protección y la vigilancia frente a todos aquellos aspectos que puedan causar daño o alteración de este ecosistema que está, gracias a su buena gestión, prácticamente inalterado y en perfecta armonía con las actividades antropogénicas.

Atravesando Monfragüe, el río Tajo y su afluente, el Tiétar, ejercen una influencia más que patente en varios aspectos:

- Conforman las características ambientales para que se pueda desarrollar la flora y fauna típicas de zonas de ribera de ríos, que contribuyen a enriquecer la variedad a zonas de secano.
- Contribuye a enriquecer la variedad el P. N. de Monfragüe ya que aporta una zona de invernada de numerosas aves acuáticas, algunas de las cuales han desarrollado poblaciones estables aumentando la riqueza faunística.
- Los ríos ofrecen una barrera natural geográfica que permite que las aves nidifiquen a pocos metros de espectadores humanos, consiguiendo un entorno seguro. Esto permite que se pueda observar o estudiar las aves sin molestar de forma patente su ciclo de vida natural, tal es el caso de los más de 10 nidos de cigüeña negra, alimoche, buitres leonados, águilas culebreras, etc...

La Confederación Hidrológica del Tajo crea modelos que reflejan el funcionamiento del sistema y que conducen al mejor aprovechamiento o a justificar la necesidad de crear nuevos elementos-embalses, conducciones y captaciones, que incrementen la disponibilidad de recursos.

De esta forma, una de las características más importante de estos dos ríos es que, ya antes de su curso por Monfragüe, su caudal está regulado por la existencia de numerosas presas, por lo que los ríos adquieren la particularidad de ser casi pantanos y se efectúan trasvases de unos ríos a otros dependiendo de las necesidades.

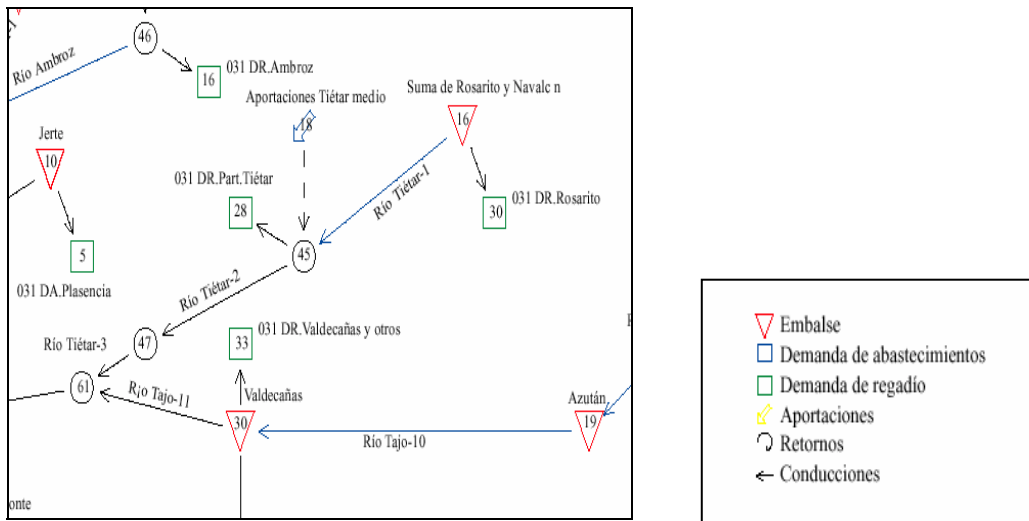


Figura 2 . Esquema de la gestión de los ríos Tajo y Tiétar, reflejando conducciones, trasvases y embalses. Extraído del libro “La Cuenca del Tajo” (CHT, 1999).

La **calidad actual del agua** de la cuenca depende, por un lado, de la calidad natural y, por otro, de la depuración realizada una vez utilizada y de la auto-depuración que se produce a continuación en cuenca, embalses o terreno.

La mayor influencia de contaminantes que puedan entrar en el P. N. de Monfragüe, provienen, sin duda alguna, de los dos grandes ríos: Tajo y Tiétar.

A muy pocos metros del P. N. de Monfragüe se encuentra una zona de gran producción agrícola, como son los regadíos de La Bazagona, la zona de Campo Arañuelo (Navalmoral de la Mata), etc... Más alejado, y en la zona de nacimiento del río Tiétar se encuentra el Valle del Tiétar, comarca de regadío intensivo de cultivos agrícolas que abarca términos de la provincia de Ávila y Cáceres.

El río Tajo no recibe zonas agrícolas cercanas a su paso por Monfragüe, pero no olvidemos los diferentes recorridos por otras zonas, sobre todo por la provincia de Madrid y la zona agrícola de Talavera de la Reina, entre las más importantes.

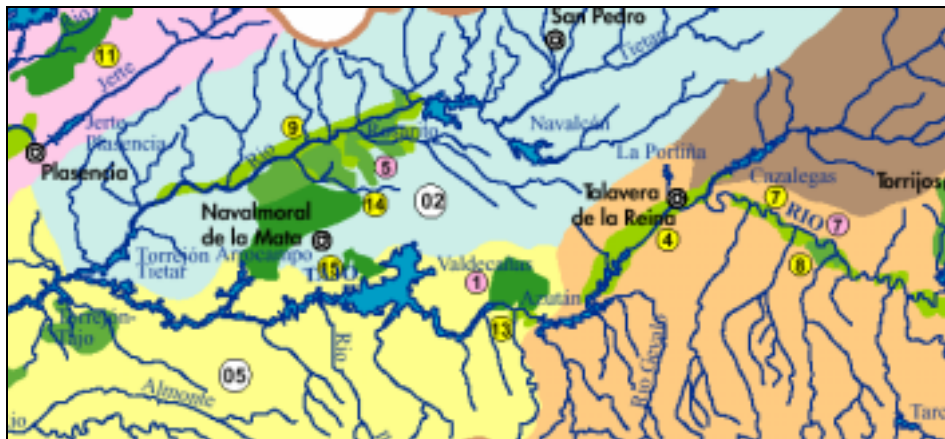


Figura 3. Zonas regables en los ríos Tíetar y Tajo antes de atravesar el P. N. de Monfragüe. Extraído del libro “La Cuenca del Tajo” (CHT, 1999).

También puede darnos una idea de dicha calidad los siguientes mapas donde se han reflejado el número de vertidos urbanos e industriales y el volumen de estos por zonas hidrográficas y por provincias.

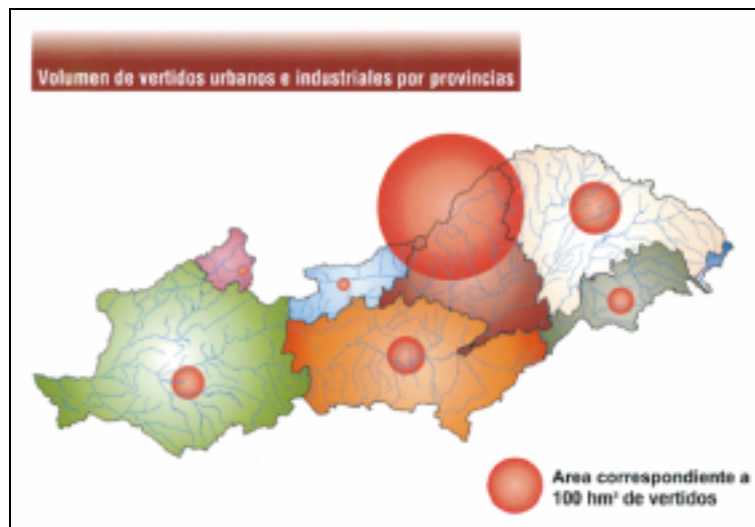


Figura 4. Vertidos que afectan a las cuencas del río Tajo. Extraído del libro “La Cuenca del Tajo” (CHT, 1999).

También se presenta un mapa donde aparecen los vertidos de piscifactorías y los puntos donde se incrementa la temperatura del agua por haber sido utilizada para refrigerar centrales térmicas.



Figura 5. Vertidos de piscifactorías y calentamiento del agua que afectan a las cuencas de los ríos Tajo y Tiétar. Extraído del libro “La Cuenca del Tajo” (CHT, 1999).

Los objetivos de calidad para las aguas de abastecimiento, según la Directiva 75/440/CEE, están reflejadas en el siguiente mapa, en el que se puede apreciar que las aguas objeto de estudio están todas clasificadas como tipo A3 (color verde).

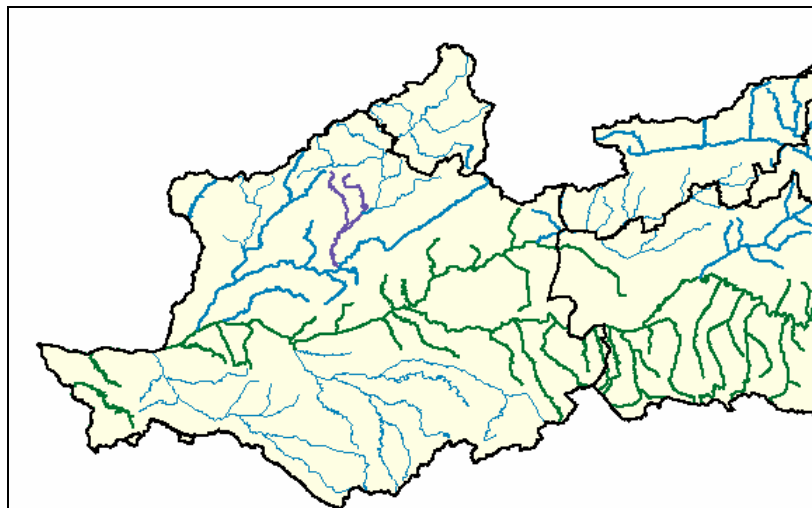


Figura 6. Objetivos de calidad de aguas destinadas al consumo como aguas potables de los ríos Tajo y Tiétar, a su paso por el P. N. de Monfragüe. Extraído del libro “La Cuenca del Tajo” (CHT, 1999).

Los objetivos de calidad de las aguas para el desarrollo de la vida piscícola, según la Directiva Comunitaria 78/659/CEE se pueden observar en el siguiente gráfico, en el que destacan la mayoría de tramos de especial interés (Ciprínidos) en las aguas de Monfragüe.

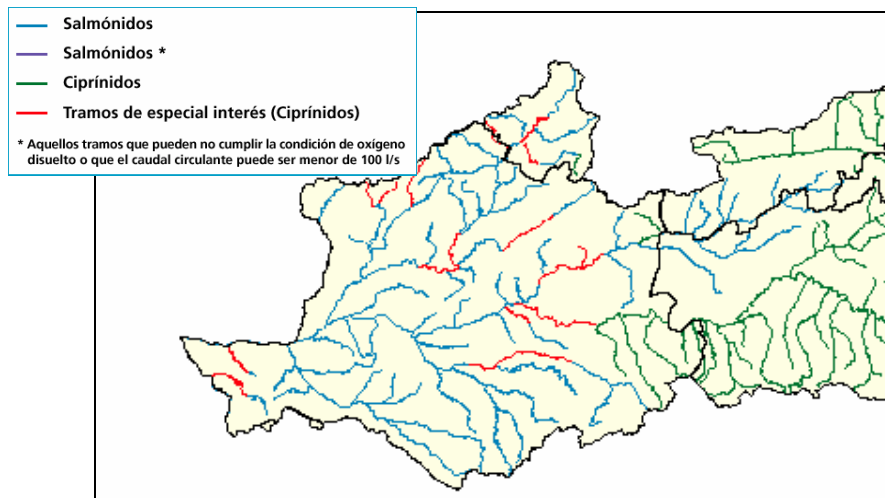


Figura 7. Calidad de las aguas para el desarrollo de la vida piscícola en los ríos Tajo y Tiétar, a su paso por el P. N. de Monfragüe. Extraído del libro “La Cuenca del Tajo” (CHT, 1999).

2.- PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS

2.1.- INTRODUCCIÓN

La tendencia internacional en el estudio de la diseminación de los plaguicidas persistentes en el medio natural apunta hacia la valoración cuantitativa de tales residuos y hacia el establecimiento de programas de vigilancia continua que permitan una “monitorización” de este fenómeno en el hábitat usual de las especies de vida silvestre.

Los antecedentes de estos programas hay que buscarlos en el I Simposio sobre Pesticidas en el Espacio Ambiental celebrado en Inglaterra en 1965.

Las conclusiones fundamentales de aquella reunión condujeron al establecimiento de tres puntos de partida:

- Reconocimiento de la existencia de la diseminación universal de los plaguicidas persistentes y de modo muy especial de los hidrocarburos clorados
- Aceptación de la peligrosidad residual de estos productos para las especies animales que viven en libertad
- Necesidad del conocimiento de la evolución de estos residuos en el medio ambiente.

2.2.- CONCEPTO DE PLAGUICIDA

Son muchas las definiciones que el término “plaguicida” nos ofrece la bibliografía, siendo las que a continuación citamos algunas de las más representativas:

- La FAO/OMS (1975) la define como *“Cualquier sustancia, o mezcla de sustancias, destinada a prevenir o controlar toda especie indeseable de plantas o animales; es también cualquier sustancia, o mezcla de sustancias, utilizada como desfoliante, desecante o reguladora del crecimiento vegetal. Incluye, además, cualquier sustancia que se emplee para combatir plagas durante la producción, almacenamiento, transporte, comercialización o elaboración de alimentos para el hombre y los animales, o se administra a estos últimos para combatir insectos o arácnidos que se encuentren dentro o sobre sus cuerpos. El término no se aplica a los antibióticos y otros productos químicos administrados a los animales con otros fines, como el de estimular su crecimiento o modificar su comportamiento reproductivo, ni a los fertilizantes”*
- La FAO (1976) también define los pesticidas como *“Cualquier sustancia destinada a prevenir, atrasar, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies no deseadas de plantas o animales, durante la producción,*

almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales”.

- La Reglamentación Técnico-Sanitaria para la fabricación, comercialización y utilización de plaguicidas en España, aprobada por Real Decreto 3349/1983 de 30 de noviembre (BOE de 24 de enero de 1984), modificada por el RD 162/1991 de 8 de febrero (BOE 15 de febrero de 1991) y el RD 443/1994 de 11 de marzo (BOE del 30 de marzo de 1994) define los plaguicidas como *“las sustancias o ingredientes activos, así como las formulaciones o preparados que contengan uno o varios de ellos, que se destinan a cualquiera de los fines siguientes:*
 1. *Combatir los efectos nocivos para los vegetales y productos vegetales, o prevenir su acción.*
 2. *Favorecer o regular la producción vegetal, con la excepción de los nutrientes destinados a la enmienda de suelos.*
 3. *Conservar los productos vegetales, incluida la protección de las maderas.*
 4. *Destruir los vegetales indeseables.*
 5. *Destruir parte de los vegetales o prevenir un crecimiento indeseable de los mismos.*
 6. *Hacer inofensivos, destruir o prevenir la acción de otros organismos nocivos o indeseables distintos a los que atacan a los vegetales”.*

2.3.- EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LOS PLAGUICIDAS

La década de los treinta marca el verdadero comienzo de la era moderna, con la introducción de los pesticidas orgánicos de síntesis. Entre los más importantes de estos tenemos los insecticidas derivados del tiocianato de alquilo (1930), la salicilanilida (1931), primer fungicida orgánico, y los fungicidas ditiocarbámicos (1934).

La historia de los pesticidas OC (OC) comienza con el descubrimiento del DDT. El primero en sintetizar un organoclorado (el DDT) fue Zeidler en 1874, pero las propiedades insecticidas del DDT fueron realmente descubiertas por Müller en 1939. Más tarde, el compuesto se patentó en Suiza en 1942, convirtiéndose pronto en el insecticida más utilizado en el mundo.

La primera muestra enviada a los E.E.U.U llegó en septiembre de 1942. Se realizaron pruebas de efectividad y seguridad con dicha muestra. Los resultados fueron tan alentadores que se dio alta prioridad a su fabricación.

Al principio, toda la producción se utilizó para la protección de las tropas contra la malaria, tifus y otras enfermedades transmitidas por vectores, y contra las moscas y otros insectos que constituyen plagas. Como resultado de este esfuerzo, el mosquito responsable de la transmisión de la malaria fue erradicado de los E.E.U.U en 1953, a pesar de que personal militar y otras personas infectadas de los trópicos

continuaron reintroduciendo la enfermedad hasta 1972 y, en menor frecuencia, más tarde (Raldúa, 1975).

Cantidades mucho más altas se utilizaron en el control de plagas agrícolas y forestales, cuando a partir del 31 de agosto de 1945 se comercializó el compuesto. En particular, el uso del DDT en Norteamérica fue indiscriminado y aunque la aplicación del DDT para controlar el gusano que ataca las piceas se redujo, su uso para el control del mosquito fue intenso.

Su uso civil en otros países se hizo un poco más tarde, al principio fundamentalmente por importación y gradualmente en base a la fabricación local (Raldúa, 1975). De esta forma, las 2 décadas que siguieron a la Segunda Guerra Mundial fueron testigo del amplio uso de los OC, especialmente el DDT en Norteamérica y ciclodienos, como el aldrín y dieldrín y el hexaclorociclohexano (HCH) en Gran Bretaña y Japón.

Aunque en los últimos años el DDT ha caído en desuso, la OMS ha estimado que hasta 1971, más de 1 billón de personas se han salvado del riesgo de contraer malaria por el uso del DDT. Gold *et al.* (1981) consultando otras fuentes aseguran que hasta 1980, cerca de 4 billones de lb (aprox. 1.81 millones de Tm) de DDT se han usado para controlar enfermedades cuyo vector de transmisión son los mosquitos.

La aparición de estirpes de insectos resistentes a este compuesto dio paso a nuevos compuestos como el metoxicloro (análogo del DDT) y el HCH.

El primero en sintetizar el HCH fue Michael Faraday en 1825. Más tarde, en 1942, Van der Linden demostró la existencia de cuatro de los esteroisómeros del HCH. Las propiedades insecticidas fueron descubiertas independientemente por Dupire y Raucourt (1943) y por Slade (1945); pero fue Slade y colaboradores quienes mostraron que el isómero gamma era el más efectivo como insecticida (Raldúa, 1995).

En 1945 se introdujeron los ciclodienos, cuyo uso se popularizó a mediados de los cincuenta. Entre estos compuestos cabe destacar el aldrín, dieldrín, endrín y heptacloro.

Sin embargo, el uso extensivo de OC en el control de plagas ha tenido efectos colaterales desastrosos para el medio ambiente, lo que ha llevado a su declive paulatino en los países desarrollados a partir de los años 70.

Estos pesticidas son muy persistentes y resistentes a la degradación biológica. Muy poco solubles en agua, se adhieren a los tejidos de las plantas y se acumulan en los suelos, el sustrato del fondo de las corrientes de agua y los estanques, y la atmósfera. Una vez volatilizados, los pesticidas se distribuyen por todo el mundo, contaminando áreas silvestres a gran distancia de las regiones agrícolas, e incluso en las zonas ártica y antártica.

Aunque estos productos químicos sintéticos no existen en la naturaleza, penetran en la cadena alimentaria. Son ingeridos por los herbívoros o penetran directamente a través de la piel de organismos acuáticos como los peces y diversos invertebrados. El pesticida se concentra aún más al pasar de los herbívoros a los carnívoros. Alcanza elevadas concentraciones en los tejidos de los animales que ocupan los eslabones más altos de la cadena alimentaria, como el halcón peregrino, el águila calva y el quebrantahuesos (Wayland *et al.*, 1991).

Los OC interfieren en el metabolismo del calcio de las aves, produciendo un adelgazamiento de la cáscara de los huevos y el consiguiente fracaso reproductivo. Como resultado de ello, algunas grandes aves depredadoras y piscívoras se encuentran al borde de la extinción (Cecil *et al.*, 1972; Haegele y Hudson, 1974; Wiemeyer *et al.*, 1984).

Debido al peligro que los pesticidas OC representan para la fauna silvestre y para el hombre, y debido también a que los insectos han desarrollado resistencia a ellos, el uso de OC como el DDT está disminuyendo con rapidez en todo el mundo occidental, aunque siguen usándose en grandes cantidades en los países en vías de desarrollo.

Desde 1950 en adelante, otro grupo de pesticidas, los organofosforados ganaron importancia. Fueron desarrollados durante la Segunda Guerra Mundial, en el curso de unas investigaciones realizadas por el doctor Schrader sobre gases neurotóxicos. Entre los primeros compuestos obtenidos cabe destacar el schradan y el paratión, muy tóxicos ambos para mamíferos. El malatión, sintetizado en 1950, fue el primero que unía un amplio espectro de actividad y una baja toxicidad para mamíferos (Buck y Osweiler, 1981).

Durante estos años 50 y 60, compuestos como el paratión y malatión reemplazaron parcialmente al DDT y a los ciclodienos. El fenitrotión fue el más usado en Canadá y también en E.E.U.U para controlar el gusano de las piceas.

A finales de los 50 otro grupo de pesticidas, los carbamatos, comienzan su andadura. Su investigación experimental se inició alrededor de 1947, siendo comercializado el carbaril o sevín en 1957, pesticida que fue el más usado en los bosques de Maine durante 1975 y 1980.

2.4.- RESTRICCIONES AL USO DE OC

La primera ordenación española restrictiva de OC se encuentra en la Orden de 22 de marzo de 1971, del Ministerio de Agricultura (B.O.-30) en la que se prohíbe el empleo de productos fitosanitarios que contengan DDT en cultivos hortícolas, cereales y leguminosas de grano, plantas forrajeras y leguminosas, agrios, frutales y cultivos de champiñón y en granos, forrajes y otros productos agrícolas almacenados destinados a la alimentación humana o animal. Permite su uso en

el olivo y la vid en ciertas épocas. Además regula plazos de seguridad, riqueza de la materia activa (no superior al 50%) y etiquetaje.

La Orden del 4 de diciembre de 1975 (BOE 308, del 24-12-1975), modificada por la Orden de 20 de mayo de 1976 (BOE 122, del 21-5-1976), restringió el uso de ciertos plaguicidas de elevada persistencia. Por esta Orden se prohibió la comercialización, venta y utilización dentro del territorio nacional de todos aquellos productos fitosanitarios aplicables en pulverización o espolvoreo en cuya composición aparecieran aldrín, dieldrín, endrín, heptacloro o clordano. También quedó prohibida la venta libre y utilización para aplicaciones agrícolas y forestales de todos los productos fitosanitarios en cuya composición apareciera el DDT, HCH (mezcla de isómero), canfenos clorados y terpenos policlorados, salvo aquellos que fueran destinados a campañas fitosanitarias autorizadas por el Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica.

La Orden del 28 de febrero de 1986, en aplicación de las Directivas 79/117 del Consejo de las Comunidades Europeas, y 83/131 y 85 /298, de la Comisión de las Comunidades Europeas, deroga las Ordenes de 22 de marzo de 1971, de 4 de diciembre de 1975 y de 20 de mayo de 1976, modificando y complementando esta última.

La Orden de 7 de septiembre de 1989 y posteriormente la Orden de 1 de febrero de 1991 (BOE 12-2-1991), en aplicación de la Directiva 79/117 y posteriores, deroga la Orden del 28 de febrero de 1986, anteriormente citada.

La Directiva 79/117, a la que hace referencia las anteriores órdenes, exige a los estados miembros la prohibición de salida al mercado y utilización de productos fitosanitarios que contengan determinadas sustancias activas listadas en su anexo, citando 5 compuestos mercúricos y 8 compuestos OC persistentes (aldrín, clordano, dieldrín, DDT, endrín, HCH con menos del 99% de isómeros gamma, heptacloro y hexaclorobenceno). Excepcionalmente, los Estados pueden, en ciertos casos, autorizar su utilización, debiendo informar directamente a la Comisión.

Esta directiva ha sido modificada por las Directivas 83/131, 85 /298, 87/477, 90/335 y 90/533.

La orden de 4 de febrero de 1994 del Ministerio de Sanidad y Consumo (BOE 41, del 17 de febrero de 1994), prohibió la comercialización y utilización de plaguicidas de *uso ambiental* que contienen determinados ingredientes activos peligrosos. De esta forma quedó prohibido la importación, comercialización y utilización dentro del territorio nacional de todos aquellos plaguicidas de uso ambiental que contuvieran alguna de las siguientes sustancias: aldrín, clordano, dieldrin, DDT, endrín, HCH (con menos del 99% del isómero gamma), heptacloro, toxafeno y otros productos. Anteriormente estaban prohibidas en el ámbito agrícola, en la presente orden, prohibían su uso ambiental.

La política europea relativa al empleo de fitosanitarios cambia en 1991, cuando de una política de restricción con la publicación de listas de sustancias prohibidas, se pasa a una política de autorizaciones con la publicación de listas de sustancias autorizadas (Directiva 91/414/CEE sobre comercialización de productos sanitarios). Esta Directiva Comunitaria se traspuso a nuestra legislación en el Real Decreto 2163/1994 (BOE 276, del 18 de noviembre de 1994), emitido por el Ministerio de Presidencia, por el que se implantó el sistema armonizado comunitario de autorización para comercializar y utilizar productos fitosanitarios. El anexo I contiene la lista comunitaria de sustancias activas admitidas en los productos fitosanitarios, en la que solo aparecía el endosulfan, metoxicloro y lindano, este último con fines ganaderos.

La Decisión de la Comisión, de 20 de diciembre de 2000, decidió no incluir al lindano en la lista el anexo I de la Directiva 91/414/CEE del Consejo y la retirada de las autorizaciones de los productos fitosanitarios que contengan esta sustancia activa. Esta medida se debe llevar a cabo antes de julio de 2002.

2.5.- IDENTIDAD, PROPIEDADES Y USOS DE LOS OC

Comprenden un grupo de compuestos orgánicos de síntesis derivados de hidrocarburos complejos, en los que un hidrógeno es sustituido por cloro. Tienen diferente estructura química, con uno o varios átomos de cloro, por ello también se les llama hidroclorados, halogenados o halobencenos (Garrido-Lestache, 1988).

Son compuestos arilados, carbocíclicos o heterocíclicos, con pesos moleculares entre 291 y 545. Su estructura cíclica y su gran peso molecular los diferencian químicamente de los hidrocarburos clorados usados como solventes y fumigantes (peso molecular < 236) (Smith, 1991).

Los OC pueden ser divididos en cinco grupos (Smith, 1991):

1. DDT y análogos,
2. HCH
3. ciclodienos y compuestos similares
4. toxafeno y compuestos relacionados
5. Estructuras tipo mirex y clordecone

Las principales propiedades físico-químicas de los OC son las siguientes (Alvarez y Cruz, 1989)

- Gran estabilidad química, por una baja reactividad química
- Estabilidad frente al aire, la luz y el calor (algunos son sensibles a la luz UVA)
- Insolubilidad en agua
- Solubles en disolventes orgánicos y lípidos
- Resistencia a la biodegradación
- Baja tensión de vapor

- Compatibles con la mayoría de los plaguicidas, sólo están contraindicados en soluciones alcalinas

Al ser compuestos orgánicos, tienden a reducir su reactividad. Esta estabilidad se manifiesta como una persistencia medioambiental, que se incrementa a mayor cloración del compuesto. De esta forma, el diclorobenceno no es demasiado persistente, pero sí lo es mucho más el hexaclorobenceno.

El gran tamaño y masa del átomo de Cloro resulta en una gran molécula que tiene una presión de vapor muy reducida, incrementa el punto de ebullición y reduce la solubilidad en agua (Garrido-Lestache, 1988).

La adición de átomos de Cloro incrementa así la partición en los lípidos y por consiguiente, la bioconcentración. La liposolubilidad y la estabilidad de estos compuestos facilitan su acumulación en los tejidos grasos: cerebro, hígado, tejido adiposo y médula ósea. Estas características son las responsables de problemas de contaminación en alimentos, tanto de origen animal como vegetal, y de la posterior acumulación en nuestros tejidos grasos (Raldúa, 1975).

Las reacciones de deshidrocloración les convierten en productos de menor actividad química o inactivos y las reacciones de oxidación producen metabolitos generalmente más tóxicos.

DDT

En el Chemical Abstracts el p-p'-DDT es 1,1'-(2,2,2-tricloroetilidieno)-bis-(4-clorobenceno).

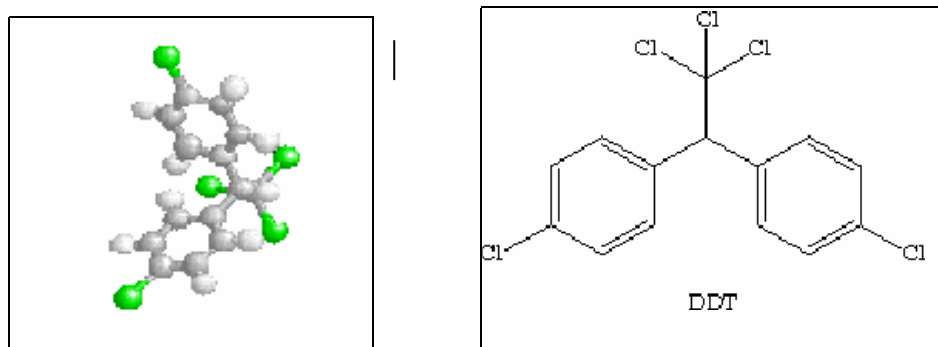


Figura 8. Estructura química del DDT

El DDT técnico empleado en las formulaciones de plaguicidas no corresponde a un producto puro, sino que es una mezcla de isómeros entre los cuales el más abundante y activo es el p,p'-DDT, existiendo a su lado cantidades más o menos considerables del isómero o,p'-DDT y de p,p'-DDD, junto con p-diclorobenceno y otras impurezas derivadas de su síntesis. Un típico ejemplo de DDT técnico tiene la siguiente composición (Matsumura, 1985):

77% de p,p'-DDT; 14,9% o,p'-DDT; 0,3% p,p'-DDD; 0,1% o,p'-DDD; 4% p,p'-DDE; 0,1% o,p'-DDE y 3,5% de compuestos no identificados.

El DDT es prácticamente insoluble en agua (sólo 0,0012 ppm), pero se disuelve en disolventes orgánicos y se incrementa marcadamente con un aumento de la temperatura (Raldúa, 1975).

Otra propiedad notable es su bajísima tensión de vapor ($1,5 \cdot 10^{-7}$ mm de Hg) a 20°C, poseyendo una volatilidad muy escasa, lo cual unido a su poca sensibilidad a la luz ultravioleta de los rayos solares, explica su notable persistencia.

La forma sólida del DDT no se descompone con la luz o rayos ultravioleta, pero los residuos del polvo de DDT en el campo se descomponen de forma muy lenta por las radiaciones ultravioleta. Temperaturas tropicales y una elevada humedad relativa disminuyen la toxicidad. El DDT técnico se descompone a 100°C debido a la presencia de impurezas. (Matsumura, 1985).

El p,p'-DDT y sus metabolitos son capaces de persistir durante años en los sistemas acuáticos, con el p,p'-DDE como metabolito principal en peces (Dimond *et al.*, 1971).

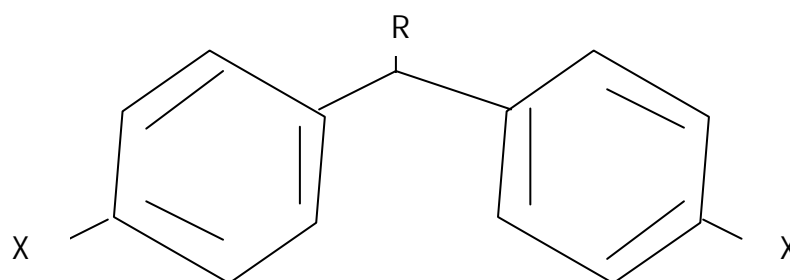
Debe reconocerse su positiva contribución a la salud humana, en su lucha contra parásitos que atacan al hombre o son vectores de enfermedades tales como el paludismo y a la consecución de mayores rendimientos y calidad de las cosechas al luchar contra una amplia gama de plagas agrícolas.

Su uso continuado provocó el desarrollo de resistencia en insectos primeramente sensibles al DDT, que se atribuye a la presencia de un enzima específico, capaz de deshidroclorarlo y transformarlo en el derivado etilénico DDE, inocuo al organismo (Barberá, 1989).

La toxicidad oral en ratas se ha establecido en 250 mg/Kg.

Análogos del DDT

La estructura general es la siguiente:



Compuesto	X	R
Metoxicloro	O Me	CCl ₃
p,p'-DDD o TDE	Cl	CHCl ₂
p,p'-DDE	Cl	CCl ₂

Tabla 2. Diferentes compuestos derivados del DDT

El **metoxicloro** es, sin duda, el más conocido y empleado de tales análogos.

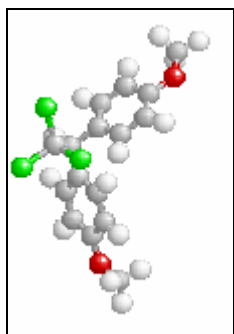


Figura 9. Imagen tridimensional del metoxicloro

Su característica más relevante es que, a diferencia del DDT, no se acumula en los tejidos grasos ni pasa a leche y por ello, es uno de los pocos productos insecticidas autorizados en EE. UU. para usar en tratamientos ganaderos y sobre vacas lecheras. Además, se metaboliza rápidamente y en el plazo de unos 3 días queda casi completamente excretado (Barbera, 1989).

El metoxicloro es entre 25 a 50 veces menos tóxico que el DDT para mamíferos. La DL-50 en rata es de 6000 mg/Kg (Matsumura, 1985).

El **TDE** es el 1,1-dicloro-2,2-bis (p-clorofenil) etano. El nombre común de TDE (ISO), que son las siglas del tetraclorodifeniletano, es el nombre generalmente reconocido, excepto en Francia, para el compuesto utilizado como insecticida sintético. El nombre de TDE designa también a un compuesto no relacionado, etoglúcido, el cual es un fármaco antineoplásico. Por razones poco claras, la palabra DDD (siglas del dicloro difenil dicloroetano) es mucho más usada para el 1,1-dicloro-2,2-bis (p-clorofenil) etano, cuando lo consideramos como metabolito del DDT o cuando es usado como fármaco.

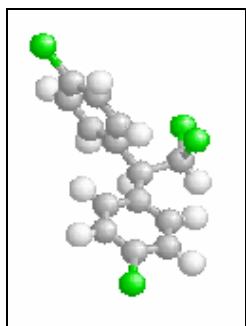


Figura 10. Imagen tridimensional del TDE

Es 1/5 a 1/10 veces menos tóxico que el DDT. La DL-50 en ratas es de 3400 mg/Kg (Matsumura, 1985).

El **p,p'-DDE** es un producto resultado de la degradación del DDT en los sistemas biológicos. Por hidrocloración del DDT se forma DDE. Esta reacción tiene lugar principalmente en los seres vivos catalizada por el enzima deshidroclorinasa.

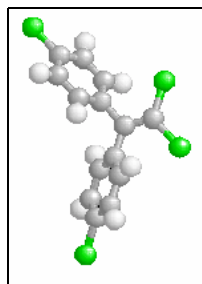


Figura 11. Imagen tridimensional del p,p'-DDE

HCH ó BHC

El hexaclorociclohexano (HCH) o hexacloruro de benceno (BCH) son términos utilizados para designar el 1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano. No debe ser confundido con el hexaclorobenceno (residuo de la fabricación y/o combustión de productos clorados).

Tanto BHC como HCH son reconocidos como nombre común por la ISO (Recommendation R 1750). Sin embargo, de acuerdo con las normas de la IUPAC la designación "hexacloruro de benceno" es incorrecta. Debido a que BHC es más comúnmente utilizado en los E.E.U.U, suele usarse este término en las mezclas comerciales de isómeros y compuestos relacionados.

El isómero gamma es llamado gamma-HCH por la OMS y gamma-BHC por la FAO (Raldúa, 1995).

La International Organization for Standardization reconoce como distintos los nombres de gamma-HCH (gamma-BHC) y lindano; esta distinción es entre el isómero puro y el lindano, el cual es definido como aquel producto con una pureza superior al 99% de isómero gamma-HCH (Raldúa, 1995).

El BHC consiste en una mezcla de 8 isómeros químicamente distintos, que difieren entre sí por las posiciones en el espacio de los átomos de cloro e hidrógeno, además de heptaclorociclohexanos y octaclorociclohexanos. De los ocho estereoisómeros, uno de los cuales (el isómero alfa) posee dos enantiómeros, seis (incluyendo los 2 enantiómeros del isómero alfa, más los isómeros beta, delta, gamma y epsilon) son relativamente estables, y son los únicos comúnmente identificables en el producto técnico.

Los enlaces del carbono no están en un mismo plano sino que ocupan dos clases de posiciones: unos son casi perpendiculares al plano ideal del ciclohexano (enlaces axiales) y otros casi paralelos al mismo (ecuatoriales). Las isomerías del HCH se deben a las posiciones de los átomos de cloro e hidrógeno en los enlaces axiales. Estas isomerías condicionan la actividad insecticida del HCH, cuya obtención consiste en un proceso de cloración del benceno, originándose así la mezcla de los isómeros y que se designan por las letras griegas alfa, beta, gamma, delta y épsilon, de los que el isómero alfa es el predominante (60-70%).

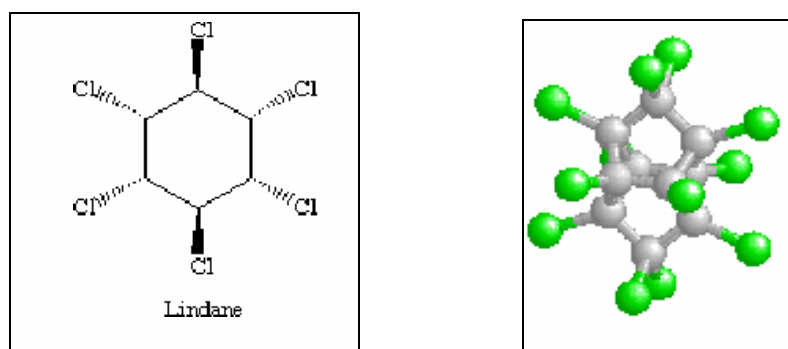


Figura 12. Estructura bidimensional y tridimensional del lindano

La composición exacta del producto original varía en función del fabricante e incluso en función del lote (Raldúa, 1995).

El isómero gamma o lindano es muy estable al calor; lo que junto a su bajo punto de ebullición y su relativamente alta presión de vapor, permite que pueda ser vaporizado mediante calor externo sin descomposición apreciable.

El coeficiente de partición entre el n-octanol y el agua (K_{ow}) describe la distribución del lindano entre el solvente lipofílico n-octanol y el agua y ha sido determinado en diversos estudios (Kurihara *et al.*, 1973; Geyer *et al.*, 1984). Los distintos valores de K_{ow} encontrados se pueden agrupar en el rango 3,20-3,72. Bajo condiciones de equilibrio, la concentración del lindano en el n-octanol excede en unas 2.000 a 5.000 veces la concentración en el agua (Raldúa, 1995).

Basándonos en el coeficiente de partición se puede predecir que el lindano se acumulará en los compartimentos biológicos ricos en lípidos cuando se da la posibilidad de un equilibrio entre el medio lipofílico e hidrofílico (Raldúa, 1995).

La toxicidad del BHC es proporcional al contenido de su elemento más tóxico, que es el Lindano. La DL-50 para rata es de 125 mg/Kg (Matsumura, 1985).

Con el uso de métodos físico-químicos que permiten conducir la síntesis hacia productos más ricos en isómero gamma que el HCH normal y empleando

disolventes selectivos, se consigue separar dicho isómero en estado de gran pureza, por lo que el Lindano tiene aplicaciones más extensas que el HCH, pues no posee sus inconvenientes. Normalmente no proporciona olor ni sabor a las plantas tratadas, ni se acumula en tejidos grasos, ni pasa a la leche, por lo que se usa en ganadería, incluso en ganado productor de leche (Barberá, 1989).

Derivados Ciclodiénicos

Bajo esta denominación englobamos aquí tres grupos de PLAGUICIDAS que se caracterizan por una estructura química similar, que consiste fundamentalmente en una anillo cíclico, con doble enlace y puente metilénico, el cual puede estar unido o no a otro anillo, u otros grupos. Estos tres grupos son:

1. Derivados de dimetanaftaleno: aldrin, dieldrin, isodrin y endrin.
2. Derivados del indano: clordano y heptacloro
3. Derivados del biciclohepteno: telodrin, endosulfán, ciclodan y bromodan

Desde 1950 hasta 1970, el **aldrín y dieldrín** fueron los pesticidas más usados para el maíz y el algodón, pero consecuencia del gran daño que causan al medioambiente y a la salud en humana la EPA prohibió el uso total en 1987.

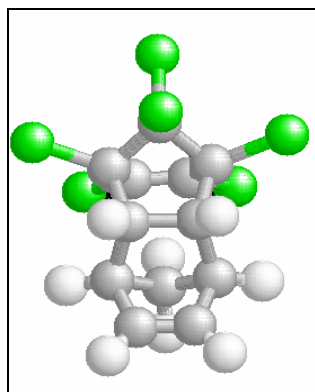


Figura 13. Esquema tridimensional del aldrín

El Dieldrín es el epóxido del aldrín y es uno de los pesticidas más persistentes que se conocen. Sólo tratamientos con ácidos fuertes o largas exposiciones a luz ultravioleta descomponen el dieldrín.

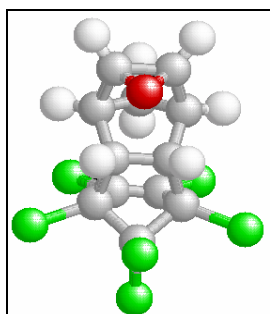


Figura 14. Esquema tridimensional del dieldrín.

Cuando el aldrín y dieldrín entran en el medioambiente, la luz solar, las bacterias, las plantas y los animales transforman el aldrín a dieldrín, que se degrada muy lentamente en el medioambiente o se almacena en grasa eliminándose muy lentamente (<http://www.hhs.gov/>).

El **Endrín** es el epóxido del **Isodrín**. El endrín se degrada fácilmente por el calor y la luz. Es elevadamente tóxico, por lo que se ha usado para controlar insectos, roedores y pájaros. La DL-50 para ratas es de 11 mg/Kg (Matsumura, 1985).

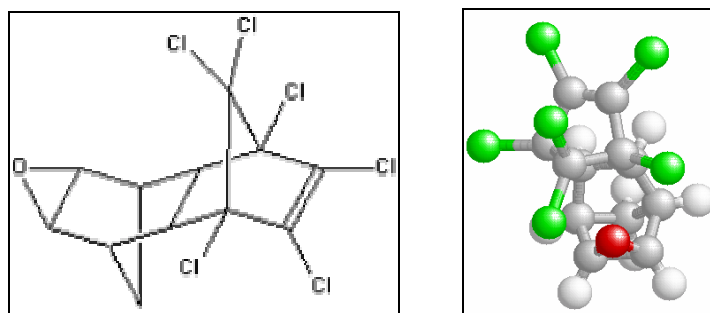


Figura 15. Estructura bidimensional y tridimensional del endrín

Cuando el endrín entra en la naturaleza, éste no se disuelve bien en agua y lo más probable es su deposición en sedimentos. No obstante, se ha encontrado endrín en agua superficial, pero a muy bajas concentraciones. Rara vez se encuentra en aire, salvo en sitios de inmediata aplicación.

La persistencia del endrín depende de las condiciones locales donde se deposita, pero algunos estudios estiman que perdura en suelo hasta 10 años. El endrín puede transformarse a aldehído y cetoaldrín fruto de la exposición a altas temperaturas y a la luz (<http://www.hhs.gov/>).

El **heptacloro** es un producto químico sintético. Se ha usado en el pasado para matar insectos caseros, control de plagas en el maíz, pero en 1988 se prohibió su uso en E.E.U.U (<http://www.hhs.gov/>).

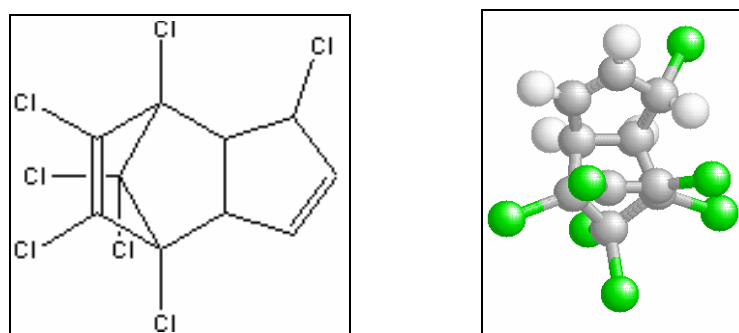


Figura 16. Estructura bidimensional y tridimensional del heptacloro

En el medioambiente, el heptacloro no se disuelve bien en agua, se une fácilmente a las partículas sólidas en suspensión y se evapora lentamente. Lo más común en los sistemas biológicos, es que el heptacloro se convierte en epóxido que es más tóxico que el heptacloro (Matsumura, 1985). Este epóxido permanece en suelo y agua durante muchos años y varios estudios han demostrado que se biomagnifica en los animales (<http://www.hhs.gov/>).

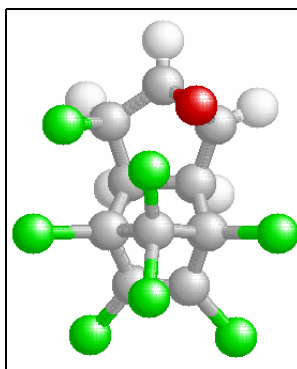


Figura 17. Estructura tridimensional del epóxido de heptacloro

Propiedad común a estos compuestos ciclodienos es su gran persistencia y de modo especial su identidad de comportamiento biológico al ser transformados en sus epóxidos; así el aldrín pasa a dieldrín y el heptacloro a su epóxido tanto en el suelo, como en animales o en sistemas biológicos. La bibliografía al respecto es muy abundante y este mecanismo de epoxidación se considera actualmente, como formando parte del transcurso normal de estos plaguicidas. Lo cierto es que los plaguicidas predecesores, lo son *per se* y no es condición indispensable su transformación en epóxido para conseguir el efecto insecticida.

Todos estos plaguicidas presentan el inconveniente de acumularse en el suelo, especialmente cuando los tratamientos se repiten año tras año; persisten largo tiempo y su presencia en residuos ha sido perfectamente comprobada después de algunos años del tratamiento, señalándole la circunstancia de que los suelos orgánicos retienen mayor cantidad de residuos que los arenosos. También ha sido comprobada una cierta movilización del insecticida, que puede ser absorbido por raíces aprovechables de ciertos cultivos, como la zanahoria, y ha sido demostrada igualmente su acumulación en grasa y leche de los animales alimentados con pastos tratados o creciendo en zonas tratadas con dichos plaguicidas (Barberá, 1989).

En la tercera serie de derivados ciclodiénicos se incluyen los que, quizás más propiamente, debemos denominar bicíclicos halogenados y más concretamente como hexaclorobiciclo(2,2,1)hepteno. Su analogía con los relacionados anteriormente viene dada por conservarse en ellos la estructura del anillo bicíclico hexagonal no saturado y por obtenerse a través de síntesis diénica (Barberá, 1989).

El **Endosulfán**, como representante más importante del grupo es una mezcla de 2 isómeros, alfa (70%) y beta (30%).

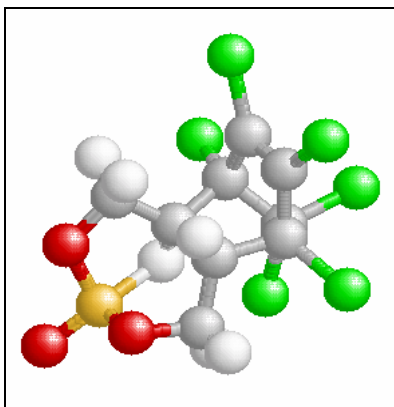


Figura 18. Imagen tridimensional del endosulfán.

Es un pesticida muy usado en el control de insectos en alimentos, cultivos no alimentarios y como protector de la madera.

Cuando se aplica, las partículas en aerosol pueden viajar a largas distancias por el aire. Normalmente el endosulfán se elimina en unas pocas semanas, pero también puede ocurrir que se una fuertemente a las partículas sólidas, con lo que tarda años en destruirse del todo (<http://www.hhs.gov/>).

No se disuelve bien en agua y en este medio se une a las partículas de sólidos disueltos o en los sedimentos.

En mamíferos se transforma en endosulfan-diol, de baja toxicidad y en parte, también se forma sulfato de de toxicidad similar a la del endosulfan (Barberá, 1989). Así mismo se ha demostrado su poder de biomagnificación en los animales.

Derivados del pentaclorociclodecano

Su degradación en suelos es lentísima y la contaminación de ríos ha tenido graves consecuencias en E.E.U.U., ya que el problema persiste de modo casi indefinido, acumulándose en organismos acuáticos, con factores de bioconcentración tan elevados como 10.000-20.000. Sin embargo, entre ambos productos existen diferencias, ya que es el **Declorane** el que mayores problemas presenta en su metabolización, en tanto el **Clordecone** es el que menos se acumula.

2.6.-DISTRIBUCIÓN MEDIOAMBIENTAL DE LOS OC

Fuentes de OC en el medio ambiente

La mayor fuente de contaminación del medio ambiente por pesticidas es por depósitos que resultan de la aplicación de estos productos químicos para controlar plagas agrícolas en cultivos, masas forestales, suelos o aguas estancadas o para luchar contra plagas que causan problemas de salud a la raza humana.

Otras fuentes de contaminación pueden ser pesticidas usados en áreas urbanas y vertidos industriales.

En estas operaciones, una parte de los plaguicidas alcanzan objetivos no deseados y físicamente cercanos al objetivo buscado, por lo que son absorbidos por varios constituyentes del medio ambiente y transportados a otros lugares -por el agua y el aire principalmente- y entran a formar parte de los sistemas biológicos y, a la vez, transformados química o bioquímicamente a compuestos más o menos tóxicos.

-Plaguicidas en la litosfera

Los plaguicidas llegan al suelo bien por aplicación directa o bien por otras vías. Pueden llegar por tratamiento de la vegetación, por escurrimiento o lavado a partir de esta última, a través del agua de lluvia que arrastra el plaguicida suspendido o disuelto en la atmósfera, por el agua de riego contaminada o cuando se entierran los restos de cultivos tratados (Raldúa, 1995).

-Plaguicidas en la hidrosfera

La presencia de fitosanitarios en el agua suele tener más amplias repercusiones que en el caso del suelo por varios motivos: se difunden más rápidamente a un mayor volumen del medio, circulan o pueden circular con desplazamientos más lejanos, sus residuos alcanzan las cadenas tróficas cercanas al hombre de manera más directa (peces, algas, crustáceos y moluscos son componentes habituales de la dieta humana).

Los pesticidas que son transportados a ambientes acuáticos provienen primariamente de la agricultura; también pueden provenir de afluentes procedentes de plantas industriales y químicas que vierten sus productos. Como se ha citado anteriormente, el transporte atmosférico también ha sido demostrado.

La importancia de la contaminación de las aguas por plaguicidas estará en función de su hidrosolubilidad y persistencia.

Los cultivos claramente son la mayor fuente de sedimentos y la erosión que se produce en ellos se tiene en cuenta como el factor más polucionante que afecta la calidad del agua. Anualmente cerca de 3,1 billones de m³ de sedimento alcanzan las aguas en E.E.U.U. La carga de sólidos suspendidos de las áreas urbanas y de

las tierras cultivadas es de 10 a 100 veces la de la tierra sin cultivar o arbolada (McElroy *et al.*, 1975).

Cuando la tierra es expuesta a fenómenos erosivos como la lluvia y la escorrentía, el daño a los ambientes acuáticos es mucho más elevado. Añadiremos que las tierras que se erosionan elevadamente son las tierras de cultivo, praderas y bosques pastados en exceso y, por si fuera poco, reciben la mayor aplicación de pesticidas. Las prácticas agrícolas como el talado contribuyen al fenómeno de erosión y, por lo tanto, al transporte de pesticidas.

Con frecuencia, el período de máximo transporte de los residuos coincide con el máximo período de actividad agrícola, aunque, a veces, la pérdida de residuos de tierras puede no estar confinada a la época de aplicación (Braun y Frank, 1978).

-Plaguicidas en la atmósfera

Las fuentes por las que un plaguicida puede llegar a la atmósfera, además de la pérdida directa por tratamientos aéreos, son las siguientes: deriva, volatilización durante la aplicación o a partir de superficies tratadas, escapes o efluentes industriales e incluso las tormentas de polvo (Albajes, 1992)

-Otras fuentes de residuos de pesticidas

Con las aplicaciones indiscriminadas, los pesticidas entran en el ecosistema, pero los OC pueden entrar en el medioambiente, no necesariamente a través de medidas para controlar los insectos, sino a través de otros medios. Por ejemplo, la posible producción de hidrocarburos clorados en piscinas resultado de la reacción entre el cloro y sustancias orgánicas. Las cantidades de HCB medidas en el medio ambiente y mundo vegetal indican que pueden existir otras fuentes, aparte de su uso como fungicidas.

De acuerdo con Jansson y Bergman (1978), el HCB aparece como contaminante en productos como PCP y pentacloronitrobenzono, y como producto residual en la producción de cloro por la electrólisis de la salmuera y durante la combustión del cloruro de polivinilo.

Se sabe que existe la fotoisomerización como otro medio de producción de algunos tóxicos o la irradiación del DDT con luz UV para producir DDE y en menor grado DDD. Algunas veces, incluso la fotooxidación conduce a la formación de más productos tóxicos (Murty, 2000).

Movimiento de residuos de OC en el medio ambiente

Durante la aplicación, los pesticidas son transportados a la atmósfera por las corrientes de aire. También, muchos de los pesticidas, aún siendo compuestos orgánicos volátiles, se evaporan rápidamente desde la superficie de la planta y suelo y pueden llegar como residuo a la atmósfera durante largos períodos de tiempo, ser bajados por las precipitaciones o ser lentamente depositados como materia seca en forma de partículas.

-Pérdida durante la aplicación

Existe una considerable cantidad de pesticida que no llega a las áreas de destino y se pierde. Las condiciones climatológicas influyen en este transporte, siendo la aplicación por aeroplano la que más consecuencias plantea. Se ha visto que al fumigar los bosques de forma aérea, cerca del 95% de las gotas aerosol fallan en llegar a las plantas objetivo y contaminan el bosque y el suelo (Murty, 2000).

Tras la aplicación aérea de endosulfan en el Delta de Botswana para el control de la mosca tsé-tsé, el 47% del mismo se recuperó en suelo y su concentración en agua varió desde 0,5 a 4,2 µg/L, concentraciones que son iguales o superiores a la CL-50 a las 96 h para muchas especies de peces (Fox y Matthiessen, 1982).

En base a un estudio durante 5 años, Hindin y Bennett (1970), concluyeron que el 35% del DDT y el 50% de ethion aplicado por aeroplanos, no alcanzaba la planta diana y persistía en el área tratada hasta 2 semanas después del tratamiento.

-Pérdidas durante la volatilización

La volatilización es la mayor causa de pérdida de los pesticidas. La volatilidad del compuesto insecticida juega un importante papel. Acree *et al.* (1963) encontraron que los compuestos volátiles como el aldrin, heptacloro, forate, lindano, epóxido de heptacloro y el dieldrin desaparecen del suelo por evaporación, mientras que el DDT no lo hace.

La presión de vapor influye en esta volatilización; cuanto mayor sea la presión de vapor mayor volatilidad de un compuesto y mayor la movilidad en la fase gaseosa. La velocidad del viento sobre la superficie y la temperatura incrementan la velocidad de volatilización. Un aumento de 10°C incrementa cuatro veces la volatilización (Farmer *et al.*, 1972).

Otro factor importante en la pérdida de insecticida OC por volatilización es la materia orgánica. Harris y Lichtenstein (1961) encontraron que la volatilización del aldrin de suelos que contenían elevadas concentraciones de materia orgánica era mucho menor que en suelos que contenían bajas concentraciones de materia orgánica. Parece que la materia orgánica puede absorber aldrin y, por lo tanto, disminuir el residuo disponible.

Otros factores que afectan el proceso de evaporación del pesticida son la mezcla de suelo, la humedad relativa del aire, temperatura del suelo y el movimiento del aire a través del suelo.

-Transporte por agua, aire y lluvia

El agua es el mayor medio de transporte de varias sustancias de unas localizaciones a otras. La gran masa de residuos de pesticidas generalmente se confinan en las capas superficiales del suelo y el agua puede arrastrar partículas que contengan residuos de pesticidas. Sólo los plaguicidas con una solubilidad en agua por encima de 5 ppm se diluyen en condiciones experimentales.

Algunos plaguicidas pueden permanecer en agua en forma de suspensión, aunque la presencia de partículas de suelo acelera el proceso de precipitación.

La erosión de la superficie de tierras afectadas por el viento parece ser una causa significativa de transporte a la atmósfera. Los residuos aerotransportados están asociados con polvo o pueden existir mayormente en fase de vapor. Dependiendo de las condiciones locales atmosféricas y los patrones de movimiento del viento, tales residuos pueden ser llevados a considerables distancias y retornar a la tierra a través del agua de lluvia o nieve. Esta deposición de partículas de polvo se reconoce como el medio más importante de enriquecimiento de residuos en ambientes acuáticos (Eisenreich *et al.*, 1979). De esta forma, la atmósfera puede actuar como reservorio y sumidero de pesticidas.

El dieldrín, p,p'-DDT y el p,p'-DDE se detectaron en muestras de aire recogidas en la bahía de Bantry en el suroeste de Irlanda (Baldwin *et al.*, 1977).

El enriquecimiento de residuos en la atmósfera, especialmente aquellos químicos orgánicos industriales (HCB, PCBs) en los años recientes, parece estar ayudado por la incineración de todos estos compuestos químicos.

Veith y Lee (1971) afirmaron que *“la estabilidad de la mayoría de las mezclas cloradas a baja temperatura pueden resultar en un transporte aéreo de PCBs de la zona industrial y de las incineradoras municipales a cauces naturales de aguas”*. En un estudio sobre las condiciones óptimas de incineración que aseguraría la completa destrucción de OC, se vio que el lindano se destruyó completamente a 800°C en 1,7 seg y que una temperatura de 800°C en 1,5 seg se requiere para la completa destrucción del DDT. En la mitad de este tiempo y a la misma temperatura, 500 mg/Kg de DDT se mantuvieron sin destruir y se emitieron hacia el exterior (Ahling, 1978).

Wheatley y Hardman (1965) encontraron gamma-HCH, p,p'-DDT y dieldrín en agua de lluvia en Inglaterra central. Wibel *et al* (1966) demostraron la presencia de clordano, heptacloro epóxido, DDT, DDE, dieldrín, ronnel y 2,4,5-T (2,4,5-triclorofenoxiacético) en agua de lluvia recogida en Cincinnati (Ohio) en 1965. Elevados niveles de alfa-HCH (entre 45 y 830 ng/L) y gamma-HCH (29 a 398 ng/L) se encontraron en agua de lluvia recogida en Tokio entre 1968 y 1969 respectivamente (Masahiro y Takahisa, 1975).

En fin, hay numerosos estudios en casi todos los lugares del mundo que demuestran la existencia de agua de lluvia con residuos de OC, hasta el punto que también se ha visto que el polen contaminado es una fuente de contaminación de DDT en agua de lluvia.

-Movilidad de los pesticidas en el suelo

Los pesticidas usados para controlar las plagas en agricultura se dirigen contra las plantas, aunque la mayor proporción se deposita en la superficie del suelo.

Existe un número de factores externos que juegan un papel importante al decidir el destino de estos depósitos:

1. absorción por las partículas del suelo y la materia orgánica
2. lixiviación y arrastre por el agua
3. evaporación incluyendo transporte mecánico a través de vapor de agua
4. degradación y/o activación por los microorganismos del suelo
5. descomposición fisiológica o activación catalizada por las condiciones del suelo o los constituyentes del suelo.
6. fotodescomposición
7. translocación a través de sistemas biológicos a otros ambientes.

De todos estos procesos, sólo los pertenecientes a las categorías 4, 5, 6 y de algún modo la 7 pueden reducir realmente la cantidad de pesticidas en el medio ambiente. Pero el factor más importante que decide la persistencia total es la naturaleza propia del insecticida y sus características tales como solubilidad en agua y polaridad, que influyen en la naturaleza lipofílica del compuesto, así como en la volatilidad, reactividad química y estabilidad.

La adsorción a partículas sólidas es un factor importante que determina el grado de **movilidad** de un compuesto. La mezcla del suelo y el contenido en materia orgánica deciden el grado de adsorción.

Carter y Stringer (1970) encontraron que tanto el tipo de suelo, como el contenido de la mezcla juegan un papel importante a la hora de determinar la penetración de pesticidas, como el heptacloro, aldrín, gamma-clordano y dieldrín. Destacaron además, que el contenido en arcilla es importante, ya que los pesticidas no emigran en suelos con elevada cantidad de arcilla y cieno.

Lichtenstein y Schulz (1960a) demostraron que las cantidades de aldrín y dieldrín que se recuperaron, después del tratamiento con aldrín, estaban directamente relacionadas con la cantidad de materia orgánica encontrada en el suelo, por lo que claramente, la materia orgánica puede absorber aldrín (y dieldrín) y, por lo tanto, disminuir la oportunidad de que el aldrín desaparezca por la acción de otros factores.

Referente al pH, de forma general, los plaguicidas persisten más en suelos ácidos que en los alcalinos.

En cuanto al efecto de la formulación, Lichtenstein (1965) y Edwards (1970) concuerdan en que los plaguicidas granulares persisten por más tiempo que los de emulsión, que a su vez persisten más que los líquidos miscibles y polvos solubles.

Bajo condiciones de elevada humedad, la adsorción de los pesticidas al suelo es baja porque las moléculas de agua desplazan a las moléculas de pesticida de los lugares de adsorción. Por ejemplo, cuando se añade agua a los suelos que contienen aldrín, dieldrín o endrín adsorbidos, estos compuestos se liberan (Weber, 1972).

Los compuestos con una solubilidad en agua de 10 mg/L o mayores se transportan en solución con la escorrentía, mientras que aquellos que son menos solubles se transportan adsorbidos a las partículas de materia. A mayor solubilidad en agua, mayor movilidad. Por ejemplo, el lindano, que tiene una alta solubilidad, es más móvil que muchos otros compuestos. Bajo idénticas condiciones del suelo, el coeficiente de adsorción del DDE es 20 veces mayor que el lindano, ya que es del orden de 1000 veces menos soluble que el lindano (Hamelink y Waybrant, 1976).

La erosión superficial por el viento lleva los residuos en fase gaseosa. Spencer y Cliath (1969) demostraron que el grado de desaparición del dieldrín del suelo estaba en función del movimiento del aire a través del suelo.

Las condiciones externas, como temperatura y el cultivo del suelo afectan grandemente a la persistencia de los plaguicidas (Lichtenstein, 1965). Los plaguicidas desaparecen más rápido con las altas temperaturas y una cubierta con cultivos tiende a incrementar la persistencia, probablemente al disminuir el grado de evaporación del suelo.

La persistencia del DDT en los suelos se ha estudiado con más frecuencia que otros pesticidas, ya que el DDT es uno de los más persistentes y ha causado muchos problemas por su potencial para bioconcentrarse. En suelos tratados con DDT entre 11 y 114 Kg/Ha, del 18 al 24% de la cantidad inicial persistió incluso después de 15 años (Lichtenstein et al, 1971).

De forma similar, 15 años después de la aplicación de aldrín (22,8 Kg/Ha), el 5,8% de la dosis inicial persistió como dieldrín. El lindano, fue, sin embargo, menos persistente, con sólo 0,2% de la dosis inicial (11-114 Kg/Ha) persistiendo hasta 15 años después (Lichtenstein *et al*, 1971).

En la naturaleza, la **desaparición** de los pesticidas se lleva a cabo en 2 fases: una inicial de rápida desaparición y una fase que sigue de desaparición más lenta en términos de residuos. A la fase inicial se la conoce con el nombre de "disipación", mientras que a la segunda fase "persistencia".

Las razones por las que ocurren en dos pasos pueden ser múltiples, aunque una de las causas principales parece ser que los plaguicidas pueden ser absorbidos o transportados a lugares donde escapan a los vigorosos efectos del arrastre por el agua.

Distribución y niveles de OC en los diferentes sistemas acuáticos

Es importante **conocer** los niveles de residuos de OC en los ambientes acuáticos, porque se trata de un ecosistema constituido por numerosos elementos y organismos, tanto bióticos como abióticos interrelacionados entre sí y en equilibrio. Cualquier alteración en alguno de estos elementos integradores representa un riesgo para los demás, desde un punto de vista holístico.

-OC en el agua

Normalmente, la **entrada** de plaguicidas a los sistemas fluviales proviene de la aplicación directa a cultivos cercano. También es común que los fenómenos meteorológicos, como la lluvia o nieve, aire, etc, arrastren residuos de pesticidas, que, aunque en pequeñas cantidades, pueden ser suficientes para crear desequilibrios en los ecosistemas y provocar efectos en las fases bióticas.

La **distribución** de un compuesto organoclorado entre las distintas fases de un ecosistema acuático (agua, materia en suspensión, sedimentos, plancton, vegetales acuáticos, macroinvertebrados y organismos superiores) es rápida. Las concentraciones del contaminante en las distintas fases son función de las propiedades de éste y de la naturaleza de las fases adsorbentes/absorbentes.

Los actuales modelos de distribución de contaminantes se basan en el concepto de **fugacidad** (f), es decir, la tendencia de un compuesto de escapar de una determinada fase (Lledos *et al.*, 1992). La fugacidad es proporcional a la concentración del compuesto en la fase, denominándose Capacidad de Fugacidad (Z) a la constante de proporcionalidad:

$$\text{Concentración} = f \times Z$$

Compuesto	Za	Zw	Zms	Zs	Zb
Alfa-HCH	$4,04 \times 10^{-4}$	$6,7 \times 10^{-4}$	1,3	1,3	$1,6 \times 10^{-1}$
Beta-HCH	$1,0 \times 10^{-4}$	$4,04 \times 10^{-4}$	$3,3 \times 10^{-1}$	$3,3 \times 10^{-1}$	$4,8 \times 10^{-2}$
Gamma-HCH	$4,04 \times 10^{-4}$	$2,8 \times 10^{-4}$	$1,5 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$1,5 \times 10^3$
Delta-HCH	$4,04 \times 10^{-4}$	$2,8 \times 10^{-2}$	8,8	8,8	$7,9 \times 10^{-1}$

Tabla 3. Capacidad de fugacidad de los distintos isómeros de HCH en la fase atmosférica (Za), agua (Zw), materia en suspensión (Zms), sedimentos (Zs) y biota (Zb), suponiendo una densidad de 1,5 g/ml para las 3 últimas fases, según Raldúa (1995).

En las fases donde Z es baja (como en el agua), la fugacidad es alta y las concentraciones de soluto serán, por lo tanto, bajas. De este modo, los OC se acumularán en las fases del sistema donde Z sea grande (materia en suspensión, sedimentos y organismos). Pero también ocurre, que cuando un sistema se encuentra en equilibrio, la fugacidad de todas las fases se iguala.

La **desaparición** de plaguicidas en el agua se puede producir por codestilación, degradación química o biológica, sedimentación en los lodos del fondo y fotólisis (Alvarez y Cruz, 1989).

El endosulfán desaparece en agua de río natural, a temperatura normal y expuesto a la luz, al cabo de 4 semanas. Ya a la primera semana aparece su primer producto de degradación que es el sulfato de endosulfán, producto que se encuentra en agua más frecuentemente. La degradación es fácil en aguas a pH neutros, pero bajo condiciones de extrema alcalinidad, la vida media es de 1 día (Carvalho *et al.*, 1999).

-Niveles de OC en agua

Los estudios realizados sobre los niveles de OC en aguas continentales se han dirigido básicamente para valorar la calidad ambiental de las aguas continentales o con la intención de establecer correlaciones con organismos vivos acuáticos y buscar implicaciones toxicológicas.

Las investigaciones realizadas implican a todos los continentes, aunque en principio, sea más interesante poder conocer la incidencia de los OC en España.

Carrasco *et al.* (1972) detectaron 0,39 ppb de HCHs y 0,49 ppb de Σ DDT en aguas de la Albufera de Valencia.

Alonso (1976) examinó 211 muestras de agua de río y 40 muestras de agua de estuario, en la provincia de La Coruña, durante el periodo de marzo de 1973 a junio de 1974. Sólo 24 muestras de agua se encontraron contaminadas con OC. De estas, la concentración media de HCHs fue de 0,56 μ g/L y 210 μ g/L y la concentración media de Σ DDT fue de 0,775 μ g/L y de 0,255 μ g/L en las aguas de río y en las aguas de estuario respectivamente.

Hernández *et al.* (1976) estudiaron la contaminación por productos OC en la cuenca del río Guadalquivir, con el fin de conocer la incidencia de esta contaminación residual sobre el medio ecológico. Encontraron varios pesticidas, que se recogen en la siguiente tabla:

	α -HCH	γ -HCH	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-DDD	p,p'-DDT	Σ -HCH	Σ -DDT
Rango	0,002-0,080	0,004-0,182	0,008-0,014	0,029-0,436	0,01-0,364	0,823-12,97	0,006-0,272	0,876-13,77

Tabla 4. Concentración (ppb) de OC en aguas del río Guadalquivir (11 puntos de muestreo)

Baluja *et al.* (1983) realizaron un estudio de la contaminación de OC en aguas del Parque Nacional de Doñana, encontrando concentraciones medias de HCHs de 0,03 μ g/L y 0,21 μ g/L de Σ DDT.

Simal *et al.* (1984) tomaron muestras de 55 puntos de abastecimiento público de la comunidad autónoma de Galicia. De todas las muestras de agua, en casi todas ellas el insecticida predominante es el lindano y alfa-HCH. Según el informe, todas las muestras, excepto dos, sobrepasaban los niveles individuales de residuos OC que establece la legislación española.

La Junta de Andalucía, a través de la Consejería de la Salud, realizó un estudio de contaminación por residuos fitosanitarios en aguas en diciembre de 1987. Los residuos y sus niveles se encuentran reflejados en la siguiente tabla, extraída de Valverde y González (1992):

Producto	Agua continental bruta	Agua potable
HCH ($\alpha + \beta$)	1-64	5-71
Lindano	6-91	2-87
Heptacloro y epóxido	1-82	1-20
DDT (p,p'; o,p'-DDT)	20-99	1-30
DDD (pp' y op')	14-15	Nd
Aldrin	11-44	1-69
Dieldrin	6-65	3-33
Endrín	3-65	3-33

Tabla 5 . Concentración de OC (ppb) encontradas en agua de toda Andalucía.

Rico *et al.* (1989) analizaron la contaminación por OC de aguas del P. N. de Doñana durante los años 1982-1986. Su conclusión fue que en el 96% de las muestras se detectó lindano y en el 70% α -HCH, pero tan solo en un punto de muestreo se excedió el límite de 0,056 ppb. Los niveles de Σ DDT oscilaron entre 0,02 y 0,737 ppb. Sin embargo, no se observaron variaciones significativas de los niveles de OC entre los puntos muestreados ni durante el periodo de muestreo.

Hernández *et al.*, (1992) estudiaron los niveles de OC en agua, suelos y gusanos del río Guadalquivir. Los datos del estudio indicaron una acumulación de OC en suelos y gusanos relacionada con la concentración en agua. El factor medio de concentración, definido como la relación entre la concentración en suelos o gusanos con respecto al agua fue de 30,4 y 1,26 para los HCHs respectivamente. Los niveles de Σ DDT en agua fueron muy bajos, pero en el 40% de los sitios muestreados los valores de HCHs resultaron ser mayores que los que establecía la legislación española (0,05 $\mu\text{g/L}$).

	1992		1975	
	HCHs	Σ DDT	HCHs	Σ DDT
Agua ($\mu\text{g/L}$)	0,054	0,007	0,089	5,13
Suelos	1,44	18,18	22,9	138
Lombriz tierra	67,0	1,03	-	-

Tabla 6. Niveles medios de OC ($\mu\text{g/Kg}$) detectados en 10 puntos de muestreo

Los niveles de HCHs y Σ DDT hallados en agua y suelos representó un descenso con respecto a un estudio similar llevado a cabo en el año 1975 y concluyen el estudio diciendo que los niveles de residuos de OC del río pueden afectar la vida acuática y conducir a su acumulación a través de la cadena trófica.

García-Repetto y Repetto (1997) analizaron muestras de agua de consumo humano durante los años 1991 al 1994. De las 84 muestras cogidas, se detectaron OC en 70 (0,031-0,081 ppb para el lindano y de 0,01-0,071 ppb de Σ DDT), pero todas ellas, excepto dos, poseían niveles por debajo de los

registrados en las guías de salud pública. Todos los niveles de HCHs y Σ DDT fueron decreciendo en el transcurso de los años.

De estos datos podemos concluir que las aguas de nuestro país no tienen una contaminación alarmante en lo que se refiere a contaminación por OC.

Estudios similares se han llevado a cabo en agua de muchos países representantes de los distintos continentes.

En Africa, Norrgren *et al.* (2000) examinaron las aguas del río Kafue, el mayor afluente del río Zambeze (Zambia). La concentración del Σ DDT en agua estuvo entre 7- 35 ng/L, en los dos puntos de muestreo, siendo el p,p'-DDE el metabolito principal, encontrado entre 3-27 ng/L. Además también se encontró dieldrín a una concentración de 18 ng/L en uno de los puntos de muestreo.

En el continente Indio, Dua *et al.* (1998) realizaron un estudio de los niveles de HCHs y el Σ DDT en agua de 5 lagos para suministro de agua de red y encontraron que todas las muestras excedían de las concentraciones máximas permitidas por la WHO en 1984 para el lindano (4 μ g/L) y para el DDT (1 μ g/L).

Muralidharan (2000) analizó las aguas de las marismas del P. N. de Keoladeo (India) durante los años 1989 y 1990. El total de HCHs varió desde 4-580 ppt en 1989 y 50-3.430 ppt en 1990. De todos los isómeros, el alfa fue el más abundante (92%), seguido del delta (67%), lindano (58%) y beta (8%). La concentración media del total de DDT osciló entre 1-500 ppt en 1989 y entre no detectable y 3.860 ppt en 1990. De los metabolitos estudiados, el o,p'-DDE y el o,p'-DDT fueron los más abundantes.

Ayas *et al.* (1997) llevaron a cabo un estudio sobre los niveles de OC en aguas del delta de Göksu (Turquía) encontrando una gran variedad de ellos. Así, encontraron 0,058 ppm de α -HCH, 0,006 ppm de β -HCH, 0,007 ppm de lindano, 0,015 ppm de heptacloro, 0,024 ppm de p,p'-DDT, 0,057 ppm de p,p'-DDD y 0,025 ppm de p,p'-DDE.

Dua *et al.* (1998) realizaron un estudio de los niveles de HCHs y Σ DDT en 5 lagos de la India con poca incidencia antropogénica. Cabría esperar bajas concentraciones, sin embargo las concentraciones medias fueron de 1,25 (0,05-4,08) μ g/L para el lindano y 5,84 (0,28-18,79) μ g/L para el Σ DDT.

Según estos autores los niveles de lindano no excedían los límites máximos permisibles de 4 μ g/L de lindano, pero sí superaban con mucho los límites máximos permitidos para el DDT (1 μ g/L) establecidos por la WHO (1984)

En el mar Mediterráneo, Abbassy (2000), estableció 3 tomas de muestras de agua para determinar OC. En ellas pudo advertir la presencia de lindano (0,2-0,4

µg/L), p,p'-DDE (0,03-0,05 µg/L) y cantidades menores a 0,03 µg/L de p,p'-DDT y menor de 0,01 µg/L de p,p'-DDD.

Dong *et al.* (2000) determinaron OC en el río Yangtse. El pesticida con más concentración era los HCHs (2,5 ng/L), seguido DDT (0,9 ng/L) y DDD (0,4 ng/L).

Chevreuil *et al.* (1996) evaluaron la polución por OC en aguas del río Sena, en Francia. Realizaron varios muestreos en el año 1992 y encontraron entre 0,5-2 ng/L de α -HCH, entre 4,4-19 ng/L de lindano y <1 ng/L de p,p'-DDE.

Pereira *et al.* (1996) realizaron un estudio de los niveles de pesticidas en los afluentes del río San Joaquín y del propio río en el Valle Central de California. De entre los 4 afluentes estudiados, destacó el río Orestimba Creek en el que midieron niveles de 19 ng/L de p,p'-DDE, 3,5 ng/L de p,p'-DDD, 2 ng/L de p,p'-DDT y 24 ng/L del Σ DDT, mientras que en el resto de los ríos los niveles de estos pesticidas se mantuvieron por debajo de 1 ng/L.

Hasta 280 ppt de endosulfán se midieron en aguas superficiales del lago Okeechobee, en el Sur de Florida (E.E.U.U), rodeado de una zona agrícola importante (Miles y Pfeuffer, 1997). Scott *et al.* (1990) encontraron hasta 685 ppt en aguas del río North Edisto en el sur de Carolina (E.E.U.U) atribuidas a la descarga de zonas agrícolas cercanas.

En la Bahía de Chesapeake, en Maryland (E.E.U.U) desembocan varios ríos que reciben el impacto directo de zonas agrícolas. Muestras de agua recogidas en el río Patuxent y en el río Choptank (Maryland), durante el año 1997, mostraron niveles de 1,6 ng/L de p,p'-DDE, 0,8 ng/L y 0,4 ng/L de endosulfán tipo I y II, no encontraron α -HCH y un promedio de 0,6 ng/L de lindano en el río Patuxent. En el río Choptank encontraron 0,4 y 0,5 ng/L de endosulfán tipo I y II, no detectaron α -HCH y 0,3 ng/L de lindano (Lehotay *et al.*, 1998).

En una expedición que atravesó el Océano Ártico desde los mares de Bering y Chukchi hasta el Polo Norte se tomaron muestras de aguas superficiales del Océano Ártico para medirles OC. Estas aguas contenían entre 0,63 y 2,74 ng/L de α -HCH, entre 0,17-0,7 ng/L de lindano y <10 pg/L de endosulfan tipo I y II (Jantunen y Bidleman, 1998).

Kidd *et al.* (1998) midieron la concentración de los principales OC en un lago ártico de Canadá –Peter Lake- en el año 1994 y 1995, cuyos datos se reflejan en la siguiente tabla, comprobando que la concentración aumentó en el año 1995, respecto del año 1994.

Compuesto	1994		1995	
	Media	Rango	Media	Rango
α -HCH	669	593-713	798	670-976
Σ -HCH	887	786-941	994	847-1192
p,p'-DDE	1,7	1,1-2,4	7,8	4,4-14,5
Σ -DDT	15,8	7-29,8	88,1	63,8-122

Tabla 7. Concentración (pg/L) de OC en Peter Lake (Canadá)

-Legislación relativa a la protección del Medio Acuático

La Oficina del Agua de la Agencia de Protección Ambiental de los E.E.U.U (US-EPA) detalla los siguientes niveles deseables y máximos permitidos en agua potable dentro de los estándares del Reglamento Nacional Primario de Agua Potable:

Contaminante	MNMC (mg/l)	NMC (mg/l)
Endrin	0,002	0,002
Heptacloro	Cero	0,0004
Heptacloroepóxido	Cero	0,0002
Hexaclorobenceno	Cero	0,001
Lindano	0,0002	0,0002
Metoxicloro	0,04	0,04

Tabla 8. Niveles deseables y máximos permitidos en agua potable establecidos por la USEPA

**MNMC = Meta del Nivel Máximo del Contaminante, que es el nivel de un contaminante en el agua potable por debajo del cual no se conocen o no se esperan riesgos para la salud, por lo que permiten contar con un margen de seguridad y no son objetivos de salud pública obligatorios.*

**NMC = Nivel Máximo del Contaminante, que es el máximo nivel permitido de un contaminante en el agua potable, por lo que se establecen lo más próximos posible a los MNMC según permita la tecnología y los costos.*

La Directiva 76/464, relativa a la contaminación causada por determinadas sustancias vertidas en el medio acuático de la Comunidad, es una Directiva marco, que debe de ser desarrollada posteriormente por Directivas referentes a cada sustancia. Clasifica las sustancias peligrosas en 2 grandes categorías, siendo la primera categoría la llamada "lista negra" o "lista I", que comprende las sustancias consideradas como más peligrosas en función de su toxicidad, persistencia y bioacumulación en el medio acuático. En esta categoría se incluyen los compuestos organohalogenados y, por lo tanto, los OC.

La Directiva 84/491, relativa a los valores límite y a los objetivos de calidad para los vertidos de HCH, fue adaptada a la legislación española por la Orden de 12 de noviembre de 1987 del Ministerio de Obras Públicas y Urbanismo (BOE 280, del 23 de noviembre de 1987). En esta Directiva se considera al HCH, por su

toxicidad, persistencia y bioacumulación, como uno de los compuestos organohalogenados de la lista I. Considerando que los vertidos directos de HCH en las aguas están provocados en gran medida por las instalaciones que lo producen, fija unos valores límite para los vertidos de dichas instalaciones y fija objetivos de calidad para el medio acuático en el que dichas instalaciones vierten HCH. Entre los objetivos de calidad se cita que la concentración total de HCH en los sedimentos y/o moluscos y/o crustáceos y/o peces no deberá aumentar con el tiempo de modo significativo. Establece que, si bien el objetivo es eliminar cualquier contaminación, unas concentraciones máximas de ΣHCH de 100 ng/L en aguas interiores superficiales afectadas por vertidos constituyen las exigencias mínimas necesarias para proteger la vida acuática.

La Directiva 86/280, relativa a los valores límite y los objetivos de calidad para los residuos de determinadas sustancias peligrosas comprendidas en la lista I del Anexo de la Directiva 76/464/CEE, fue también adaptada a la legislación española por la Orden de 12 de noviembre de 1987 del Ministerio de Obras Públicas y Urbanismo (BOE 280, del 23 de noviembre de 1987). En su anexo II establece:

- que la concentración de DDT en las aguas, sedimentos, moluscos, crustáceos y peces no deberá aumentar de forma significativa con el tiempo y que los objetivos de calidad para las aguas interiores de superficie son de 10 µg/L para el p,p'-DDT y 25 µg/L para el DDT total.
- que las concentraciones de aldrín, dieldrín, endrín e isodrin en los, sedimentos, moluscos, crustáceos y peces no deberá aumentar de forma significativa con el tiempo y que los objetivos de calidad para las aguas interiores de superficie son de 30 µg/L para el total de las 4 sustancias con un máximo de 5 ng/L para el endrín.

La Directiva 2000/60/CEE por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas incluye a los compuestos organohalogenados entre los principales contaminantes de las aguas, y la Decisión 2455/201/CE del Parlamento Europeo y del Consejo incluye al endosulfán (alfa-endosulfán) y al HCH (gamma-isómero, lindano) en la primera relación de sustancias peligrosas prioritarias a controlar.

La Directiva 79/923, relativa a la calidad exigida a las aguas para cría de moluscos, limita en la columna G del anexo la concentración de compuestos organohalogenados en el agua de tal modo que la concentración de cada sustancia en la carne del molusco no afecte a la buena calidad de éste. Además, la columna I indica que la concentración de cada sustancia en el agua para cría de moluscos o en la carne de éstos no deberá rebasar un nivel que provoque efectos nocivos en dichos moluscos y sus larvas. Esta directiva fue traspuesta a la legislación española por el R.D. 38/1989 de 13 de enero del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (BOE 17, del 20 de enero de 1989).

La Orden de 11 de mayo de 1988 (BOE 124, del 24 de mayo de 1988), emitida por el Ministerio de Obras Públicas y Urbanismo, traspone la Directiva 75/440/CEE, modificada por la Orden de 15 de octubre de 1990 (BOE 254, de 23-10-90) y la Orden de 30 de noviembre de 1994 (BOE 298, de 14-12-94), establece las características básicas de calidad que deben ser mantenidas en las corrientes de aguas superficiales cuando sean destinadas a la producción de agua potable. En el Anexo II establece que la cantidad de plaguicidas totales no excederá de 1 µg/L en aguas de tipo A1, de 2,5 µg/L en aguas de tipo A2 y de 5 µg/L en aguas de tipo A3.

El REAL DECRETO 1138/1990, de 14 de septiembre (BOE 20/9/90), por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables de consumo público, establece las cantidades máximas de sustancias admitidas:

Parámetro	Nivel guía (µg/L)	Conc. Máx admi. (µg/L)	observaciones
Pest. OC	-	0,1 *	Individualizado
Pest. OC	-	0,5	En total

Tabla 9. Niveles guía y máximos autorizados en agua destinada a agua potable de consumo humano.

* Plaguicidas (individual): 0.1 µg/l (salvo en el caso de aldrín, dieldrín, heptacloro y heptacloroepóxido que es de 0.03 µg/l)

-OC en la materia en suspensión

Tras penetrar en el sistema acuático, los compuestos OC no polares son rápidamente adsorbidos sobre las partículas en suspensión, especialmente sobre aquellas que presentan un elevado contenido en materia orgánica (Lledos *et al.*, 1992). Dicho proceso presenta una constante de adsorción (K), que relaciona la cantidad de xenobiótico por unidad de masa (Y/m) del material particulado con la concentración de dicho compuesto en la fase disuelta (C), según la expresión:

$$Y/m = K \times C$$

Las constantes de adsorción se relacionan linealmente con el contenido de materia orgánica (TOC) y el área superficial (SA) de los adsorbentes. Así, para el caso de los PCB (Aroclor 1242), de estructura relativamente similar a la de los OC, la relación es, según Chou *et al.*(1987):

$$K = 12,4 + 4,06 \times SA + 73,5 \times TOC$$

La concentración de este tipo de contaminantes en la materia en suspensión será mayor cuanto mayor sea el contenido en materia orgánica de éste y menor el tamaño de la partícula (mayor SA) (Raldúa, 1995)

-OC en sedimentos

Una vez adsorbidos a la materia en suspensión, los xenobióticos son transportados hacia los sedimentos por precipitación de las partículas (Pierce *et al.*, 1974). En la interfase sedimento-agua tienen lugar fenómenos de adsorción-desadsorción, que regulan la concentración de OC en el agua.

La distribución de estos compuestos entre la fase disuelta y los sedimentos es función de sus coeficientes de partición octanol-agua (K_{ow}), es decir, de su hidrofobicidad. De la relación entre la adsorción y el contenido en materia orgánica del adsorbente se obtiene la constante K_{oc} , que depende únicamente del compuesto de que se trate. En realidad, el K_{oc} es el coeficiente de partición K normalizado para el contenido en materia orgánica del adsorbente (Chou *et al.*, 1987).

$$K_{oc} = K \times 100/TOC (\%)$$

Así, el K_{oc} es una propiedad del compuesto y se relaciona con otras propiedades de éste, como son la solubilidad y el K_{ow} .

$$\text{Log } K_{oc} = 5,85 - 0,64 \text{ Log } S \text{ (ppb)}$$

$$\text{Log } K_{oc} = 0,007 + 0,834 \text{ Log } K_{ow}$$

Tanto en la materia en suspensión como en los sedimentos, el contenido en materia orgánica parece ser el factor clave que regula la magnitud de la adsorción.

Además de los fenómenos de adsorción-desadsorción, en los sedimentos también se produce la degradación de algunos de estos compuestos. Estos fenómenos de degradación dependerán del tipo de compuesto y de muchos otros factores.

Newland *et al.* (1969) observaron que la degradación del lindano en sedimentos es mucho más eficaz bajo condiciones anaeróbicas y se sabe que es dependiente del número de microorganismos degradadores presentes en los sedimentos (Ohinsa y Yamaguchi, 1979).

Cuando Oloffs *et al.* (1973) examinaron la degradación del lindano en muestras de aguas superficiales encontraron a las 12 semanas una disminución de hasta el 90% de la concentración inicial. Cuando las muestras de sedimentos y agua eran tratados previamente en autoclave, un 95% del lindano aplicado permanecía estable tras el período de 12 semanas.

La importancia de la acción microbiana en la degradación del lindano en el agua también ha sido puesta en relieve por Sharom *et al.* (1980), en un estudio comparativo sobre la degradación del lindano en un canal de drenaje y en agua

destilada. Mientras el compuesto presentaba una vida media de 6 semanas en las aguas naturales, en el agua destilada, o tras esterilizar esas agua naturales, la desaparición del lindano era muy lenta.

-Niveles de OC en sedimentos

Phuong *et al.* (1998) utilizaron los sedimentos de los canales de la ciudad de Chi Minh como indicadores sensibles de la contaminación por OC. En dicho estudio, encontraron niveles medios de 29,1; 27,8 y 23 ng/g peso seco de p,p'-DDE, p,p'-DDD y p,p'-DDT respectivamente.

Botello *et al.* (2000) realizaron un amplio estudio de los niveles de OC en ambientes acuáticos determinándolos en sedimentos, y analizando la bioacumulación en peces y ejemplares de camarón de diversos lagos de la costa subtropical del Océano Pacífico, en Méjico. Encontraron mayores niveles de OC en sedimentos limosos que arenosos. Destacan los niveles de endosulfán tipo B (210 ng/g) encontrados (tiene un elevado K_{ow} , por lo que se une fácilmente a los sedimentos), y de epóxido de heptacloro (113 ng/g). Ambos pesticidas se usan en los cultivos de alrededor. En el camarón (*P. Vannamei*), encuentran niveles de OC de hasta 21 ng/g en exoesqueleto, y niveles no detectables en músculo, mientras que en sus depredadores, el pez dark porgy (*L. novemfasciatus*) encuentran 94 ng/g, posiblemente resultado de bioacumulación.

Xu *et al.* (2000), examinaron OC en sedimentos de cuatro lugares recogidos del río Yangtse. Teniendo en cuenta que los HCHs, seguido del DDT fueron los pesticidas más usados desde 1960 hasta 1980, hasta que en abril de 1983 se prohibieron, los plaguicidas encontrados fueron DDTs (0,21-4,5 ng/g), con un 58% p,p'-DDE, seguidos de los HCHs (0,25-1,41 ng/g).

-OC en las fases bióticas: peces

Los organismos del medio acuático captan los compuestos OC por dos rutas, el agua y la cadena trófica, variando la importancia de cada una en función de su situación dentro de la red trófica dulceacuícola. Para los productores primarios, la única vía de entrada es la incorporación directa desde el agua, bien por mecanismos pasivos de absorción o bien por mecanismos de transporte activo. En nudos superiores de la red trófica (crustáceos, peces), a la absorción branquial, directamente desde el agua, se le añade la incorporación a través de la cadena alimenticia (Lledos *et al.* 1992).

La incorporación de los OC a las fases bióticas está gobernada por mecanismos hidrofóbicos, observándose una correlación positiva, de tipo potencial, entre los Coeficientes de Bioacumulación (K_b) y los Coeficientes de Partición n-octanol/agua (K_{ow}):

$$\text{Log } K_b = \text{log } K_{ow} - 1,32$$

Los coeficientes de partición para los distintos isómeros del HCH quedan reflejados en la siguiente tabla:

Compuesto	log K _{ow}	K _{oc}	log K _{oc}	K _b	log K _b
α-HCH	3,71	1259	3,10	245	2,39
β-HCH	4	2188	3,34	479	2,68
γ-HCH	3,04	347	2,54	52,5	1,72
δ-HCH	2,77	209	2,32	28,2	1,45

Tabla 10. Coeficientes de partición en distintas fases de diferentes isómeros del HCH

De esta forma, pesticidas con coeficientes de bioacumulación mayores, como el caso de β-HCH (K_b = 479) se unirán mejor y más rápidamente a las fases bióticas orgánicas que otros pesticidas, como el lindano con coeficientes de bioacumulación menores (K_b = 52,5).

Para la correcta interpretación de los resultados obtenidos en el análisis de la fase biótica, hay que disponer de información adicional referente al peso, tamaño, edad, sexo y estado de madurez sexual, contenido lipídico y hábitos alimenticios de los organismos objeto de estudio (Lledos *et al.*, 1992)

-Niveles de OC en peces

Los niveles de OC en peces ha sido muy estudiado en varios continentes.

En el continente Americano llevan varias décadas estudiando los niveles de estos pesticidas, como parte de programas de monitorización desde que surgió la alerta de la persistencia y los daños que han ocasionado en el medioambiente.

Eisenberg y Topping (1985) realizaron un estudio de los niveles de OC en tejido muscular de peces de estuario (*Morone saxatilis*, *Anguilla rostrata*, *Sebastes marinus*) durante el periodo de tiempo comprendido entre 1976 y 1980, con el objeto de monitorizar los contaminantes que llegaban a la Bahía de Chesapeake, en Maryland (E.E.U.U).

Los niveles medios quedan reflejados en la siguiente tabla:

Pesticida	1976	1977	1978	1979	1980
α-HCH	Nd	Nd	0,001	0,002	0,002
DDD	0,04	0,02	0,06	0,02	0,03
DDE	0,07	0,06	0,08	0,04	0,07
DDT	0,01	0,004	0,001	Nd	0,001

Tabla 11. Evolución del contenido de OC (ng/g) tejido fresco en peces capturados en ríos de la Bahía de Chesapeake. (Nd= no detectable).

Saiki y Schmitt (1986) encontraron concentraciones de DDT (p,p'-DDD + p,p'-DDE + p,p'-DDT) en *Cyprinus carpio* capturados en el río San Joaquín (California) entre 1,43 y 2,21 mg/kg expresadas en peso fresco.

Devault *et al.* (1986) monitorizaron la contaminación por OC en la trucha lacustre (*Salvelinus namaycush*) de los Grandes Lagos, encontrando que los niveles del Σ DDT disminuían de 19,19 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en 1970 hasta 2,74 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en 1982.

Ford y Hill (1991) estudiaron la biomagnificación de OC a través de una cadena trófica de peces en el Parque Nacional de Yazoo (Mississippi). Como consumidores secundarios se escogió al *Gambusia affinis*, *Cyprinus carpio* e *Ictiobus bubolus*, mientras que como consumidores terciarios se escogió el *Amia calva* y el *Lepisosteus oculatus*. Los niveles de plaguicidas encontrados fueron:

Especie	p,p'-DDT	p,p'-TDE	p,p'-DDE	β -HCH
<i>Gambusia affinis</i>	0,04	0,17	0,52	-
<i>Cyprinus carpio</i>	0,28	1,52	6	0,02
<i>Lepisosteus oculatus</i>	0,63	3,15	8,78	0,01

Tabla 12. Pesticidas encontrados expresados en mg/Kg peso fresco

Con el objetivo de estudiar la bioacumulación de los OC en lagos árticos de Canadá, Kidd *et al.* (1998) realizaron un estudio de niveles de OC en agua y peces del lago Peter (Canadá), encontrando los siguientes niveles en músculo de peces:

Pez	α -HCH	Σ -HCH	p,p'-DDE	Σ -DDT
<i>Salvelinus namaycush</i>	1,72 \pm 3,6	2,16 \pm 4,3	34,9 \pm 96,6	57,9 \pm 148
<i>Salvelinus alpinus</i>	1 \pm 0,46	1,68 \pm 0,8	0,88 \pm 0,64	4,62 \pm 1,71
<i>Prosopium cylindraceum</i>	1,21 \pm 1,53	1,36 \pm 1,62	4,04 \pm 2,8	10,7 \pm 6,65

Tabla 13. Niveles de OC en músculo de peces en lagos árticos de Canadá.

El estudio de la concentración de OC en la lobina de Dolomeu (*Micropterus dolomieu*) del lago Fumee, en la península de Michigan (E.E.U.U), evidenció la presencia de niveles entre 138-210 ng/g tejido fresco de p,p'-DDT para los peces de talla entre 0-20 cm, entre 297-411 ng/g de p,p'-DDT para peces de talla comprendida entre 20-30 cm y de 410-587 ng/g de p,p'-DDT para peces de talla más grandes de 30 cm, lo que supuso, por un lado, que la entrada principal de estos contaminantes fuera la aérea y además, que existió una correlación positiva entre los niveles de p,p'-DDT y el tamaño del pez (Henry *et al.*, 1998).

Eaton y Lydy (2000) detectaron entre 0-22,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tejido fresco de p,p'-DDE y entre 0-1,59 de p,p'-DDT en músculo de la carpa común (*Cyprinus carpio*) capturadas en el río Arkansas, en el estado de Kansas (E.E.U.U).

En el continente africano

Dogheim *et al.* (1990) encontraron que las muestras de tejido muscular de los peces tilapia (*Tilapia noltica*) y pez gato (*Clarus lazero*) capturados en dos comunidades de Egipto estaban contaminadas con niveles relativamente bajos de 15 pesticidas analizados. El total de isómeros del HCH fue de 0,42 y 0,25 ppm y el Σ DDT fue de 0,38 y de 0,40 ppm en las comunidades de Beni-Suef y Fayoum respectivamente.

Abdallah *et al.* (1990) analizaron un centenar de muestras de 34 especies de peces de consumo en Egipto, encontrando un predominio de beta-HCH y del lindano, con unos niveles máximos de 435,30 y 59 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente. Los niveles máximos de p,p'-DDE y p,p'-DDT fueron de 234,40 y de 57,19 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente.

Ahmed e Ismail (1991), tras analizar los residuos de OC en el músculo de la tilapia (*Tilapia zillii*) de un lago próximo al Canal de Suez (Egipto), encontraron que el compuesto dominante en todas las muestras era el beta-HCH, seguido por el p,p'-DDE y p,p'-DDT.

En Sudamérica

Hellou *et al.* (1993) examinaron los niveles de p,p'-DDE, p,p'-DDD y p,p'-DDT en músculo, hígado y ovarios del bacalao. En general, encontraron niveles detectables en músculo, siendo los niveles en ovarios 10 veces inferiores a los encontrados en hígado.

Menone *et al.* (2000) realizaron un amplio estudio de los niveles de OC en varios órganos de el pez pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) capturados de lagos de la costa del Mar Chiquita (Argentina).

Los datos se reflejan en la siguiente tabla:

Pesticida	Hígado	Gónada	Músculo
α -HCH	0,21 \pm 0,34	0,03 \pm 0,09	0,22 \pm 0,25
γ -HCH	2,63 \pm 1,68	2,11 \pm 1,61	3,42 \pm 4,12
δ -HCH	3,01 \pm 3,20	3,22 \pm 4,8	0,5 \pm 0,68
Σ -HCH	5,86 \pm 4,86	5,47 \pm 5,31	4,23 \pm 4,07
Heptacloro	0,12 \pm 0,09	0,14 \pm 0,14	0,06 \pm 0,03
DDE	5,45 \pm 2,12	1,7 \pm 0,8	0,78 \pm 0,15
DDD	1,03 \pm 0,35	0,72 \pm 0,28	0,22 \pm 0,04
DDT	1,47 \pm 1,82	1,32 \pm 1,95	0,68 \pm 0,54
Σ -DDT	7,86 \pm 2,55	3,74 \pm 2,17	1,67 \pm 0,61
Σ -Endosulfan	5,42 \pm 2,15	1,93 \pm 0,8	1,02 \pm 0,27

Tabla 14. Niveles de OC (ng/g tejido fresco) en *Odontesthes bonariensis*

La mayor acumulación de todos los pesticidas se produjo en hígado, después en gónada y por último en músculo de los peces examinados.

En Asia

Shailaja y Singbal (1994) realizaron un estudio de los niveles de DDT y contenidos en músculo de peces de la Bahía de Bengal (India) en la que desembocan ríos que arrastran contaminantes de zonas agrícolas y zonas de control de malaria. Los niveles medios fueron de 0,94; 1,15; 0,33 y 2,43 ng/g de tejido fresco de DDE, DDD, DDT y Σ -DDT respectivamente para el pez *Upeneus spp* y de 3,93; 3,88; 11,92 y 19,9 ng/g de DDE, DDD, DDT y Σ -DDT para el pez *Nemipterus japonicus*. En todo caso, la concentración de DDT superó la de sus metabolitos, por lo que los autores concluyeron que se trataba de exposiciones recientes a los pesticidas.

Según Hamilton (1989) los niveles encontrados en varias especies de peces del mar de Arabia (India) no alcanzan los 5 μ g/g aceptados como peligrosos para la salud humana, según la FDA (1978).

Así, la concentración (ng/g) de OC en tejido muscular de las diferentes especies se encuentra reflejado en la siguiente tabla:

Pez	p,p'-DDE	p,p'-DDD	Σ DDT
<i>Sardinella longiceps</i>	19,7 \pm 1,5	Nd	19,7
<i>Apolectus Níger</i>	Nd	Nd	Nd
<i>Sardinella fimbriata</i>	30,5 \pm 5,1	23,9 \pm 4,9	54,3
<i>Pampus argenteus</i>	8,1 \pm 14	Nd	8,1
<i>Tylosurus spp</i>	41,4 \pm 12,5	Nd	41,4
<i>Coryphaena hippurus</i>	31,9 \pm 5,8	Nd	32
<i>Loligo spp</i>	Nd	Nd	Nd

Tabla 15. Niveles de DDT y metabolitos en peces del mar de Arabia (Nd=no detectado).

En Europa

Eichner (1973), determinó la concentración de varios OC en músculo de varias especies de peces (bagre blanco, *Ameiurus catus*; la perca, *Perca flaccescens* y la anguila, *Anguilla anguilla*) recogidos en el lago Constance, y de algunos afluentes del río Rin (Alemania). Los peces recogidos en el lago Constance contenían 0,02-0,52 μ g/g de Σ HCH, 0,01-0,12 μ g/g de aldrín, 0,04-0,21 μ g/g de endosulfan, 0,06-0,59 μ g/g de Σ DDT. La concentración en músculo del pez rutilo (*Rutilus rutilus*) y la trucha (*Salmo gairdneri*) capturados en los afluentes del Rin fue de 0,03-0,32 μ g/g de Σ HCH, 0,01-0,09 μ g/g de aldrín, 0,02-0,30 μ g/g de endosulfan, 0,03-0,48 μ g/g de Σ DDT.

Särkka *et al.* (1978) encontraron un contenido medio del Σ DDT (DDE+DDD+DDT) en peces del lago Päijänne (Finlandia) de 7-42 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Existían claras diferencias entre las distintas especies y su contenido en el Σ DDT, siendo éste superior en el pez coregano. El principal residuo del DDT era el DDE, pero en el pez coregano era mayor la proporción de DDT.

La concentración media de Σ DDT varió entre 11,9 y 22,3 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ en el salmonete (*Mullus barbatus*) en varios puntos de la costa griega. Los niveles de Σ HCH fueron mucho menores, variando entre 1 y 2,2 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ peso fresco (Giouranovits-Psyllidou *et al.*, 1994).

Brevik *et al.* (1996) analizaron los niveles de Σ DDT y lindano en tejido muscular de la perca (*Perca fluviatilis*) y lucio (*Esox lucius*) del lago Orsjoen (Noruega). Los niveles de Σ DDT fueron de 1,15 ng/g en la perca y 7,3 ng/g en el lucio, mientras que la concentración de lindano fue de 0,009 ng/g en ambos peces.

En Italia, Amodio-Cocchieri y Arnese (1988) analizaron el contenido de varios OC en tejido muscular de varios peces de diferentes ríos del sur de Italia. La carpa común (*Cyprinus carpio*) y la Tenca (*Tinca tinca*) fueron los que menos acumularon residuos de OC, como se puede observar en la siguiente tabla:

Pez	Σ DDT	Lindano	Endosulfan	Heptacloro
Carpa	18-51	Nd-6	Nd-5	Nd-5
Tenca	17-42	Nd-8	Nd-5	Nd-5
Anguila	84-136	5-16	Nd	Nd-5
Pez gato	50-113	5-13	Nd	Nd-20

Tabla 16. Niveles de OC (ng/g de peso fresco) en peces de ríos del sur de Italia.

Klavins *et al* (1998) analizaron la concentración de pesticidas (DDT y α -HCH) en músculo de la perca (*Perca fluviatilis*) y el lucio (*Esox lucius*) capturados en varios lagos de Latvia. Como era de esperar, la concentración de DDT fue mayor que la de α -HCH, cuyas concentraciones medias oscilaron entre 0,96-12,24 ng/g para el DDT y entre 0,008-0,031 ng/g para el α -HCH.

En España

Baluja *et al.* (1977) realizaron un amplio estudio de la contaminación de OC en especies faunísticas del litoral sur y sudeste español. Resultado de dicho estudio, en la siguiente tabla se detallan los niveles de los OC encontrados.

Golfo Cádiz, mayo de 1972						
Muestra	α -HCH	γ -HCH	Heptacloro	p,p'-DDE	p,p'-DDD	p,p'-DDT
Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)	0,004	0,007	0,018	0,025	0,052	0,035
Golfo de Cádiz, marzo de 1973						
Muestra	α -HCH	γ -HCH	Heptacloro	p,p'-DDE	p,p'-DDD	p,p'-DDT
Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)	0,003	0,008	0,001	0,054	0,027	0,082
Málaga, marzo de 1973						
Muestra	α -HCH	γ -HCH	Heptacloro	p,p'-DDE	p,p'-DDD	p,p'-DDT
Chanquete (<i>Aphia minuta</i>)	0,001	0,003	0,001	0,008	0,005	0,027
Boquerón (<i>Engraulis ncrasicholus</i>)	0,006	0,01	0,002	0,113	0,078	0,205
Almería, marzo de 1973						
Muestra	α -HCH	γ -HCH	Heptacloro	p,p'-DDE	p,p'-DDD	p,p'-DDT
Chanquete (<i>Aphia minuta</i>)	0,002	0,007	-	0,008	-	0,036
Cartagena, marzo de 1973						
Muestra	α -HCH	γ -HCH	Heptacloro	p,p'-DDE	p,p'-DDD	p,p'-DDT
Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)	0,003	0,007	-	0,162	0,026	0,051

Tabla 17. Niveles de OC (ppm) en peces del litoral sur y sudeste español.

Los derivados del DDT son los que se presentan en mayor concentración, seguido de los HCHs. Los autores concluyen que ninguno de los contaminantes detectados, individualmente considerados, se encuentra en cantidades que puedan dar lugar a alteraciones graves de la fertilidad de estas especies y que los niveles encontrados en peces son menores que los niveles de ingestión máxima diaria para el hombre.

Fernández *et al.* (1984) determinaron los niveles de OC en diversas especies de peces capturados en el Parque Nacional de Doñana. El estudio llevado a cabo en el año 1980, mostraron niveles de Σ DDT en anguila de 0,128 y 0,391 mg/Kg en dos localizaciones distintas y en la carpa común fueron de 0,066 y 0,130 mg/Kg.

Carrasco *et al.* (1972) investigaron las pautas de la acumulación de los OC en tejido muscular, ovarios e hígados de peces de la Albufera de Valencia (España). Se encontró que hígado y ovarios eran compartimentos que acumulaban mayores

niveles de residuos que el tejido muscular, como se pone de manifiesto en la siguiente tabla:

Especie	Tejido	HCH total (µg/Kg)	DDT total (µg/kg)
<i>Cyprinus carpio</i>	Músculo	16,9	6,6
	Ovario	21,2	25,3
	Hígado	53	57
<i>Micropterus salmoides</i>	Músculo	11,8	15,7
	Ovario	<2	<2
	Hígado	8,1	24,2

Tabla 18. Niveles de OC en órganos de peces de la Albufera de Valencia

Las especies consideradas en este estudio fueron: carpa (*Cyprinus carpio*), lisa (*Mugil cephalus*), black bass (*Micropterus salmoides*), lubina (*Morone labrax*) y anguila (*Anguilla anguilla*). La especie que acumula mayores niveles de OC era la anguila, en la que se encontraron hasta 83 µg/kg de HCHs ($\alpha+\gamma$) y 304 µg/kg del Σ DDT (p,p-DDE' + p,p'-DDD + p,p'-DDT). La especie que acumuló menores niveles fue la carpa, con unos niveles máximos de HCHs de 3,6 µg/kg y del Σ DDT de 55,4 µg/kg (Carrasco *et al.*, 1972).

Baluja *et al.* (1973) determinaron la acumulación del DDT y sus metabolitos en distintos compartimentos de la mielga (*Squalus acanthias* y *S. blainwillei*) en zonas costeras del Mediterráneo y Atlántico (España). Los mayores niveles correspondieron en todos los casos al hígado:

Costa	Tejido	p,p'-DDT	p,p'-TDE	p,p'-DDE
Mediterráneo	Músculo	0,3	0,35	0,32
	Hígado	4,8	1,9	3,66
	Riñón	0,1	0,08	0,07
Atlántico	Músculo	<0,05-0,05	0,01	0,0-0,005
	Hígado	1,15	0,34	0,8
	Riñón	0,17	0,03	0,03
	Huevo	1,09		
	Embrión	0,25		

Tabla 19. Valores medios en mg/Kg de pesticidas en peces de la costa del Mediterráneo y Atlántico.

Estos autores, también determinaron los niveles de OC en sardinias (*Sardina pilchardus*), aparte de la mielga (*Squalus acanthias* y *S. blainwillei*), en zonas costeras del Mediterráneo y Atlántico (España), durante los años 1968-1970:

Lugar	Especie	Total DDT	HCHs (alfa+lindano)
Mediterráneo	Sardina	0,011-0,48	0,009-0,027
	mielga	0,76-1,01	nd-0,01
Atlántico	Sardina	<0,005-0,084	0,004-0,029
	mielga	nd-0,095	0,005-0,009

Tabla 20. Pesticidas encontrados expresados en mg/Kg peso fresco.

Resultado de un estudio realizado por Fernández y Franco (1979) en peces capturados en las costas gallegas fue que los niveles de Σ DDT en el músculo del jurel (*Trachurus trachurus*) estuvieron comprendidos entre 12,7-141,6 ng/g, mientras que la bacaladilla (*Micromesistius poutassous*) contenía niveles entre nd-450 ng/g.

López *et al.* (1995) analizaron muestras de pez (*Cyprinus carpio*, *Ictalurus melas*, *Micropterus salmoides*, *Salmo trutta*, *Anguilla anguilla*, *Gobio gobio*) en diversos ríos de Cataluña. Estos autores encontraron niveles de 0,021 (0-0,171) mg/Kg del Σ HCHs, de 0,081(0,003-1) mg/Kg de Σ DDT y de 0,046 (0-1,11) mg/Kg de epóxido de heptacloro. En el 100% de los especímenes se detectó p,p'-DDE, y el lindano fue el más abundante de los derivados del HCH, con una concentración media de 0,017 (0-0,168) mg/Kg.

Un estudio realizado por Sahagun *et al.* (1998) de los niveles de nueve OC en músculo de trucha arco iris (*Salmo gairdneri*) recogidas en cuatro piscifactorías de la provincia de León desveló que el lindano era el pesticida más frecuente en el músculo (67,5%), seguido de epóxido de heptacloro (55%), este último encontrado en mayor concentración (43 ng/g).

Guitart *et al.* (2001), midieron la contaminación por OC en peces (trucha de lago, piscardo y anguila) de dos ríos de Cantabria (Asón y Nansa). Se hallaron varios pesticidas, pero en concentraciones muy bajas, siendo el p,p'-DDE el compuesto que se halló en mayor concentración (25,08 ng/g peso seco), no existiendo diferencias significativas entre los valores encontrados entre especies ni en la concentración de pesticidas entre los dos ríos.

-Legislación española sobre niveles de OC permitidos en peces

Respecto a la protección de los consumidores, no existe una norma legal en el ordenamiento jurídico español ni en el ámbito comunitario que establezca unos límites máximos de contenido de compuestos OC en productos pesqueros.

Sin embargo, algunos países como la Alemania, Italia y E.E.U.U sí que recogen en su legislación estos límites, que expresados en mg/kg peso fresco son (Richou-Bac y Venant, 1985; Venant *et al.*, 1989):

	RFA	ITALIA	E.E.U.U
DDT + DDE + DDD	-	0,1	5
LINDANO	2	0,1	0,3
HCH (alfa + beta)	0,5	0,1	-

Tabla 21. Límites de OC en legislación de varios países

No existe norma FAO/OMS sobre el contenido máximo de compuestos OC en pescado, pero sí un límite de OC propuestos por la FAO en peces de consumo humano (Dogheim *et al.* (1990):

Compuesto	rango (ppm)
Isómeros HCH ($\alpha + \beta + \gamma$)	0,2-05
Lindano	0,5
Total DDT (DDT, DDD, DDE)	2-5
Heptacloro	0,01-0,3

2.7.- FACTORES QUE INFLUYEN EN LOS NIVELES DE RESIDUOS DE OC

Tipo de compuesto

En realidad, el tipo de compuesto influye en los niveles de residuos encontrados en la naturaleza. El metoxicloro, de estructura parecida al DDT, es mucho menos persistente, como así lo demuestra un estudio realizado por Fredeen *et al.* (1975), en el que prueba que 17 semanas después de la aplicación de metoxicloro para control de larva de mosca negra en el río Saskatchewan, no se hallaron residuos en peces.

En general, en muestras medioambientales el DDE es el componente predominante del Σ DDT. En un modelo de ecosistema, el DDT se degrada la mayoría a DDE y poco a DDD.

En muestras de peces del río Po en Italia, el p,p'-DDE fue el mayor componente y el p,p'-DDT no se detectó. Del total del DDT estudiado en los huevos de trucha, progenie y alimento de los peces, la concentración del DDE era dos veces la de otros dos compuestos combinados (Cuerrier *et al.*, 1967).

En peces del este de Canadá, el p,p'-DDE y el p,p'-DDT juntos sumaron del 80 al 95% del total de DDT, siendo el primero el principal componente (Zitko, 1971). El DDE fue el mayor componente del total DDT en peces del río Smoky Hill en el oeste de Kansas (Klaassen y Kadoum, 1973) y en los peces del norte del Atlántico (Anon, 1978).

Un elevado porcentaje de p,p'-DDT indica que el animal ha estado expuesto al compuesto en un pasado reciente, o la contaminación es de origen reciente.

Raramente, el DDD es el mayor componente del DDT. En general parece que bajo condiciones normales, el p,p'-DDD constituye un componente minoritario del total DDT excepto cuando el pez ingiere DDD directamente de los sedimentos. El DDD se ha visto que se produce como resultado de cambios post-mortem, incluso cuando el tejido se conserva a -14°C o almacenado en formalina (French y Jefferies, 1971). Evidentemente, cuando el pez tiene suficiente tiempo para metabolizar el producto, el DDD es un producto final.

Rango de valores

Moriarty (1972) señaló que la mayor fuente de variación de los valores se observa entre muestras de individuos: "*La distribución de los valores de contaminantes no es normal alrededor de la media, pero sí lo es sesgada, con larga colas hacia el extremo superior del rango de valores*". El rango encontrado entre la concentración máxima y mínima es con frecuencia del orden de 2 magnitudes. Como resultado, unos pocos individuos pueden llevar grandes cantidades y, por lo tanto, estar mucho más afectados por los contaminantes, mientras que otros pueden llevar cargas de contaminantes muy inferiores.

Otra característica de tal distribución es que, a pesar de que se hace gran esfuerzo al recoger muestras de forma aleatoria, la muestra puede consistir en las más afectadas o las menos afectadas de la población. Incluso si las muestras se recogen al mismo tiempo del año, con especímenes de la misma talla, peso y sexo, conlleva desviaciones estándar del 30-40% de la media.

En una comparación interlaboratorial de métodos de determinación de OC, el coeficiente de variación de los resultados se situaron entre el 33 y el 71 %. Holden (1981) enfatizó que existen grandes variaciones a la hora de medir niveles de residuos de diferentes miembros de la misma población recogidos al mismo tiempo y los datos de tales muestras regían cierto sesgo más que una distribución normal, por lo que la homogeneización de alícuotas de un mismo individuo y realizar análisis simplificados podría no dar una buena pista de los niveles.

Holden (1970) concluyó que el número de análisis individuales debe ser consecuentemente grande si queremos estimar el nivel de contaminación. El tamaño de la muestra poblacional debería ser elevada si existen pequeños cambios en el nivel de contaminación; al menos 50 individuos serían requeridos para detectar un 25% de diferencia de medias cuando existen pequeñas variaciones de niveles de contaminantes.

En un estudio del total de los residuos del DDT en 7 especímenes del pez alfiler (*Lagodon rhomboides*), el rango de valores varió desde 0,5 a 13 mg/Kg, por lo que los autores concluyeron que una muestra de al menos 10 especímenes sería requerido para obtener muestras representativas (Hansen y Wilson, 1970).

Tamaño y edad del pez frente a concentración de residuos

El efecto del tamaño del pez en la ingestión de residuos se ha visto por numerosos autores.

En la naturaleza, la concentración de DDT y el dieldrín se incrementó con la edad en la trucha y en el pez ojizarco (Walleye) en los Grandes Lagos. A medida que el pez crece, la cantidad total y el porcentaje de grasa corporal se incrementó, por lo que los peces fueron capaces de almacenar más pesticida (Reinert, 1970).

La concentración del DDT en la trucha de los Grandes Lagos se incrementó con la longitud (por tanto con la edad); en el grupo de 50 a 150 mm largo, el DDT era de 1,3 mg/Kg, mientras que aquéllos que medían 558-684 mm, la concentración de DDT era de 18,1 mg/Kg (Reinert y Bergman, 1974).

De acuerdo con Monod y Keck (1982) la influencia de la edad es más importante en el macho que en las hembras de varias especies, aunque esto es controvertido.

Los niveles del Σ DDT fueron de 1 mg/Kg en truchas de 1 año y de 14 mg/Kg en truchas de 12 años. En el grupo de edad estudiado (de 5 a 8 años), la trucha hembra tenía mayores residuos que los machos (Youngs *et al.*, 1972).

Contrario a los estudios presentados, sobre correlación positiva entre edad y concentración de residuos en varios peces, Kellogg y Bulkley (1976) encontraron que la concentración de dieldrín en peces gato más grandes no siempre eran mayores que en ejemplares más pequeños.

En un estudio experimental sobre acumulación en trucha expuesta a DDT a través del agua o de la comida, no se observó correlación entre la carga de residuo y el sexo o tamaño del pez (Allison *et al.*, 1963).

Bulkley (1978) cuestionó la asunción de que peces con mayor cantidad de grasa, mayores de edad o más grandes contengan mayores concentraciones de residuo que los más jóvenes o más delgados. No encontró diferencias en los niveles de OC en el pez coregono blanco (*Coregonus albula*) de entre 3 y 9 años recogidos en el lago Mjosa, en Noruega.

Giam *et al.* (1974) no hallaron correlación entre el tamaño y el nivel de residuos en regiones con bajas niveles de polución, pero sí establecieron correlaciones positivas en áreas donde los niveles de contaminantes eran elevados.

Una posible razón para esta controversia puede ser el modo en que los niveles de residuos se expresan. Normalmente se expresan en base al peso de tejido fresco (a veces del peso del cuerpo entero) o en base al peso o cantidad de lípido extraíble.

Anderson y Fenderson (1970) recomiendan que debería renunciarse a una elección completamente aleatoria de las muestras y que estas se debieran agrupar de acuerdo a la edad y condición de grasa del pez.

De forma similar, Bulkley *et al.* (1976) consideraron que el contenido en lípidos y la tasa metabólica pueden ser otros factores importantes que influyan.

Relación entre contenido lipídico y carga de residuos

Los compuestos OC poseen una especial afinidad por las sustancias de carácter lipofílico. Al ingresar en el organismo del pez, los OC se distribuyen por los diferentes tejidos, pero la acumulación mayor se produce en tejidos con alto contenido en grasa, como es el tejido adiposo, gónadas, cerebro, hígado y músculo.

Aunque algunos investigadores sugieren que existe una relación directa entre el contenido lipídico y la concentración de residuos, otros no encuentran tales correlaciones.

En general, se encuentran mayores concentraciones del total de DDT en animales con mayor contenido en grasa, pero los residuos en todo el organismo o en músculo no se correlacionaron con el contenido lipídico (Hargrave y Phillips, 1976). Kleinert *et al.* (1968) demostraron que la relación entre los niveles de DDT y el porcentaje de grasa no se correlacionó bien en peces capturados en Wisconsin. Bulkley (1978) concluyó que peces con elevado contenido en grasa (11%) contenían menos DDT en el músculo que aquellos que tenían menos del 1% de grasa en músculo.

Keck y Raffenot (1979) tampoco encontraron una relación directa entre el contenido de lípidos y la concentración de OC y demostraron que en el salmón, la cantidad de lípidos se correlacionó negativamente con la cantidad de PCBs y DDE (Smith *et al.*, 1975).

Phillips (1978) recomendaba la expresión de la concentración de residuos OC tanto en base a peso de tejido fresco como en base del peso de lípidos, lo que puede ayudar a reducir la variabilidad entre muestras. Y como fue enfatizado por Hamelink y Spacie (1977), las correlaciones entre residuos OC-lípidos no necesariamente conllevan una relación causa-efecto.

Influencia de la estación o época del año

La variación estacional en la concentración de OC está relacionada con la estación de aplicación en la tierra y el transporte a ambientes acuáticos, así como la condición del pez, grado de alimentación y estado de la reproducción.

El salmón en el Lago Michigan acumuló la máxima concentración de DDT entre junio y agosto precediendo la época de freza (Reinert y Bergman, 1974).

La concentración de pesticidas en agua y la vida del río Lost en California llegó a su máximo en el verano (Godsil y Johnson, 1968). El DDT y los niveles de PCB en el rutilo (*Rutilus rutilus*) y la perca tomados de puntos de descarga de una planta nuclear se correlacionaron con la temperatura del agua y eran sustancialmente mayores en primavera y principios de verano y estables al final del verano y otoño (Edgren *et al.*, 1981).

En el lago Oliver, los niveles del total de DDT encontrado en peces decrecieron del final del verano al otoño y se incrementaron en primavera y los mayores valores coincidieron con el período de máxima carga de agua, coincidiendo con la primavera (Vanderford y Hamelink, 1977).

Sí se han visto cambios significativos en los residuos de OC en diferentes estaciones cuando la concentración se expresa en base al peso tejido fresco y desaparecen cuando se expresan en relación al porcentaje de grasa (Boileau *et al.*, 1979).

Influencia del nivel trófico

Algunos autores han observado que los hábitos tróficos de las especies condicionan los niveles de compuestos OC en ellas presentes.

Fernández *et al.* (1984) determinaron los niveles de OC en diversas especies de peces capturados en el Parque Nacional de Doñana (España). Estos autores constataron que especies ictiófagas, como las anguilas (*Anguilla anguilla*) presentan niveles superiores de Σ DDT que los omnívoros con un importante componente vegetal en la dieta, caso de las carpas (*Cyprinus carpio*). Así, en el estudio llevado a cabo durante 1980, los niveles del total DDT encontrados en anguilas en dos localizaciones distintas fueron de 0,128 y 0,391 mg/kg, frente a los 0,066 y 0,130 mg/kg presentados por las carpas.

Sackmauerová *et al.* (1977) determinaron los isómeros del HCH, DDE y DDT en dos grupos de peces que viven en el Danubio (Checoslovaquia), durante el periodo 1971-1974. Los grupos muestreados fueron: fitófagos (*Cyprinus carpio*, *Abramis ballerus* y *Chondrostoma nasus*) e ictiófagos (*Esox lucius*, *Lepomis gibbosus*, *Aspius aspius* y *Perca fluviatilis*). Los contenidos medios de gamma-HCH, beta-HCH, DDE y DDT en los peces fitófagos fueron menores que en peces ictiófagos. Los niveles de DDE en los ictiófagos eran unas 10 veces superiores a los presentados por los fitófagos. Estos niveles presentes en los peces eran unas 1.000-10.000 veces superiores a los presentes en las aguas donde fueron capturados.

Pero otros autores opinan que el nivel trófico parece influir más bien poco. La biomagnificación no es muy evidente en pequeñas especies que ocupan los niveles tróficos altos. Aunque el ciprínido *Varichorhinus spp* pertenece a un nivel trófico más bajo que el *Salmo spp*, ambos tenían la misma cantidad del total de DDT (Södergren *et al.*, 1978). Por lo tanto, la carga parece estar más influida por otros factores como contenido lipídico, tamaño y condición corporal o estado reproductivo, que por su mera posición en la pirámide trófica.

Influencia del estado reproductivo

Cuando el acúmulo de lípidos se agota, la proteína es utilizada como fuente secundaria de energía. El agotamiento de los lípidos o de la masa proteica generalmente provoca el aumento correspondiente del contenido en agua en los tejidos del pez. Sin embargo, durante requerimientos energéticos extremos, como cuando el salmón en desove moviliza la mayor parte de sus lípidos almacenados para la producción de gametos y cesa de alimentarse, la masa muscular perdida no puede ser compensada por la hidratación de tejidos y pueden aparecer pérdidas significativas en el peso corporal (Weatherly y Gill, 1987). Es posible, por tanto, que se pierda la suficiente masa corporal como para que se produzca una concentración relativa de los residuos OC en el salmón durante la época de freza.

En la hembra de los peces suele ocurrir lo contrario. Debido a el aumento del tamaño de las gónadas, al que se añade su carácter lipofílico, los OC que en este estado fisiológico se introducen en el organismo, suelen acumularse en una mayor proporción. Sin embargo, el desove, como procedimiento natural ayuda a la eliminación de estos residuos de OC.

Larsson *et al.* (1993) examinaron los niveles del total de DDT y lindano en la población de lucios de un lago eutrófico de Escandinavia. Para hembras, la concentración de pesticidas disminuía linealmente con la edad, peso o longitud. Esta disminución se ha explicado por la eliminación estacional de residuos lipofílicos con la puesta. Los machos contenían mayores niveles de pesticidas que las hembras, probablemente debido a la menor eliminación de residuos vía gonadal, puesto que los tejidos germinales en los machos constituyen sólo un 2% del peso corporal y poseen un menor contenido graso que los ovarios. Los tejidos germinales de las hembras pueden constituir más de un 15% del peso corporal. No se ha encontrado en lucios un depósito de grasa mayor que los tejidos germinales, presentando esta especie un tejido muscular poco graso.

2.8.- DISTRIBUCIÓN DE LOS RESIDUOS EN DIFERENTES TEJIDOS DEL CUERPO O TOXICOCINETICA DE LOS OC

Introducción

La distribución de los residuos en diferentes partes del pez es de especial interés humano. Normalmente sólo las partes musculares se consumen, por lo que son las más analizadas. Por otro lado, los peces carnívoros o las aves no discriminan entre las partes comestibles o no comestibles y, por lo tanto, los residuos de todo el animal importan en estudios de contaminación. No obstante, las mayores cantidades de residuos radican normalmente en las partes comestibles de los organismos.

Entre los diferentes órganos, el hígado y músculo son los que se analizan con mayor frecuencia. La proporción relativa de metabolitos del DDT es más o menos la misma en ambos órganos. Otros autores sugieren que la concentración de residuos en músculo es mayor que en hígado (Delfino, 1979; Elzorgani *et al.*, 1979) y también hay quien afirma lo contrario (Butler y Schutzmann, 1979; Anon, 1978).

Ingestión, Distribución, Metabolismo y Eliminación de los OC

-Ingestión y absorción de OC

De forma genérica, la ingestión de los OC ocurre por vía digestiva y la absorción a través de las branquias. También se ha admitido la absorción a través de piel, pero ésta ocurre de forma mucho menos importante.

Norstrom *et al.* (1976) propusieron un modelo para la ingestión de tóxicos teniendo en cuenta la bioenergética del pez y la biocinética del tóxico, por lo que la contribución del metabolismo de crecimiento y estacional se tienen en cuenta.

La ingestión de tóxicos de la comida se basa en requerimientos calóricos de la respiración y crecimiento, pero también depende de la concentración del tóxico en la comida y la eficiencia de la asimilación. De forma similar, la absorción a través del agua se basa en la ventilación de las branquias y depende, también, de la concentración del tóxico en agua y de la eficiencia de la asimilación a través de las branquias.

El DDT es uno de los OC sobre el que más estudios se han realizado, por lo que merece especial mención estudiar sus modelos de ingestión y los factores que afectan.

Eberhardt (1975) intentó explicar un modelo que se ajustara a la cinética de la ingestión y retención del DDT y dieldrín usando datos publicados por otros autores. Encontró que la relación lineal logarítmica se adecuaba bien para describir la relación entre ingestión y retención del pesticida frente al tamaño del

pez, concluyendo que los experimentos de ingestión y retención con pequeños peces de talla dan resultados muy diferentes que los que utilizan peces mayores - que son los esperados en la comercialización para el consumo humano-.

Aparte de la hidrofobicidad o lipofilia y la solubilidad de un compuesto (que depende de la estructura molecular), el contenido lipídico, edad, tamaño, sexo y actividad fisiológica del pez y los factores medioambientales como la temperatura influyen en el grado de ingestión de un compuesto xenobiótico. Por ejemplo, la ingestión del DDT fue mayor a mayores temperatura (Murphy y Murphy, 1971).

El porcentaje de ingestión está inversamente relacionado con la concentración de exposición. De la misma forma, el porcentaje de retención decrece al incrementarse la cantidad administrada, atribuible al proceso de eliminación (Ernst y Goerke, 1974).

-Distribución de OC

El metabolismo de los OC se ha estudiado poco, pero de forma genérica se sabe que los OC, a causa de su gran afinidad por los lípidos, se absorben rápidamente del agua o comida, se metabolizan lentamente y se almacenan por largos períodos de tiempo. Así, Dvorchik y Maren (1972) identificaron 3 compartimentos en la eliminación del ^{14}C -DDT del plasma de peces: filtración del plasma, distribución a tejidos de elevada irrigación y redistribución a tejidos ricos en grasa.

Como consecuencia de los efectos nocivos que ha provocado el DDT, este pesticida sí ha sido más estudiado que otros. Así, el ^{14}C -DDT añadido al torrente circulatorio de trucha arco iris se distribuyó rápidamente entre las lipoproteínas séricas; la asociación de los residuos con el suero o glóbulos rojos ya había sido observado por otros autores (Olson *et al.*, 1973).

El DDT, después de una inyección intravenosa a rayas, fue rápidamente filtrado del plasma a los tejidos de elevada irrigación sanguínea y posteriormente a tejidos ricos en grasa (Darrow y Addison, 1973).

El patrón de distribución del DDT acumulado en peces era independiente de las dosis; el cerebro, hígado y tracto gastrointestinal fueron los órganos que más cantidad de DDT acumularon, mientras que el músculo esquelético el que menos (Ernst y Goerke, 1974).

Una imagen similar emergió de la ingestión de HCH por truchas jóvenes. Después de la exposición a lindano, inicialmente el músculo tenía la mayor concentración de residuo a las 48 h, pero fue seguido por un descenso en la concentración en músculo y después un gradual incremento con el tiempo (Tooby y Durbin, 1975). Evidentemente, el lindano entró en el músculo rápidamente, alcanzando un pico a las 48 h., y después de una redistribución de residuos a otros tejidos se advirtió un descenso de los niveles en músculo.

La estructura química de los lípidos de un organismo parece afectar a los coeficientes de partición. Grzenda *et al.* (1970) encontraron que cuando el carpín (*Carassius auratus*) era expuesto a ^{14}C -DDT, no existía correlación entre el contenido total de lípidos en los tejidos de diversos órganos y las concentraciones de residuos. Esto parece indicar que los pesticidas no sólo se acumulan en los depósitos grasos. También podría significar que el DDT presenta distintas solubilidades en los diferentes tipos de lípidos.

Kawai *et al.* (1988) citan que los OC no polares se asocian con la fracción de triglicéridos del extracto lipídico en delfines (*Stenella coeruleoalba*), estando más disponibles en la movilización de las reservas energéticas; sin embargo, encontraron también que los OC más polares, tales como el lindano, tienden a acumularse en tejidos como el cerebro, el cual contiene concentraciones proporcionalmente elevadas de fosfolípidos, lo que confirma lo ya encontrado en otros cetáceos (Tabane *et al.*, 1981).

En su clásico estudio del DDT en la trucha lacustre, Burdick *et al.* (1964) sugirieron que la mortalidad precoz observada en el momento de absorberse el saco vitelino era debida a la movilización del DDT contenido en los triglicéridos, cuando éstos eran utilizados como fuente de energía por las larvas.

En especies como la trucha o el salmón, una proporción significativa del acúmulo somático de lípidos y de los compuestos lipofílicos asociados son movilizados durante la producción de gametos, reduciéndose las concentraciones de OC en los tejidos somáticos (Niimi, 1983).

Las pérdidas de p,p'-DDE en salmón resultante de la eliminación de huevos durante la puesta se encuentran entre un 28-39%. En peces fuera de la época de puesta, el porcentaje medio de lípidos orgánicos es del $7,2 \pm 3,2\%$, mientras que en peces en época de freza es de $2,1 \pm 0,1\%$ (Miller, 1994).

Atchison (1976) encontró evidencias de que los lípidos son el principal sitio de acumulación de OC en huevos de salmónidos, sugiriendo que una pequeña cantidad permanece en el corion tras la eclosión de la larva con el saco vitelino.

Otro punto de vista sobre la distribución de OC nos la proporcionó Zabik *et al.* (1978), quienes demostraron que trozos fileteados de cabeza de pescado, que suelen tener más parte lipídica, tenían mayor concentración de pesticidas OC, pero cuando la concentración se expresaba en base a la cantidad de grasa, la diferencia de concentración en cabeza o músculo no fue muy marcada.

-Metabolismo

Generalmente, los pesticidas OC se metabolizan lentamente, algunos más que otros. El metabolismo más estudiado, probablemente sea el del DDT.

El metabolismo del DDT en peces tiene lugar generalmente por dehidrocloración a DDE; la dechlorinación reductiva a DDD también puede tener lugar en algunas especies, pero en menor extensión (Uchida *et al.*, 1988). Existen también evidencias que sugieren que la microflora intestinal de algunos peces pueden metabolizar DDT a DDD (Wedemeyer, 1968).

De acuerdo con Uchida *et al.* (1988), la carpa común (*Cyprinus carpio*) metaboliza DDT a DDE, pero no a DDD, y la tilapia (*Oreochromis niloticus*) metaboliza con dificultad el DDT. La conversión de p,p'-DDT a p,p'-DDE en peces ha sido demostrado por Wolfe *et al.* (1977).

La conversión del DDT a DDE en general es lenta pero algunas especies parecen ser capaces de metabolizar el DDT más rápido. El salmón del Atlántico convierte el DDT en DDE mucho más rápido que la trucha de lago. Asumiendo cinética de primer orden para el proceso, Addison *et al.* (1975) estimaron que la vida media del DDT en el salmón y de la trucha de lago fue de 60 días, y de 255-408 días respectivamente. Esta diferencia puede ser resultado de una diferencia en el tamaño (el salmón del Atlántico fue mucho menor que la trucha empleada) o puede reflejar las diferencias en la habilidad de 2 especies para metabolizar el DDT.

En conclusión, una gran parte del DDT absorbido se deposita en forma de p,p'-DDT (<50%), seguido del DDE y DDD, por este orden.

El informe de Greer y Paim (1968) mostró que el DDT absorbido fue convertido a DDE y DDD dentro de las 9 h después de la exposición del salmón a soluciones acuosas del DDT, contrario a otros autores que vieron que las carpitas cabezonas (*Pimephales promelas*) expuestas a DDT tenían bajas concentraciones de DDE y nada de DDD en el cuerpo entero después de 2 semanas de exposición, pero después de 266 días de exposición la concentración de DDE era casi 9 veces la de DDT y la concentración de DDD era un tercio la del DDT (Jarvinen *et al.*, 1977).

Después de una inyección intravenosa de DDT radiactivo y sus posibles productos de degradación -DDE, DDD, DDMS, DDNU, DDMU, DDOH, DBP, DBH, y DDA- la mayoría de los compuestos menos polares eran retenidos por la trucha incluso 3 semanas más tarde (Addison y Willis, 1978). El p,p'-DDT se convirtió al DDE y en menor grado a DDD; este último es limitadamente metabolizado a DDMU que no se excreta. El DDMS se convirtió rápidamente (en menos de 24 h) a DDNU y excretado; sin embargo, el DDMS no es el producto final metabólico de cualquier compuesto en los tejidos. En el pez, parece que el DDT se convierte a DDE, o a DDD, y luego a DDMU. Tanto DDE y DDMU (o incluso DDD) parecen ser productos finales de un proceso metabólico que no se degrada o elimina, cosa que no ocurre en mamíferos.

Todos estos estudios indican que el DDT, DDE o el DDD absorbidos desde el agua por los peces, son pobremente metabolizados y que el DDT se convierte en

su mayoría en DDE, lo que explica las elevadas cantidades de DDE que se encuentran en las poblaciones de peces naturales, especialmente en peces de edad avanzada (Murty, 2000).

La habilidad de la microflora intestinal para degradar el DDT a DDD más que a DDE también se ha estudiado (Wedemayer, 1968).

De los OC estudiados, el endosulfán se metaboliza pobremente y la mayoría se convierte a sulfato de endosulfán (Anon, 1980). Después de la exposición de peces chupones rojos (*Moxostoma macrolepidotum*) a trans- y cis-clordano, la cantidad relativa del isómero trans en relación con el isómero cis disminuyó progresivamente en un período de 56 días (Roberts *et al.*, 1977). Cuando el pez dorado se inyectó con ¹⁴C-heptacloro, más del 80% del compuesto permaneció al final del día 10 (Feroz y Khan, 1979).

Rao y Murty (1982) estudiaron el metabolismo del endosulfán en 3 especies de pez gato y encontraron que el hígado era el órgano principal de almacenamiento y degradación del endosulfán. El sulfato de endosulfán era el principal metabolito intermediario y los productos de detoxificación fueron endosulfán-alcohol y endosulfán-éter. En otro estudio realizado por Rao *et al.* (1981) en la anguila *Macrornathus aculeatum*, el endosulfán era metabolizado a sulfato de endosulfán en cerebro, branquias, intestino, hígado y riñón, pero parece que este es un paso intermedio porque el producto no tóxico, como es el endosulfán-éter sólo se encontró en hígado y riñón.

Schimmel *et al.* (1976) expusieron peces *Leiostomus xanthurus* a varias dosis (0,27; 0,52; 1; 1,99 y 3,87 µg/L) de heptacloro técnico (65% heptacloro, 22% trans-clordano, 2% cis-clordano, 2% nonacloro y 9% desconocidos) durante 24 días y después estuvieron 28 días en agua limpia. La concentración de heptacloro, su epóxido, trans y cis-nonacloro se acumularon en músculo. La máxima concentración de heptacloro ocurrió a los 3 días de exposición y los otros 3 compuestos restantes se presentaron en máxima concentración al día 17 de exposición al pesticida. Sólo el 10% o menos de los residuos encontrados en su máxima concentración permanecieron en el músculo analizado al cabo de los 28 días de que los peces estuvieran en aguas limpias. De entre ellos, el 23% correspondía a cis-clordano y casi todo el heptacloro fue eliminado o transformado en su epóxido.

Los metabolitos encontrados en la perca de agallas azules (*Lepomis macrochirus*) tras la exposición a heptacloro fueron el epóxido de heptacloro, 1-hidroxi 2,3-epoxiclordano, 1-hidroxiclordano, heptacloro diol y un conjugado trihidroxi-heptacloro (Khan *et al.*, 1979).

-Eliminación de los residuos de pesticidas por los peces

Los peces eliminan sus residuos a través de orina, secreciones, como el mucus o a través de branquias en su proceso ventilatorio. La eliminación de los tóxicos a

través de las branquias y el riñón, juegan un papel importante. Cuanto mayor polaridad, mayor eliminación, por lo que el orden de eliminación es lindano>dieldrín> DDT (Gakstatter y Weiss, 1967). Algunos autores también han hecho mención de la excreción a través de bilis de ciertos xenobióticos.

Spacie y Hamelink (1982) revisaron modelos propuestos para explicar la eliminación de contaminantes en peces. En el modelo de primer orden y unicompartmental, la eliminación es directamente proporcional a la concentración en pez. En modelo de primer orden y bicompartimental, la eliminación es rápida en las primeras fases (debido a la eliminación rápida en el compartimento central). Los autores explicaron que mientras que la cinéticas de primer orden son útiles, sólo son buenas para explicar la eliminación de pesticidas principalmente a través de la difusión por las branquias o alguna otra membrana. Mientras que si la eliminación del pesticida es un proceso metabólico que conlleva actividad enzimática, el grado de biotransformación se define mejor por la ecuación de Michaelis-Menten.

No sólo el DDT es pobremente metabolizado, sino que se excreta también de forma pobre. Se sabe que es poco evidente la excreción del DDT a través de orina y fluidos de branquias (Dvorchik y Maren, 1972). El DDT se transporta pasivamente a través de la pared celular y de esta manera actúa como una droga lipofílica. Las sustancias lipofílicas que se filtran de la sangre al glomérulo renal, vuelven a la corriente sanguínea por difusión a través de la membrana celular de los túbulos y no aparecen por orina en cantidades significativas (Surak y Bradley, 1976).

A la hora de examinar la eliminación del DDT, Ernst y Goerke (1974) encontraron que en todos los órganos estudiados (hígado, cerebro, músculo), más del 80% del DDT acumulado permaneció inalterado. Al administrar 17 µg de ¹⁴C-DDT durante un periodo de 4 semanas, el 62% se eliminó durante los 2 meses que siguieron al introducir los peces en agua libre de pesticida.

Al pasar a aguas sin contaminar, la completa eliminación del HCH después de llegar a un estado de equilibrio llevó entre 30 y 50 días en la trucha arcoiris (Tooby y Durbin, 1975) y 1 semana en la trucha moteada (Schimmel *et al.*, 1977).

Marcelle y Thome (1984) estudiaron indirectamente la eliminación del lindano en el Gobio (*Gobio gobio*). Tras 18 días de exposición, los peces se trasladaron a aguas limpias y se pudo comprobar que el 98,4% de los residuos de lindano fueron excretados a los tres días de cesar la exposición, lo que indica una rápida eliminación de lindano.

Bioconcentración, bioacumulación y biomagnificación de OC

Existen unos términos que han ganado amplio uso y que es necesario conocer su significado ya que describen este tipo de procesos en peces. Han sido claramente definidos por Brungs y Mount (1978) como sigue:

Bioconcentración: es el proceso por el cual un compuesto es absorbido del agua a través de las branquias o tejido epitelial y se concentra en el cuerpo.

Bioacumulación: es el proceso por el cual un compuesto es ingerido por un organismo acuático, tanto por el agua como a través de la comida.

Biomagnificación: denota el proceso por el cual la concentración de un compuesto se incrementa en diferentes organismos, ocupando sucesivos niveles tróficos.

-Bioconcentración

El término bioconcentración hace referencia al proceso mediante el que un compuesto es absorbido del agua a través de las branquias o tejido epitelial y se concentra en el cuerpo. La proporción de su concentración entre el organismo y en el agua se llama factor de bioconcentración (BCF).

--Factores que influyen en la bioconcentración

Se influye por la estructura del compuesto, la concentración del químico en el agua, su solubilidad en agua, su actividad fisiológica en el animal y factores medioambientales como la temperatura, materia orgánica del sedimento y agua y por la densidad de población, edad, etc...

El BCF depende en gran medida de la solubilidad del compuesto en agua y la partición en los lípidos. En el lago Pinsett (sur Dakota) el DDT y sus metabolitos constituyeron el 45%, el lindano el 15%, el heptacloro y el heptacloro epóxido el 29%, el aldrín el 6% y el dieldrín el 6% de la carga total de los plaguicidas en agua. En peces, la proporción relativa fue el 79% del total de DDT, lindano el 2%, dieldrín el 12%, el heptacloro y el heptacloro epóxido el 7%, indicando que la ingestión por el organismo estaba inversamente relacionado con la solubilidad del compuesto en agua (Hannon *et al.*, 1970).

Neely *et al.* (1974) mantienen que el coeficiente de partición de un tóxico sería el parámetro más lógico entre las propiedades descritas para examinar el grado de bioconcentración en organismos acuáticos. Para evaluar la relación entre el coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}) y la ingestión de una sustancia, los autores relacionaron los BCFs determinados experimentalmente con el log del coeficiente de partición octanol-agua ($\log K_{ow}$ ó P).

Sí se vio un elevado grado de correlación entre el log K_{ow} y el log BCF y la relación se expresa con la siguiente ecuación:

$$\text{Log BCF} = 0,542 \log (K_{ow}) + 0,124$$

Cuando esta ecuación se utiliza para predecir el BCF de otros compuestos como el endrín, clorpirifos y el 3,5,6-tricloropiridinol se llega a parecidas conclusiones entre los valores experimentales y los valores predictivos.

En general, parece que la bioconcentración de un compuesto está inversamente relacionada con la concentración de exposición, por ejemplo, a elevadas concentraciones de un tóxico en agua, se bioconcentra menos y viceversa. La trucha arco iris bioconcentró 2-etilhexidifenilfosfato, 1481 ± 704 y 1147 ± 651 veces la concentración acuática del compuesto, que era respectivamente 5 y 50 $\mu\text{g/L}$ (Muir y Grift, 1981). Esta relación inversa entre la concentración de exposición y la bioconcentración parece válida con compuestos de baja polaridad, pero no con los de elevada polaridad.

El BCF del lindano depende de la concentración de este compuesto a la que es expuesto el organismo, obteniéndose los mayores BCFs a las menores concentraciones de exposición. La exposición a altas concentraciones disminuye significativamente los valores para el BCF. Así, Marcelle y Thome (1983) han determinado los niveles de lindano en cerebro, hígado y músculo de gobio (*Gobio gobio*) tras la exposición a concentraciones de 0,22 a 142 $\mu\text{g/L}$ de lindano en agua. A las menores concentraciones, los BCFs en cerebro, hígado y músculo fueron 600, 200 y 100, respectivamente. Los BCFs disminuyeron a valores de >10 a 50 a las mayores concentraciones.

En general, la temperatura acelera la ingestión de xenobióticos químicos. La trucha arcoiris, expuesta a 133-176 ng/L acumuló 3,76, 5,93 y 6,82 mg/Kg de p,p'-DDT a los 5, 10 y 15°C respectivamente (Reinert et al., 1974).

El medio físico y la presencia de otros peces también influye en la bioconcentración. Los peces bioconcentran OC no sólo cuando los compuestos están en solución sino cuando están adsorbidos en los sedimentos. Sin embargo, la concentración en sedimentos no parece ser el mejor indicador de los niveles de polucionantes en los organismos vivos. Kent y Johnson (1979) también notaron la ausencia de correlación entre la concentración de DDD en los sedimentos y la presencia en peces.

De la misma forma, los plaguicidas detectados en muestras de agua fueron diferentes a los detectados en los sedimentos; el heptacloro, endrín y el p,p'-DDT se detectaron en agua mientras que sólo el dieldrin y el p,p'-DDD se encontraron en los sedimentos (Fay y Newland, 1972).

--Equilibrio entre concentración medio-peíz

En algunos estudios se observa un equilibrio entre los niveles de plaguicidas en el pez y su medioambiente. En un experimento, se expuso al pez *Lagodon rhomboides* a 1 µg/L de DDT en el agua, alcanzando el equilibrio en dos semanas; los residuos en el pez en ese momento eran de 12 mg/Kg, una concentración 12.000 veces superior a la del agua (Hanson, 1966). Cuando se exponía el pez a una concentración menor de DDT (0,1 µg/L), alcanzó el equilibrio en aproximadamente el mismo tiempo; la carga corporal era de 4 mg/Kg y una concentración 40.000 veces la del agua.

Allison *et al.* (1964) expusieron ejemplares de salmón de Clark (*Salmo clarki lewisi*) a 0,3 mg/L de DDT, durante 30 minutos, una vez al mes. Estos ejemplares, tras 6 tratamientos, contenían 4 mg/Kg; durante los siguientes 12 tratamientos los niveles fluctuaron entre 3 y 6 mg/Kg, lo que sugiere un estado de equilibrio.

-Bioacumulacion

En la naturaleza, la bioacumulación conlleva la ingestión tanto del agua como de la comida.

Marcelle y Thome (1984) han estudiado la dependencia de la ruta de exposición en la bioacumulación de lindano en gobio (*Gobio gobio*). Se expusieron peces a agua contaminada y uno de los grupos, además, a la dieta contaminada, estudiándose posteriormente los niveles de lindano en hígado y cerebro. Tras 18 días, el grupo con la dieta contaminada mostró unos niveles de lindano en hígado 2-5 veces superior a los expuestos únicamente a agua contaminada, pero no se demostraron diferencias significativas en cerebro.

Macek y Korn (1970) expusieron truchas de lago a ¹⁴C-DDT, a través del agua (3 ng/L, bajo condiciones de flujo continuo), o a través de la alimentación (3 mg/Kg, alimentados con el 1,5% del peso corporal al día). Después de 120 días, los peces a los que se administró DDT de forma oral tenían 1,92 mg/Kg, por lo que el 33,5% del DDT administrado se acumuló. Los peces expuestos a 3 ng/L de DDT, tenían una carga de 25,6 µg/Kg y el 3,6% del DDT disponible se retuvo. Se concluyó que el pez acumuló un elevado porcentaje de DDT de la comida más que del agua y que la acumulación a través de la cadena alimenticia es mucho más importante que a través del agua.

La trucha de Fontana (*Salvelinus fontinalis*) acumula aproximadamente 10 veces más DDT a través de la dieta que directamente del agua. Dado que en los ecosistemas acuáticos la concentración de DDT es generalmente mucho mayor en la biota que en el agua, Macek y Korn (1970) sugieren que en las aguas naturales, la cadena alimenticia es la mayor fuente de DDT para los peces depredadores de aguas naturales.

También Madenjian *et al.* (1993) han observado que el consumo de presas es la principal ruta de captación de OC en los peces ictiófagos del ecosistema de los Grandes Lagos.

Holden (1962) demostró que la trucha marrón expuesta a ^{14}C -DDT rápidamente absorbió el tóxico del agua, la absorción fue principalmente a través de branquias y mucho del DDT ingerido se almacenó en la grasa corporal. En un estudio similar, cantidades apreciables de DDT se encontraron en los tejidos del salmón Atlántico justo después de la exposición al ^{14}C -DDT y se concluyó que la entrada a través de branquias es la principal ruta de ingestión del DDT y el compuesto es transportado y distribuido a todas partes del cuerpo a través de la sangre (Premdas y Anderson, 1963).

Para poder determinar si la muerte de un pez pudiera ser consecuencia del tóxico absorbido a través de las branquias de aguas residuales, peces gato (*Ameiurus Melas*) se sometieron a una cirugía que consistía en cerrar quirúrgicamente el tracto digestivo por un sitio cercano al esófago. Cuando tales peces y los controles se expusieron a endrín (50 $\mu\text{g/L}$) la muerte fue igual de rápida para ambos grupos, por lo que se concluye que la entrada a través de las branquias es más importante que la entrada por el tracto digestivo (Ferguson y Goodyear, 1967).

Reinert (1972) examinó la ingestión del dieldrín por organismos de diferentes niveles tróficos de una cadena trófica simple al exponer un alga (*Scenedesmus*), dafnia y peces guppy directamente al dieldrín en agua y también ofreciendo a las dos especies últimos alimentos que habían sido previamente expuestos a dieldrín en agua. Lo más interesante fue que la acumulación desde el agua del dieldrín por la dafnia y el guppy fue mayor que la obtenida de los organismos que servían de alimento, teniendo en cuenta que los organismos habían conseguido alcanzar el equilibrio de concentración de dieldrín tras un período de aclimatación. Por ejemplo, los guppies expuestos a 0,8-2,3 $\mu\text{g/L}$ en agua acumularon 10 veces más dieldrín que los guppies que se alimentaron de dafnias que alcanzaron la concentración equilibrio en 35 mg/Kg, después de exponerse a 2,1 $\mu\text{g/L}$ de dieldrín en *agua*. Otro punto impactante fue que aunque los guppies se alimentaron de 10 a 20 dafnias -cada una contenía una media de 32 mg/Kg dieldrín- la concentración de residuo resultante fue la misma, por lo que se concluyó que tanto la dafnia como los guppies acumularon más dieldrín del agua que de la comida.

Lockhart *et al.* (1977) demostraron que la ingestión de tóxicos a través de branquias era muy sustancial y rápida. Por ejemplo, los niveles de residuos en el tracto digestivo bajo, grasa, músculo y riñón 15 minutos después de la exposición a 300 $\mu\text{g/Kg}$ de metoxicloro fueron 9,1 \pm 3,84; 2,62 \pm 1,33; 1 \pm 0,17; y 4,6 \pm 1,43 $\mu\text{g/g}$ tejido fresco, respectivamente; 30 minutos después del tratamiento, los niveles fueron de 16,9 \pm 5,99; 5,12 \pm 3,45; 1,29 \pm 0,42; y 10,4 \pm 5,24 $\mu\text{g/g}$ respectivamente. Tal ingestión rápida sugiere que las branquias son la ruta primaria de ingestión de los residuos.

Al evaluar las razones por la controversia de la relativa importancia de la ingestión de residuos a través de la comida o agua, Macek *et al.* (1979) consideraron que una de las razones fue la elección de concentraciones irreales en agua o comida, desde el punto de vista medioambiental al comparar ambas rutas de ingestión. Sugirieron que la única forma de evaluar ambas rutas de ingestión es la exposición de organismos que sirvan de comida a una concentración particular en agua hasta que alcancen el equilibrio y luego alimentar a los organismos consumidores y comparar los resultados de bioacumulación con la bioconcentración en los organismos consumidores expuestos directamente al químico en agua a la misma concentración que la que alcanzaron los organismos que sirvieron de alimentación.

Después de examinar estudios de acumulación a través de la dieta de químicos, Macek *et al.* (1979) concluyeron que el DDT parece ser el único químico con un potencial para acumulación por dieta significativa (25 a 60% del total de los residuos corporales). Normalmente, la acumulación por dieta de otros químicos parecen contribuir sólo al 1-10% del total de la carga corporal, que es menos que el coeficiente de variación asociado con la habilidad de medir cargas corporales a través de la bioconcentración. Macek *et al.* (1979) sugirieron que un estudio de rangos de depuración sería importante para identificar sustancias tipo DDT, si realmente las hay, que puedan contribuir significativamente a aumentar la carga corporal a través de los organismos utilizados de alimentación.

-Biomagnificación

Woodwell *et al.* (1967) describieron la distribución de residuos de DDT en un estuario de la costa este de E.E.U.U. Muestrearon sedimentos y seres vivos de varios niveles tróficos, y concluyeron que la concentración de DDT y sus metabolitos se incrementaron a través de sucesivos niveles tróficos más de 1000 veces, con 0,04 mg/Kg de DDT en plancton y 75 mg/Kg en gaviotas.

En general, entre peces, los carnívoros tenían los mayores niveles de DDT y los pájaros carnívoros tenían entre 10 y 100 veces los niveles encontrados en peces. La concentración de DDT en pájaros era de casi 1 millón de veces mayor que el estimado en aguas. En un trabajo similar, al mismo tiempo, Butler (1968) estimó que de 1 µg/L de DDT encontrado en agua, éste se concentró en 70 µg/Kg en el plancton, 15 mg/Kg en peces y 800 mg/Kg en grasa de ballena objeto de estudio.

El lindano con un solubilidad en agua de 10 mg/Kg se bioconcentró acerca de 100 veces mientras que el DDT con una solubilidad en agua de 1,2 µg/L se bioconcentró del orden de 100.000 a 1 millón de veces más (Murty, 2000).

Con esto, se puede decir que la bioconcentración/bioacumulación de estos compuestos es inversamente proporcional a su solubilidad en agua. Hamelink *et al.* (1971) concluyeron que la concentración en niveles tróficos bajos no determinaría la concentración en los sucesivos niveles tróficos y que la

concentración de los residuos OC en cada organismo depende no tanto del nivel trófico, sino de la absorción y fenómeno de almacenaje que depende a su vez de la solubilidad del compuesto en los lípidos corporales.

Así, por primera vez, una explicación plausible para el proceso de acumulación se ofreció y se propone que la ingestión de productos químicos depende sólo de su partición en los lípidos y agua. Esta proposición se ha seguido estimulando por numerosos estudios de relación estructura-actividad en la ingestión de xenobióticos por peces.

Está claro pues que la magnitud de la bioconcentración es dependiente de la solubilidad en agua más que la posición en el nivel trófico (el lindano es cerca de 1000 veces más soluble en agua que el DDE).

Esta discusión revela que la biomagnificación no ocurre de forma universal o al menos así lo parece en ambientes acuáticos. Aunque eso puede ser de importancia local en algunos ejemplos, en la naturaleza, otros factores tales como la exposición íntima y directa al tóxico (como en caso de devoradores de detritus), solubilidad en agua, liposolubilidad del compuesto pueden influir en la ingestión de un compuesto por organismos acuáticos mucho más que transferirse por la cadena alimenticia. Por lo que es aconsejable refrenarse al usar el término biomagnificación excepto en casos de demostrada ocurrencia, si es el caso.

Se ha demostrado que el aumento de los niveles de lindano en los peces no es directamente proporcional a la concentración encontrada en productores primarios (Hansen, 1980).

2.9.- TOXICIDAD DE LOS OC PARA LOS PECES

Toxicidad aguda

La toxicidad de los OC sobre las especies acuáticas es, por lo general, muy superior al de los plaguicidas fosforados, carbamatos y herbicidas, pudiendo considerarse alguno de ellos, como el endrín, como venenos específicos de los peces. Sin embargo, Mittal *et al.* (1991) encontraron que el DDT y el gamma-HCH presentaban menor toxicidad aguda para el pez mosquito (*Gambusia affinis*) que los piretroides.

Entre los OC, el **endrín** y otros ciclodienos son elevadamente tóxicos para peces. La CL-50 a 96 h del endrín técnico para varias especies de peces de agua dulce varió entre 0,7 y 2,1 µg/L bajo condiciones estables y de 0,4 a 0,63 µg/L en peces de estuario en condiciones de flujo continuo (Schimmel *et al.*, 1975).

El **endosulfán**, otro ciclodieno, es también muy tóxico para peces. Su toxicidad para varias especies de agua dulce varía entre 0,2 y 8,1 µg/L y para peces de agua salada está en el rango de 0,3 a 2,9 µg/L (AWQCE, 1980). Según Johnson y Finley (1980), el endosulfan es muy tóxico para las especies acuáticas, así la CL-50 a 96 h fue de 1,5 µg/L en trucha arcoiris; 1,4 µg/L en la carpita cabeza; 1,4 µg/L en el pez gato de canal; 1,2 µg/L en la perca de agallas azules y 3,2 ppb en la trucha común.

El endosulfán es el pesticida que ha ejercido mayor impacto en ambientes acuáticos según un sumario nacional sobre pesticidas agrícolas usados en áreas de costa (Pait *et al.*, 1992). Es pues altamente tóxico para peces, con una toxicidad aguda en el rango de 1 µg/L para la carpita cabeza, perca de agallas azules, trucha arco iris y pez bagre de canal (Jonson y Finley, 1980).

Ferrando *et al.* (1991) determinaron que la CL-50 a 96 horas del endosulfan era de 41 µg/L para la anguila europea (*Anguilla anguilla*), concluyendo que era más tóxico que otros 6 pesticidas organofosforados.

El heptacloro es otro ciclodieno con elevada toxicidad para peces y se cifra su CL-50 a las 96 h en peces de estuario entre 1 y 4 µg/L. Parrish *et al.* (1976) estimaron que la CL-50 a 96 h fue de 6,4 a 24,5 µg/L para el *Lagodon rhomboides* y el *Phoxinus phoxinus*. Pero, tanto el **heptacloro**, como su epóxido son muy tóxicos. Las CL-50 a 96 h descritas son de 5,3-13 µg/L en la perca de agallas azules, 7,4-20 µg/L en la trucha arco iris, 6,2 µg/L en el lucio, 23 µg/L en la carpita cabeza y 10 µg/L en el Black-bass (Johnson y Finley, 1980).

Los peces son altamente susceptibles a la intoxicación por DDT. Concentraciones de partes por billón de este compuesto en el agua han demostrado ser productoras de alteraciones en la conducta, reproducción y provocar incluso mortalidad en truchas (Allison *et al.*, 1964; Burdick *et al.*, 1964).

Tarzwel (1963) encontró que para la trucha arco iris (*Onchorhynchus mykiss*) y el carpín colorado (*Carassius auratus*), la CL-50 a las 96 h del DDT es de 42 µg/L y 27 µg/L respectivamente, mientras que la del lindano es de 38 y 152 µg/L respectivamente.

El estudio realizado por Johnson y Finley (1980) destacó los valores de toxicidad del **DDT**, expresadas en CL-50 a 96 h para varias especies, como se detalla en la tabla:

Pez	CL-50 a 96 h	Pez	CL-50 a 96 h
Salmón-plateado (<i>Oncorhynchus Kisutch</i>)	4,0 µg/L	Pez gato (<i>Ameiurus Melas</i>)	4,8 µg/L
Trucha arcoiris (<i>Salmo gairdneri</i>)	8,7 µg/L	Perca agalla azul (<i>Lepomis macrochirus</i>)	8,6 µg/L
Lucio (<i>Esox lucius</i>)	2,7 µg/L	Black-bass (<i>Micropterus Salmoides</i>)	1,5 µg/L
Lucioperca americana (<i>Stizostedion vitreum</i>)	2,9 µg/L	Carpita-cabezona (<i>Pimephales promelas</i>)	21,5 µg/L
Pez gato de canal (<i>Ictalurus Punctatus</i>)	12,2 µg/L		

Tabla 22. CL-50 del DDT para varias especies de peces.

De los dos isómeros del DDT, la toxicidad del o,p'-DDT es un tercio la del p,p'-DDT. El metoxicloro y sus análogo (el dianisilnepentano) son mucho menos tóxicos que el DDT, y la CL-50 a las 96 h para el pez gambusino fue de 1,3 y 0,32 mg/L respectivamente (Coats *et al.*, 1974).

Los valores de CL-50 (96 h) para el **Metoxicloro** (material grado técnico, 90% pureza) son menores de 20 µg/L para la trucha de fontana, salmón atlántico, trucha común, lucio y Black-bass (Johnson y Finley, 1980). También se ha visto CL-50 (96 h) entre 20 y 65 µg/L en la trucha arcoiris, pez dorado, carpitas cabezonas, pez gato de canal, perca de agallas azules y perca amarilla (Johnson y Finley, 1980).

El **lindano** es también extremadamente tóxico para especies acuícolas. Los valores de CL-50 (96 h) descritos varían desde 1,7 a 90 µg/L para las truchas, salmón, carpa, carpitas cabezonas, perca de agallas azules, Black-bass y perca amarilla (Johnson y Finley, 1980). La CL-50 a las 96 h del lindano y el HCH técnico en varias especies de peces de estuario fue de entre 30 y 104 µg/L, sin embargo para crustáceos sí es muy elevada su toxicidad (<10µg/L) (Murty, 2000).

Baluja *et al.* (1973) citan como síntomas de una intoxicación aguda por OC en peces la inestabilidad, dificultad respiratoria, lentitud de movimientos y, en algunos casos, la muerte.

Los síntomas de una intoxicación aguda por lindano constan principalmente de una gran irritabilidad y pérdida del equilibrio, cambios en la pigmentación y hemorragias periféricas localizadas. La irritabilidad aparece en los primeros minutos de la exposición, acompañada de pérdida del equilibrio y alteraciones en los movimientos de natación. Los peces intoxicados muestran signos de problemas respiratorios. Las hemorragias aparecen a dosis subletales, a los 2-4 días del comienzo de la exposición (WHO, 1991).

Eisler (1970) realizó un estudio para averiguar la toxicidad de varios pesticidas para 7 especies de peces teleósteos de estuario (*Anguilla rostrata*, *Fundulus heteroclitus*, *Fundulus majalis*, *Thlassoma bifasciatum*, *Mugil cephalus*, *Mendía Mendía* y *Sphaeroides maculatus*) y la CL-50 a las 96 horas variaron, según el pesticida:

Pesticida	CL-50 a 96 h ($\mu\text{g/L}$)
Endrín	0,05-3,1
Dieldrin	0,9-34
Lindano	9-66
P,p'-DDT	0,4-89
Metoxicloro	12-150
Heptacloro	0,8-800

Tabla 23. CL-50 de varios OC para varios peces teleósteos.

En las siguientes tablas se recogen los datos de toxicidad aguda (CL-50 a las 96 horas) de pesticidas OC en distintas especies de peces recopilados por el U.S. Department of Interior, Fish and Wildlife Service en 1980 (US. DIFWS, 1980):

alfa-HCH				
Pez	CL-50 a 96 h (µg/L)	rango	temp (°C)	material
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	1,4		13	96%

Tabla 24. CL-50 del alfa-HCH

HCH						
Pez	CL-50 96 h (µg/L)	rango	temp (°C)	CaCO ₃ (mg/L)	MgCO ₃ (mg/L)	pH
Trucha de Clark (<i>Oncorhynchus clarki</i>)	9	8-10	13	40-50	30-35	
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	18	15-20	13	40-50	30-35	7,2-7,5
pez cola de velo (<i>Carassius auratus</i>)	348	261-466	18	40-50	30-35	7,2-7,5
Carpita cabezona (<i>Pimephales promelas</i>)	125	96-164	18	40-50	30-35	7,2-7,5
Pez gato (<i>Ictalurus punctatus</i>)	105	82-129	18	40-50	30-35	7,2-7,5
Pez sol (agallas azules) (<i>Lepomis macrochirus</i>)	67	51-91	18	40-50	30-35	7,2-7,5
Lobina Negra (<i>Micropterus salmoides</i>)	41	36-47	18	40-50	30-35	7,2-7,5

Tabla 25. CL-50 del HCH (material técnico al 41,5%)

Lindano			
Pez	CL-50 96 h (µg/L)	rango	temp (°C)
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	27	20-36	12
Trucha marron (<i>Salmo trutta</i>)	1,7	1,2-2,4	13
Trucha lacustre (<i>Salvelinus namaycush</i>)	32	24-42	12
Salmon plateado (<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	23	19-28	12
pez cola de velo (<i>Carassius auratus</i>)	131	92-187	18
Carpita cabezona (<i>Pimephales promelas</i>)	87	69-101	18
Carpa comun (<i>Cyprinus carpio</i>)	90	75-120	18
Pez gato (<i>Ictalurus punctatus</i>)	44	37-52	18
Pez sol (agallas azules) (<i>Lepomis macrochirus</i>)	68	60-78	18
Lobina negra (<i>Micropterus salmoides</i>)	32	27-38	18
Cabeza de toro negro (<i>Ameiurus melas</i>)	64	49-81	18
Pez sol (<i>Lepomis cyanellus</i>)	83	47-149	18

Tabla 26. CL-50 del lindano (material técnico al 99%)

Heptacloro						
Pez	CL-50 96 h ($\mu\text{g/L}$)	rango	temp ($^{\circ}\text{C}$)	CaCO ₃ (mg/L)	MgCO ₃ (mg/L)	pH
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	7,4	6,7-8,2	13	40-50	30-35	7,2-7,5
Pez cola de velo (<i>Carassius auratus</i>)	320					
Carpita cabezona (<i>Pimephales promelas</i>)	23		18	40-50	30-35	7,2-7,5
Pez gato (<i>Ictalurus punctatus</i>)	25	17-36	8	40-50	30-35	7,2-7,5
Pez sol (agallas azules) (<i>Lepomis macrochirus</i>)	13	9,0-19				
Lobina negra (<i>Micropterus salmoides</i>)	10	7,4-14	18			
Cabeza de toro negro (<i>Ameiurus melas</i>)	63	46-86	24			
Lucio (<i>Esox lucius</i>)	6,2		18			

Tabla 27. CL-50 del heptacloro.

Endosulfan			
Pez	CL-50 a 96 h ($\mu\text{g/L}$)	rango	temp ($^{\circ}\text{C}$)
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	1,4	1,2-1,6	13
Carpita cabezona (<i>Pimephales promelas</i>)	1,5	1,1-2,0	18
Pez gato (<i>Ictalurus punctatus</i>)	1,5	1,3-1,7	18
Pez sol (agallas azules) (<i>Lepomis macrochirus</i>)	1,2	0,9-1,7	18

Tabla 28 CL-50 del endosulfan (material técnico al 96%).

DDE			
Pez	CL-50 a 96 h ($\mu\text{g/L}$)	rango	temp ($^{\circ}\text{C}$)
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	32	26-40	12
Salmon atlántico (<i>Salmo salar</i>)	96	52-177	12
Pez sol (agallas azules) (<i>Lepomis macrochirus</i>)	240	201-286	17
DDD			
Pez	CL-50 a 96 h ($\mu\text{g/L}$)	rango	temp ($^{\circ}\text{C}$)
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	70	57-87	12
Carpita cabezona (<i>Pimephales promelas</i>)	4.400	3.470-5.580	18
Pez gato (<i>Ictalurus punctatus</i>)	1.500	1.180-1.910	18
Lobina negra (<i>Micropterus salmoides</i>)	42	34-51	18
Lucioperca americana (<i>Stixosteidon vitreum spp</i>)	14	11,0-19	18

Tabla 29. CL-50 del DDE y DDD (material técnico al 99%).

DDT			
Pez	CL-50 a 96 h (µg/L)	rango	temp (°C)
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	8,7	6,8-11,4	13
Salmon plateado (<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	4	3,0-6,0	13
Carpita cabezona (<i>Pimephales promelas</i>)	12,2	10-15,4	18
Pez gato (<i>Ictalurus punctatus</i>)	21,5	17,7-26,1	18
Pez sol (agallas azules) (<i>Lepomis macrochirus</i>)	8,6	6,2-12,0	18
Lobina negra (<i>Micropterus salmoides</i>)	1,5	0,9-2,4	18
Cabeza de toro negro (<i>Ictalurus melas</i>)	4,8	3,4-6,8	18
Lucio (<i>Esox lucius</i>)	2,7		18
Perca amarilla (<i>Perca flavescens</i>)	9	7,0-11	18
Lucioperca americana (<i>Stixosteidon vitreum spp</i>)	2,9	2,4-3,5	18

Tabla 30. CL-50 del DDT (material técnico al 99%).

Metoxicloro			
Pez	CL-50 a 96 h (µg/L)	rango	temp (°C)
Trucha de Clark (<i>Oncorhynchus clarki</i>)	15	14,0-17	12
Trucha de Fontana (<i>Salvelinus fontinalis</i>)	19	16,4-22	12
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	62	55-69	12
Trucha lacustre (<i>Salvelinus namaycush</i>)	17	13,0-24	12
Salmon atlántico (<i>Salmo salar</i>)	16,4	13,8-19,5	12
pez cola de velo (<i>Carassius auratus</i>)	42	33-52	18
Carpita cabezona (<i>Pimephales promelas</i>)	39	31-49	18
Pez gato (<i>Ictalurus punctatus</i>)	52	38-71	18
Pez sol (agallas azules) (<i>Lepomis macrochirus</i>)	32	20-49	17
Lobina negra (<i>Micropterus salmoides</i>)	16	13,0-18	18
Lucio (<i>Esox lucius</i>)	12		18
Perca amarilla (<i>Perca flavescens</i>)	30	22,8-39,4	12

Tabla 31. CL-50 del metoxicloro (material técnico al 89,5%).

Toxicidad crónica y concentraciones de seguridad

El último fin de los estudios de toxicidad es predecir los niveles aceptables de un tóxico para el medioambiente, que no sean dañinos para la vida animal y vegetal. Los estudios crónicos que se han realizado, por ejemplo test a 30 días, de multigeneraciones o de ciclos enteros de vida o ciclos parciales o test embrionario-larvales tienen su objetivo en identificar la concentración del tóxico que puede ser considerada como segura y no produce efectos adversos subletales.

Como enfatizó Sprague (1971) el término "nivel seguro" no es del todo satisfactorio, pero la ausencia de un término mejor ha hecho que gane aceptación. En el contexto de este nivel seguro, se usa un factor "AF" que se

obtiene de multiplicar la CL-50 por un factor arbitrario como es 0,1 para obtener una concentración que se supone no causa efectos subletales .

Por ejemplo, Hart *et al.* (1948) propusieron la siguiente fórmula

$$C = \frac{CL-50 \text{ a } 48 \text{ h} \times 0,3}{S^2}$$

Donde C es presumiblemente la concentración no dañina y

$$S = \frac{CL-50 \text{ } 24 \text{ h}}{CL-50 \text{ } 48 \text{ h}}$$

Otro acercamiento para llegar al nivel seguro es el uso de un tercio de la CL-50 a las 48 h. La Comisión Asesora de Pesca Europea (EFAC) sugirió que la concentración menor de 4 veces la CL-50 a las 96 h es un nivel de concentración segura y aceptable (Dickson *et al.*, 1979).

Lloyd (1979) opinaba que este acercamiento sobreestima los posibles daños de los tóxicos.

Los tests de toxicidad crónica al lindano efectuados sobre peces y basados en la supervivencia y crecimiento, ofrecieron unos niveles de menor efecto observable (Low Observable Level Effect o LOEL) en el rango de 12,5 µg/L para *Lepomis macrochirus* a 23,5 µg/L para *Pimephales promelas* (Macek *et al.*, 1976)

En un estudio de toxicidad crónica, Macek *et al.* (1969) expusieron a ejemplares de *Lepomis macrochirus* a concentraciones de lindano entre 0,6 y 9,1 µg/L durante 18 meses. Durante el tiempo de la exposición no se observaron efectos adversos. El NOAEL (No Observable Adverse Effect Level) fue establecido en más de 9,1 µg/L. En el mismo estudio, carpitas cabezonas (*Pimephales promelas*) fueron expuestas a 1,4-23,5 µg/L de lindano durante 43 semanas. A la máxima concentración se observó un incremento en la mortalidad estadísticamente significativo. A niveles más bajos no se encontraron efectos adversos sobre el crecimiento ni la supervivencia, al igual que sobre la puesta. El NOAEL de este experimento fue establecido en 9,1 µg/L. Los resultados de los estudios de cronicidad con el lindano en peces muestran que concentraciones no muy por debajo de las que causan el 50% de mortalidad son bien toleradas durante largos períodos de tiempo (hasta 18 meses).

La intoxicación crónica, producida por dosis subletales de OC, conduce a una variedad de efectos, entre otros, la acumulación de residuos en los tejidos, sobre todo, grasos, lesiones hepáticas y renales, daños en las branquias, inhibición en la reproducción, respuesta lenta a estímulos externos, por lo que son más susceptibles a los depredadores, pérdida del apetito, crecimiento retardado, inmunodepresión, mayor consumo de oxígeno, cambios en la composición de la sangre, modificación del metabolismo salino y la necesidad anormal de aguas más calientes (Baluja *et al.*, 1973).

Factores que afectan el grado de toxicidad de los OC

-Edad

Es bien sabido que los diferentes grupos de edad difieren en el grado de sensibilidad a los tóxicos. Comúnmente, los huevos son los menos sensibles. Al irse acabando el saco vitelino, la toxicidad aumenta muchas veces para las larvas jóvenes o estados juveniles, pero al aumentar la edad va disminuyendo la toxicidad. Esta baja toxicidad para huevos es atribuida a la relativa impermeabilidad de las membranas de los huevos a los compuestos xenobióticos; la mayor tolerancia por una mayor edad o tamaño se atribuye a su mayor cantidad de lípidos y también a la disminución de la superficie branquias en relación con el tamaño del cuerpo.

La influencia del tamaño del pez en la toxicidad del DDT a través de la dieta fue establecida por Buhler *et al.* (1969), entre otros. Peces más pequeños y de edad jóvenes eran más susceptibles al DDT que los más viejos o más grandes.

Buhler y Shanks (1970) en otro estudio, notaron el descenso de toxicidad del DDT para salmones más viejos y más grandes y lo explicaron como un resultado de una disminución del consumo de alimentos por peso corporal en comparación con los ejemplares más pequeños. Además, la mayor toxicidad del DDT para peces pequeños es parcialmente atribuible al menor contenido de lípidos que provoca un inadecuado almacenamiento del tóxico ingerido.

-Contenido lipídico

Geyer *et al.* (1993) han encontrado una correlación positiva significativa entre el contenido lipídico (% en peso fresco) y la CL-50 a las 48 h del gamma-HCH en diferentes especies de peces, revelando que la toxicidad del lindano disminuye con un incremento en el contenido en lípidos totales. Aún más, si las concentraciones medias letales son normalizadas a un 1% de contenido lipídico, entonces el rango de CL-50 a 48 h se reduce, reduciéndose también el coeficiente de variación de las medias de 139 a 22% (Geyer, 1994).

De aquí se deduce que los lípidos de los organismos acuáticos pueden servir (entre otras funciones) como sitio de almacenamiento protector contra los efectos tóxicos del lindano y, posiblemente, de otros xenobióticos lipofílicos persistentes que son bioconcentrados en la carga lipídica. Por todo ello, en organismos con alto contenido lipídico, sólo una pequeña fracción del compuesto lipofílico alcanzará los órganos diana (hígado, pulmón, nervios centrales o periféricos, etc...) para causar efectos adversos. Los resultados también sugieren que esta correlación puede también ser utilizada para extrapolar la toxicidad aguda (CL-50 a 48 h) de lindano a otras especies piscícolas, si su contenido lipídico es conocido.

-Exposiciones previas a OC

Culley y Ferguson (1969) compararon dos poblaciones salvajes de pez mosquito con cepas de laboratorio y entre sí, respecto a su susceptibilidad a la acción tóxica del lindano. En este estudio las poblaciones de áreas previamente tratadas con lindano toleraban altas concentraciones de esta sustancia. Una de las poblaciones salvajes mostró una CL-50 de 3,104 mg/L, mientras que una población susceptible de una región diferente mostraba un valor de 0,074 mg/L. Estos resultados muestran que las poblaciones salvajes son capaces de adaptarse al lindano tras exposiciones repetidas.

-Factores ambientales

--Temperatura

La temperatura actúa directamente o indirectamente al influir sobre otros factores como actividad enzimática, tasa metabólica y ciertos otros factores ambientales como oxígeno disuelto. Esto conlleva que los organismos acuáticos pueden estar más sensibilizados a los tóxicos al elevarse la temperatura porque se aumenta la difusión y la ingestión activa.

Existe una clara dependencia de la CL-50 con la temperatura. El lindano resulta más tóxico conforme se incrementa la temperatura, sin alterarse en exceso el rango de valores de CL-50. Macek *et al.* (1969) encontraron valores de CL-50 de 0,054 y 0,037 mg/L a 12,7 y 23,8°C, respectivamente.

Sin embargo, Ferrando *et al.* (1988) han encontrado que la toxicidad del lindano presenta una correlación negativa con la temperatura. Para ello efectuaron pruebas de toxicidad con lindano en anguilas (*Anguilla anguilla*) a tres temperaturas diferentes (15, 22 y 29°C) tanto en un medio experimental como en uno natural. La CL-50 a las 96 h se incrementó en el medio experimental desde 0,32 a 0,45 mg/L, entre los 15 y los 29°C; sin embargo, en el medio natural, las CL-50 a las 96 h son similares (0,54 y 0,55 mg/L) para esas mismas temperaturas.

La toxicidad del DDT disminuye con el incremento de la temperatura y viceversa. Después de fumigar con DDT los bosques de New Brunswick en junio, la mortalidad de salmones jóvenes y sus parentales se notó más cuando la temperatura del agua era de 5°C o menos (Elson, 1967).

El metoxicloro, relacionado estructuralmente con el DDT, también se comporta como éste disminuyendo la toxicidad para peces al elevarse la temperatura, así la CL-50 a 96 h para trucha arco iris y la perca de agallas azules fue de 30 y 42 µg/L a 1,6°C y de 62 y 75 µg/L a 12,7°C respectivamente (Macek *et al.*, 1969).

El mayor efecto tóxico de muchos pesticidas al aumentar la temperatura puede ser explicado en base a un aumento de la ingestión del tóxico a causa de un aumento de la tasa de ventilación, pero el descenso en la toxicidad del DDT y el metoxicloro es contrario a lo esperado. Gardner (1973) opinaba que las moléculas con un carbono etano en su configuración unidos al o,p'ó p,p'-anillos fenilsustituídos afectan la preferencia por la temperatura de los peces. Jackson y Gardner (1978) mientras estudiaban la inhibición de las ATPasas activadas por Mg²⁺, notaron que el DDT y sus análogos incrementaban la energía de activación y la frecuencia de reacción enzimática, resultando en un coeficiente de temperatura negativo de inhibición.

--pH

El pH influye en la toxicidad de la mayoría de los OC en la medida que controla la hidrólisis de los compuestos. La hidrólisis, que es uno de las mayores vías de degradación de muchos compuestos en los sistemas acuáticos, es dependiente del pH.

--Dureza del agua

La dureza del agua no parece influir en la toxicidad de los compuestos OC (Pickering *et al.*, 1962; Henderson *et al.*, 1959)

--Turbidez

Las partículas suspendidas, tanto vivientes como no vivientes, alteran la toxicidad de un compuesto al influir sobre el grado de biodisponibilidad de este compuesto.

Una aplicación del DDT a una dosis de 0,09 mg/L durante 16 minutos en el río Saskatchewan eliminó las larvas de mosca negra alrededor de 98 millas. Un tratamiento similar en otras áreas eliminaron la larva de insecto en sólo 9 millas. La diferencia se atribuyó a la elevada turbidez en el primer caso con una carga de partículas suspendidas de 551 mg/L. Se justificó que en presencia de partículas suspendidas, la mayoría del DDT se absorbió a la materia en partículas, y consecuencia de un mayor consumo de sustancias por la larva de *Simulium*, se controló mejor en áreas de mayor turbidez (Fredeen *et al.*, 1953).

--Salinidad

Ha habido más bien pocos estudios sobre la alteración de la toxicidad de pesticidas en aguas saladas. Murphy (1970) demostró que ejemplares jóvenes de pez mosquito acumularon significativamente menores cantidades de DDT, DDE y DDD en aguas con un 15% sal en relación con agua dulce. De la misma forma, ejemplares jóvenes de salmón atlántico acumularon mayores cantidades de 2,2',4,5,5'-pentaclorobifenil en agua dulce que en agua salada (Tulp *et al.*, 1968).

--Tipo formulaciones, isómeros y productos de degradación

Con frecuencia, compuestos de elevada pureza como los reactivos de grado analítico o productos de grado técnico son empleados para ver la toxicidad de pesticidas en los organismos acuáticos. Debe ser recordado que los compuestos puros son escasamente usados en la naturaleza. Los pesticidas son formulados como concentrados emulsionables, polvos mojables, preparaciones granuladas, polvos, aerosoles y similares, que ayudan a dispersar mejor el compuesto a los sitios diana.

Varios tipos de materiales inertes se usan como vehículos, emulsionantes, diluyentes, etc... para dispersar el ingrediente activo en los sitios diana. Estos materiales inertes se mantienen raramente inertes y con frecuencia son por sí mismo tóxicos o pueden interactuar con el principio activo siendo la toxicidad aditiva o menos aditiva.

El lindano técnico era más tóxico para la perca de agallas azules que una formulación en polvo (Randall *et al.*, 1979).

La CL-50 a 48 h de una mezcla comercial (75% de p,p'-DDT y 20% o,p'-DDT) de DDT y polvo mojable fue de 0,5 a 2,5 y 8 µg/L, respectivamente. La CL-50 a 24 h de una formulación en pasta y de otra líquida con emulsionadores de DDT fue de 10,7 y 20 a 110 µg/L respectivamente (Alabaster, 1969).

No se encontraron diferencias significativas en la toxicidad del heptacloro técnico (que consistía en 65% heptacloro, 22% trans-clordano, 2% cis-clordano y 2% nonacloro) y el heptacloro de grado analítico (99% pureza) para el pez de estuario *Leiostomus xanthurus* (Schimmel *et al.*, 1976a).

Estudios en el laboratorio de varios tipos de formulaciones del endosulfán mostraron que el 35% de formulaciones CE de metoxicloro eran más tóxicas que una formulación técnica para peces, mientras que la formulación en 4% polvo era menos tóxica que el material técnico. La CL-50 a 96 h del endosulfán técnico para *Labeo rohita* y *Channa punctata* fueron de 1,1 y 4,8 µg/L, aquellas con 35% CE entre 1 y 2,5 µg/L y aquellas con una formulación en polvo 4% fue de 1,3 y 16 µg/L (Rao et al., 1980; Priyamvada Devi et al., 1981).

Entre los 2 isómeros del DDT, el p,p'-DDT es más tóxico tanto para los organismos diana como otros organismos; el p,p'-DDT era hasta seis veces más tóxico que el otro isómero para peces (Alabaster et al., 1979).

La presencia de o,p'-DDT en material técnico (70 al 75% p,p'-DDT y cerca del 20% o,p'-DDT) parece disminuir la toxicidad del material técnico en comparación con el p,p'-DDT.

El lindano técnico resultó ser menos tóxico que la concentración equivalente de del mismo presente junto con otros isómeros en el HCH de grado técnico. Los otros isómeros del HCH aparentemente disminuyeron la toxicidad del lindano en el producto técnico. Mientras que 0,1 mg/L de lindano mató todas las carpitas cabezonas en una pecera a las 24 h; 3,2 mg/L de HCH técnico y 0,1 mg/L de lindano juntos en el mismo tanque no causaron mortalidad de ningún pez a las 96 h (Henderson et al., 1959).

Observaciones parecidas las hizo Schimmel et al. (1977) mientras probaba la toxicidad del lindano y el HCH de grado técnico en animales de estuario. La CL-50 a 96 h del lindano y del HCH técnico para el pez alfiler fue de 30,6 y 86,4 µg/L respectivamente.

Rao et al. (1980) y Priyamvada Devi et al. (1981) investigaron en el laboratorio la toxicidad de los isómeros "a" y "b" del endosulfán para 3 especies de peces de agua dulce. El isómero "a" era mucho más tóxico que el endosulfán técnico y el isómero "b" era siempre menos tóxico que el endosulfán técnico.

También se hace necesario probar la toxicidad de los productos de degradación, especialmente los más importantes en la naturaleza, que a veces pueden resultar tan tóxicos como los compuestos primarios. Otro de los aspectos importantes para ser valorado es la toxicidad diferencial de los isómeros cuando el material de grado técnico se compone de dos o más isómeros, como en el caso del DDT, endosulfán, HCH, etc...

2.10.- EFECTOS DE LOS OC EN PECES

La mortalidad en masa de peces debido a la exposición por pesticidas es rara y suele resultar consecuencia de accidentes o fumigaciones directas. Es más común que los peces estén sujetos a estrés, consecuencia de la exposición a concentraciones subletales. Estas pueden provocar más efectos deletéreos que las concentraciones letales, ya que dosis bajas pueden provocar efectos en peces, que como consecuencia pueden alterar su comportamiento, hábitos alimenticios, variaciones en las posiciones jerárquicas, fallos en la reproducción, etc...

Cambios de comportamiento y morfológicos pueden hacer que los peces sean más susceptibles a la parasitación o predación, reduciendo considerablemente la habilidad de una especie para sobrevivir y reproducirse. De esta misma forma, los efectos subletales sobre los órganos y a nivel celular pueden alterar el metabolismo de los peces y, por lo tanto, su habilidad para controlar el estrés. Incluso si el pez no está afectado directamente, cualquier efecto en los organismos que sirven de comida a los peces puede resultar en poblaciones mal nutridas.

Cambios anatomo-morfológicos inducidos por pesticidas

Se han descrito muchos cambios morfológicos después de la exposición de peces tanto a elevadas concentraciones por periodos cortos como a concentraciones subletales por largos periodos. Algunos de estos cambios pueden ser inocuos aparentemente como son el cambio de coloración corporal o pueden ser más vistosos como la erosión de aletas, distorsión de la visión, etc... Pequeños o grandes, muchos de estos cambios pueden producir falta de eficiencia de los peces en su medioambiente.

Los cambios morfológicos inducidos por los OC referenciados en la bibliografía incluyen:

- Oscurecimiento de la piel, formación de manchas marrones en la frente, debajo de los ojos y erosión de los extremos de las aletas del pez *Therapon jarbua* (Lingaraja *et al.*, 1979).
- Salmones alimentados con DDT desarrollaron severa hiperplasia del hocico. Esta deformidad empezó como una pequeña mancha en la punta del hocico y creció gradualmente a un estado donde se perdía uno o ambos ojos (Buhler *et al.*, 1969).
- Abultamientos del abdomen de carpitas cabezonas expuestos a HCH (Henderson *et al.*, 1959).

- Tardanza de la regeneración de las aletas caudales del *Fundulus heroclitus* después de un tratamiento con DDT (Weis y Weis, 1975).

Cambios en el comportamiento inducido por pesticidas

Las alteraciones en el comportamiento se han propuesto como arma diagnóstica rápida para detectar efectos subletales de pesticidas, aseverado por Warner *et al.* (1966) que decían que “Los patrones de comportamiento son muy sensibles a los cambios en el estado de equilibrio de un cuerpo”.

Scherer (1975), incluso consideraba que los test de comportamiento pueden a veces dar con umbrales de diagnóstico más bajos que las técnicas fisiológicas.

Exposición de huevos de salmón Atlántico a 0,05 ó 0,1 mg/L de DDT durante 1 mes, resultó en pérdida del equilibrio y comportamientos retardados en alevines. Estos cambios de comportamiento pueden tener efectos deletéreos sobre las poblaciones (Dill y Saunders, 1974).

El nadar de forma excitada e hiperactividad son efectos tan deletéreos para los peces como nadar de forma letárgica y pérdida de equilibrio, ya que los primeros hacen a los peces más llamativos en su medio.

Exposiciones a pesticidas pueden derivar en aumentos o disminución de la sensibilidad de los peces a ciertos estímulos. La exposición de la trucha de lago a DDT produjo una hipersensibilidad de la línea lateral a los estímulos (Anderson, 1968). De la misma forma, la exposición del pez dorado a endrín causó hiperexcitabilidad, seguido de pérdida de equilibrio, e hipersensibilidad a los estímulos físicos (Grant y Mehrle, 1970). Ejemplares de pez gato de canal expuestos a dosis subletales de endrín fueron hipersensibles a ruidos repentinos o a movimientos (Argyle *et al.*, 1973). Los guppies expuestos a dieldrín mostraron una sensibilidad aumentada a la luz, movimiento y las vibraciones. Su comportamiento locomotor se caracterizaba por rápidos y aleatorios nados (Anderson y Weber, 1975).

No sólo se pueden alterar la sensibilidad a estímulos o cambios la acción locomotora; también se han descrito cambios en la habilidad de aprendizaje de los peces.

DDT administrado oralmente afectó el grado de aprendizaje de la trucha arco iris cuando eran entrenadas para distinguir entre luz normal y luz tenue. A estos mismos peces se les probó su capacidad para distinguir las intensidades de luz 71 h después de darles una dosis oral de DDT y se observó que esta habilidad disminuyó al incrementar la dosis de DDT (McNicholl y Mackay, 1975).

Este fallo en el aprendizaje, puede ocasionar trastornos indirectos, como cuando afectan la freza de los peces. Salmones en el estuario impoluto de Tabusintac se

desplazaban bastante rápido en comparación cuando pasaban por el estuario de Miramichi, en Canadá, más contaminado. Los salmones se solían volver cuando se encontraban en áreas contaminadas. Tal comportamiento en las poblaciones naturales puede dañar las migraciones en época de freza, con lo que afectaría seriamente al éxito reproductivo (Elson *et al.*, 1972).

Ogilvie y Anderson (1965) concluyeron en su estudio que el salmón del Atlántico expuesto a DDT seleccionó diferente temperatura que los controles. Los peces expuestos seleccionaron temperatura más bajas que los controles. Un efecto similar en la preferencia de temperatura se vio en la trucha de agua dulce expuestas a DDT (Miller y Ogilvie, 1975).

Efectos sobre la respiración

El efecto sobre la respiración es uno de síntomas más tempranos de la exposición a pesticidas OC.

Una exposición a concentraciones subletales se vio que incrementó la actividad respiratoria, resultando en un incremento de la ventilación y por lo tanto, un incremento en la absorción del tóxico. La exposición de *Saccobranchus* a concentraciones letales y subletales resultó en un movimiento opercular incrementado (Verma *et al.*, 1978).

Se ha visto que los OC estimulan el consumo de oxígeno a concentraciones subletales e inhiben la absorción de oxígeno a concentraciones letales (Lingaraja y Venugopalan, 1978; Waiwood y Johansen, 1974). Al exponer peces *Macragnathus aculeatum* a endosulfán se estimuló el consumo de O₂, pero al incrementar la concentración de endosulfán disminuyó el consumo de O₂, (Rao *et al.*, 1981). En el pez *Labeo rohita* el consumo de O₂ se estimuló y luego se inhibió en los peces expuestos a endosulfán (Rao *et al.*, 1980).

La tos en los peces se ha descrito como una interrupción del ciclo normal de la ventilación, caracterizado por una expansión y una contracción más rápida de boca y cavidad opercular. Carlson y Drummond (1978) encontraron la respuesta de tos como un arma sensible y útil para evaluar la calidad de los efluentes municipales e industriales.

Schaumburg *et al.* (1967) notaron una relación directa entre la frecuencia de tos en la trucha arco iris y el tiempo de exposición al DDT. Los cambios en el patrón de respiración ocurrieron a concentraciones más bajas que aquellas que eran letales en experimentos de toxicidad. Las variaciones en la tasa de respiración y frecuencia de tos no se interrelacionaron. Por ejemplo, a muy bajas concentraciones de DDT, la tasa de respiración se mantuvo sin alterar, mientras que la frecuencia de tos se incrementó.

OC como disruptores endocrinos en peces

-Efectos sobre la Reproducción: Embriotoxicidad

Wester (1991) ha estudiado los efectos específicos del β -HCH (32 $\mu\text{g/L}$) sobre el sistema reproductor del pez guppy (*Poecilia reticulata*) y del medaka (*Oryzias latipes*), encontrando inducción de la vitelogénesis y hermafroditismo, indicativos ambos de actividad estrogénica. También Cornacoff *et al.* (1988) encontraron actividad estrogénica del beta-HCH sobre los peces.

La exposición de huevos fertilizados de *Brachydanio rerio* a un flujo de lindano (40, 80, 110, 130 y 150 $\mu\text{g/L}$) durante 35 días, provocó la eclosión, anomalías en el desarrollo (deformaciones externas, edemas, etc...) y mortalidad (Gorge y Nagel, 1990). El lindano provocó mortalidad desde los 110 $\mu\text{g/L}$, reduciéndose así la supervivencia de los juveniles. Causó también una disminución en el crecimiento (40 $\mu\text{g/L}$), pero no presentó efectos sobre otros parámetros.

Estudiando el efecto de la exposición de larvas de *Brachydanio rerio* a diversas concentraciones de lindano en el agua, Braunbeck *et al.* (1990) encontraron que a concentraciones mayores o iguales a 110 $\mu\text{g/L}$, la supervivencia de las larvas era escasa a los 35 días, mientras que a los 3 meses la mortalidad fue del 100%.

Macek *et al.* (1969) han estudiado los efectos reproductivos del lindano en *Lepomis macrochirus*, *Pimephales promelas* y *Salvelinus fontinalis*. No encontraron efectos adversos sobre la puesta, eclosión de los huevos y supervivencia de los alevines a concentraciones inferiores a 9,1 $\mu\text{g/L}$ en *L. macrochirus*, de 23,4 $\mu\text{g/L}$ en *P. promelas* y de 2,1 $\mu\text{g/L}$ en *S. fontinalis*.

El DDT tiene un efecto conspicuo sobre la reproducción de la trucha (Burdick *et al.*, 1960). Los tratamientos con este compuesto han provocado la completa eliminación de la producción de truchas en ciertos lagos. Los alevines mueren en el momento de la absorción final del saco vitelino. La mortalidad acontece cuando el residuo de DDT en los huevos provoca la aparición de alevines con 2,9 mg/Kg; no hay alevines supervivientes en lotes con 5 mg/Kg de DDT y la mortalidad es de casi el 100% en lotes que contenían considerablemente menos DDT (Burdick *et al.*, 1964).

Allison *et al.* (1964) citan que la mortalidad del *Salmo clarki lewisi*, en los alevines con saco vitelino, era alta cuando los padres habían sido expuestos durante 30 minutos mensuales a 0,3-1 mg/L de DDT en el agua, durante 15 meses. Estos efectos no fueron observados a menores dosis.

-Efectos sobre el funcionamiento endocrino

Moccia *et al.* (1977) encontraron elevadas frecuencias de bocio en salmón recogidos de los lagos Ontario y Erie, pero no pudieron atribuirse a la baja cantidad de yodo disponible en los lagos. Salmones del lago Michigan tenían

frecuencias de bocio del 6,3% y la concentración de yodo en agua era de las más bajas de los tres, mientras que el lago Ontario y el Erie tenían contenidos de yodo de 2,9 y 1,7 $\mu\text{g/L}$ siendo la frecuencia de bocio del 47,6 y 79,5% respectivamente. Los autores sugirieron que la presencia de agentes bociógenos tóxicos pudieran estar involucrados en la producción de bocio. Salmones, alimentados con 50 $\mu\text{g/g}$ de mirex en alimento seco, durante 2 a 3 meses, tuvieron una disminución notable de la hormona T_3 y la T_4 séricas.

De todas formas no está claro esta relación, ya que diferentes cargas de varios OC en peces no se correlacionaron con la frecuencia de aparición de bocio.

-Efecto de OC sobre sistema inmunitario

Dunier *et al.* (1994) han estudiado el efecto del lindano sobre la función inmune de la trucha arco iris (*O. mykiss*), controlando la proliferación de linfocitos mitógenos B y T y el número de linfocitos B. Tras la contaminación oral no se encontraron efectos sobre la proliferación de linfocitos ni sobre el número de linfocitos B circulantes. Tras la administración de una dosis intraperitoneal de lindano, la proliferación de linfocitos B se deprimía, pero no la de células T. El número de células B en la cabeza del riñón no se modificó significativamente.

-Cambios bioquímicos

--Inhibición de la ATPasa

A pesar de casi 4 décadas de investigación sobre OC, y especialmente el DDT, las bases bioquímicas de su acción tóxica no están del todo dilucidadas. Aunque las primeras investigaciones sobre la acción del DDT sobre la ATPasa no mostraron efectos adversos, Koch (1970) y otros autores mostraron que el clordano, aldrín, dieldrín, dicofol, lindano y DDT inhibían la ATPasa asociada a la fosforilación oxidativa y transporte catiónico en las membranas citoplasmáticas.

Con la inhibición del enzima ATP-asa, que regula los iones calcio de membrana celular, se impide así el rápido retorno de la membrana nerviosa a su estado de equilibrio. Si se interfiere la acción de esta ATP-asa, no se forma el complejo ADP-Ca y no se transporta Calcio. Esta disminución de Calcio en la membrana produce síntomas similares a los del DDT y se ha comprobado que los síntomas se agravan al disminuir la concentración de iones Ca^{++} en la membrana, en tanto que se aminoran si aumenta su concentración. Consiguientemente, se ha establecido que el DDT actúa a través de su efecto inhibitorio sobre las ATPasas.

Después de este hallazgo, surgió otra controversia. CutKamp *et al.* (1982) mostraron que el DDT era un inhibidor más efectivo de la Mg^{2+} -ATPasa que las ATPasas de Na^+ y K^+ . El empleo de oligomicina, un inhibidor específico de la porción mitocondrial de la actividad Mg^{2+} -ATPasa, se estableció que el DDT inhibía completamente la ATPasa. Este hallazgo hizo postular que la Mg^{2+} -ATPasa mitocondrial era el sitio de elección primaria del DDT.

--Otras enzimas

Aunque las diferentes clases de pesticidas OC tienen lugares diferentes de acción, muchos pesticidas son agentes estresantes metabólicos y como consecuencia, se manifiestan efectos secundarios en rutas metabólicas.

Se ha sugerido que la inhibición de la anhidrasa carbónica por el DDT es la responsable de la fragilidad de la cáscara de huevo de rapaces. Pocker *et al.* (1971) demostraron que el DDT, DDE y dieldrín no eran verdaderos inhibidores de la acción de la anhidrasa carbónica, pero que estos pesticidas cuando se encontraban en exceso de su límite de liposolubilidad, precipitaban y obstaculizaban a la enzima.

De la misma forma, Meany y Pocker (1979) mostraron que la inactivación de la LDH en conejo, ternera y salmón ocurría sólo cuando las cantidades de dieldrín, clordecone, mirex, o,p'-DDT y p,p'-DDT se añadían en exceso de su límite de liposolubilidad. La adición de un agente surfactante, o etanol como solvente ayudó en parte a la completa solubilización del compuesto y decreció o incluso se eliminó esta inactivación de la LDH. Concluyeron así que la inactivación de la LDH por varios OC en medios acuosos aumentaba la coprecipitación enzimática y realmente la inhibición enzimática no era una inhibición química.

--Efectos sobre el metabolismo

En España se han hecho varios estudios sobre el efecto de OC sobre el metabolismo de los carbohidratos. Los estudios parecen indicar que los OC inducen respuestas de estrés en el organismo, afectando de forma inmediata al metabolismo de los hidratos de carbono.

Ferrando y Moliner (1992) han encontrado que concentraciones subletales de lindano provocan en la anguila una disminución significativa en los niveles de glucógeno, tanto en hígado como en músculo. Los niveles de glucosa aumentan en el músculo y disminuyen en el hígado. Los contenidos de piruvato y de lactato de las anguilas se incrementaron en músculo e hígado.

El DDT, a una concentración subletal (0,35 mg/L) durante 50 días, provoca en *Labeo rohita*, *Clarias batrachus* y *Channa punctatus*, una caída a los 15 días en la actividad de la fosfatasa ácida, glucosa-6fosfatasa y fructosa-1,6-difosfatasa del tejido hepático, seguida de un incremento (entre los días 30 y 45) en la actividad de las mismas. La fosfatasa alcalina registró un incremento a los 15, 30 y 45 días de la exposición. En el tejido renal, la tendencia de las 4 fosfatasas fue un incremento a los 15, 30 y 45 días de la exposición. Los cambios en las 4 fosfatasas fueron más pronunciados en *Channa punctatus* que en *Labeo rohita* y *Clarias batrachus* (Shafi y Dubey, 1989).

Tras exponer a la anguila a una concentración subletal de lindano de 0,335 mg/L (50% de la CL-50 a las 96 h), durante diversos tiempos (6, 12, 24, 48, 72 y 96

horas), Ferrando y Moliner (1991) controlaron las alteraciones acontecidas en el metabolismo de los carbohidratos. Los niveles musculares de glucógeno disminuyeron para todos los tiempos, mientras que los niveles hepáticos no disminuyeron. Los niveles musculares de glucosa se elevaron para todos los tiempos, mientras que en el hígado sólo se elevaron a las 96 horas. Los valores medios de piruvato aumentaron en hígado y músculo a las 6, 12, 24, 48 y 72 horas. Los niveles musculares de lactato aumentaron significativamente a las 6, 12, 24 y 48 horas, mientras que los niveles hepáticos lo hicieron únicamente a las 12, 24 y 48 horas del tratamiento.

El endosulfan, expuesto a dosis subletales de 8,2 µg/L, es otro pesticida que provocó, en la anguila europea (*Anguilla anguilla*), disminución del glucógeno muscular, aumento de los niveles de glucosa y lactato sanguíneos, medibles a partir de las 24 horas de exposición (Gimeno *et al.*, 1995).

El heptacloro, a dosis de 1, 3, y 5 ppm, durante 3 horas de exposición, produjo disminución del contenido de glucógeno en hígado, músculo y cerebro que fue proporcional a la dosis de heptacloro recibida, en varias especies de peces: *Labeo rohita*, *Catla catla*, *Cirrhina mrigel*, *Ophicephalus striatus*, *O. Punctatus*, *O. Marolius*, *Clarias batrachus*, *Heteropneustes fossilis* y *Mystus seeghala*. El contenido de glucógeno en riñón se incrementó cuando los peces se expusieron a la dosis de 3 ppm de heptacloro, debido, según los autores, al aumento de glucosa sanguínea y al intento, por parte del riñón, de conservar la glucosa dentro del organismo (Shaffi, 1979)

También se ha estudiado el efecto sobre el tejido branquial de la anguila tras la exposición a concentraciones subletales de lindano. A las 6 h de tratamiento, los niveles de glucógeno disminuyen mientras que los de glucosa aumentan. Entre las 6 y las 48 h, los niveles de lactato y de piruvato aumentan. Los valores de lípidos totales disminuyen entre las 6 y las 24 h, para posteriormente volver a incrementarse hasta las 72 h de la exposición (Ferrando y Moliner, 1991b).

Los OC no sólo afectan al metabolismo de carbohidratos. De hecho, al alimentar durante 95 días con alimento adicionado de dosis de DDT en salmones juveniles incrementó los niveles de lípidos de las carcasas (Buhler *et al.*, 1969).

También se observó una disminución de los niveles de proteína en 4 tejidos de *Channa sp.* después de una exposición aguda de endosulfán técnico. Concentraciones subletales de dieldrín no afectaron los niveles de proteína en la trucha arco iris (Murty y Priyamvada Devi, 1982). La administración oral de DDT causó una elevación de los niveles de aminoácidos séricos (Mehrlé *et al.*, 1971).

Mendiola *et al.* (1981) han observado en la trucha arco iris que la exposición subletal a lindano (0,01 y 0,001 mg/L) inhibe el valor productivo de la proteína, es decir, la relación porcentual entre el nitrógeno corporal retenido e ingerido.

-Cambios sobre el equilibrio iónico

Peces globo adultos expuestos a concentraciones subletales de endrín durante 96 h tenían elevados niveles de potasio, sodio, calcio, magnesio y zinc séricos concomitantes con una concentración baja de sodio, potasio, calcio, magnesio y zinc en hígado, lo que indica movilización de cationes del hígado hacia sangre (Eisler y Edmunds, 1966).

-Cambios histopatológicos provocados por los pesticidas

Braunbeck *et al.* (1990) han encontrado que el lindano provoca en el *Brachydanio rerio*, a niveles detectados de 40 µg/L, unas imágenes en la ultraestructura del hígado de vacuolización microvesicular grasa (esteatosis), caracterizada por la deposición lipídica en cisternas del retículo endoplasmático rugoso (RER). Esta alteración patológica altamente específica es acompañada de gotitas de triglicéridos que forman macrovesículas en el hígado y depleción del glucógeno y aparición de mitocondrias con forma de bastón. Alteraciones adicionales aparecían a los 80 µg/L, incluyendo la proliferación del RER en machos y el fraccionamiento progresivo del RER en hembras, disminución de la actividad de la catalasa peroximal, infiltración de macrófagos en el parénquima hepático y una estimulación significativa de la mitosis de hepatocitos.

Singh y Sahai (1990) investigaron el efecto del lindano, a concentraciones subletales (0,19 mg/L), sobre la estructura branquial del teleosteo dulceacuícola *Puntius ticto*. El examen histopatológico reveló cambios estructurales y funcionales en las branquias, con destrucción de la cubierta epitelial y destrucción de los vasos sanguíneos, con grandes hemorragias.

Myers *et al.* (1994) han estudiado la relación entre las lesiones hepáticas y los niveles del total de DDT en sedimentos, contenido estomacal, tejido hepático y biliar, evaluándola estadísticamente en tres especies de peces, *Pleuronectes vetulus*, *Platichthys stellatus* y *Genyonemus lineatus*, capturados en la Costa Pacífica desde Alaska hasta el sur del California. El sumatorio de DDT constituía un factor de riesgo significativo en la aparición de lesiones neoplásicas, preneoplásicas, proliferativas no neoplásicas y específicas degenerativas necróticas, así como vacuolización hidrópica. Estos autores proponen la utilización de estas lesiones como biomarcadores de contaminantes inductores de dichos efectos en peces.

Salmones, alimentados con dietas que contenían DDT, mostraron degeneración localizada y distal de túbulos en el riñón. Después de una alimentación prolongada el tamaño del hígado disminuyó (Buhler *et al.*, 1969).

La observación a microscopía electrónica no reveló drásticos cambios histopatológicos en hígados de peces guppies expuestos a DDT durante 28 días. Peces cebras, después de estar expuestos a 0,3 µg/L de DDT durante 72 h o

después de 24 h expuestos a 1 µg/L de DDT perdieron el glucógeno completamente, mostraron una disminución del tamaño de la célula y el citoplasma estaba lleno de RER (Weis, 1974).

3.- METALES PESADOS

3.1.- INTRODUCCIÓN

La monitorización de metales pesados en el medio ambiente nos da información en varias de las siguientes áreas: Por un lado, nos da un aviso temprano de efectos tóxicos, si existen. Por otro lado nos ayuda a conocer áreas de impacto y lugares donde la concentración resulta aparente, y deducir así posibles rutas de exposición hacia humanos, por lo que, en definitiva, se establece una base sobre áreas geográficas.

También es útil conocer la tendencia de estos metales pesados a lo largo del tiempo. Los datos recogidos dan un medio para integrar exposición y cargas corporales con el medioambiente y relacionar una sustancia tóxica particular con posibles problemas medioambientales.

Por sus características de persistencia e integración en el medio ambiente, son cuatro, además del mercurio que no es objeto de este trabajo, los metales pesados más ampliamente investigados: zinc, cadmio, cobre y plomo.

3.2.- FUNCIONES FISIOLÓGICAS DE METALES PESADOS

Si bien los metales pesados tienen una actividad tóxica reconocida a concentraciones altas, los organismos vivos tienen necesidad vital de alguno de ellos, ya que son necesarios para diversas funciones fisiológicas.

El **zinc** forma parte de más de 100 metaloenzimas (enzimas con un mineral en su estructura). Es esencial en la síntesis de DNA, en procesos implicados en la inmunidad, curación de las heridas, percepción del sentido del gusto, síntesis de esperma y el desarrollo físico normal. Se han encontrado niveles elevados de Zn en gónadas de peces, sobre todo de hembras porque juega un papel fisiológico esencial en la fertilización y por tanto, se almacena como reserva en los oocitos femeninos (Hamza-Chaffai *et al.*, 1996). La hipótesis de que el zinc (Zn^{2+}) podría tener una función fisiológica como parte de las defensas antioxidantes del organismo surge a partir del hallazgo de que la deficiencia de Zn^{2+} está asociada a una situación de estrés oxidativo. Así, utilizando modelos de deficiencia de Zn^{2+} en animales se han descrito elevados niveles de daño oxidativo a distintos componentes celulares (Sullivan *et al.*, 1980; Tate *et al.*, 1999).

El **cobre** es un metal común en la naturaleza, que en los seres vivos está involucrado en reacciones redox, forma parte esencial de la citocromo oxidasa y también es constituyente de numerosas enzimas. Es fundamental en la absorción de hierro y en la síntesis de hemoglobina. Esto significa que el metabolismo normal del Cu debería estar relacionado tanto con bajas como con altas concentraciones corporales.

El **cadmio** y el **plomo** son elementos no esenciales, muy tóxicos y no se les conoce una función fisiológica en los seres vivos.

3.3.- DISTRIBUCIÓN MEDIOAMBIENTAL DE LOS METALES PESADOS

Fuentes de polución de metales pesados

El **zinc** (Zn) está presente en la corteza terrestre en una concentración media de 70 mg/Kg., donde no se suele encontrar de forma libre, sino formando complejos con sulfuros, carbonatos y óxidos.

Se utiliza en la fabricación de hardware y componentes eléctricos. También se emplea para formar aleaciones con otros metales, como el níquel, aluminio, bronce. Otro uso, también muy extendido, es para galvanizar, previniendo así la corrosión de otros metales como el hierro. Derivados del Zn, como el óxido de Zn se utiliza en pinturas, cosméticos, productos parafarmacéuticos, plásticos, baterías, textiles y el sulfuro de Zn se utiliza en fluorescentes, rayos X y pantallas de TV.

La contaminación principal de Zn en el medio ambiente proviene de los residuos industriales derivado de sus usos.

Los niveles de **cadmio** (Cd) en la corteza terrestre están entre 0,1-0,5 µg/g, en la atmósfera entre 0,1-5 ng/m³, en los sedimentos marinos aproximadamente 1 µg/g, en el agua marina aproximadamente 0,1 µg/L (Clark, 1992) y en agua de río la concentración de Cd disuelto está entre 1-13,5 ng/L (WHO, 1992).

En la industria, se aprovecha del Cd su gran resistencia a la corrosión, su bajo punto de fusión y al ser un excelente conductor eléctrico, su uso se ha derivado en pigmentos, revestimientos, pinturas y baterías recargables de níquel-cadmio.

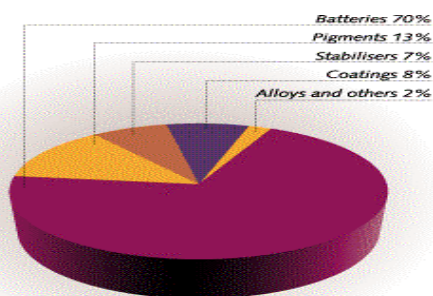


Figura 19. Distribución de los usos más habituales del Cd.

El Cd, como fuente de polución en el medioambiente, proviene primariamente de efluentes industriales (fundición del cobre, Zn, Pb y níquel) y municipales, así como de la deposición atmosférica procedente de la combustión de plásticos, combustibles de automóviles, gomas y del humo de tabaco.

Según Clark (1992), las emisiones atmosféricas de Cd, consideradas como la ruta principal de entrada al medioambiente, son primariamente antropogénicas y se han estimado en unas 7.300 Tn/año, comparadas con las 960 Tn/año de fuentes naturales.

La actividad volcánica es la mayor fuente natural de Cd a la atmósfera que se estima entre 100-500 Tn/año (WHO, 1992). El vulcanismo profundo de los océanos es otra fuente natural que se ha estimado que lanza aproximadamente 1000 Tn/año (Nriagu y Pacyana, 1988)

El Cd es un constituyente natural en algunas rocas, encontrándose en forma de sulfuro, carbonato y óxido de Cd. De esta forma son prácticamente insolubles en agua, pero en la naturaleza se pueden transformar a compuestos más solubles, como nitratos y haluros. Según un informe, elaborado por Organización Mundial de la Salud (WHO, 1992), el lavado de las rocas enriquece con cantidades significativas de Cd a los ambientes acuáticos, estimándose la entrada anual en 15.000 Toneladas (Tn).

La concentración media de **plomo** (Pb) en la tierra es de 1,6 g por cada 100 Kg de suelo (Pain, 1995) y según Clark (1992), la producción total de plomo ronda los 43 millones de toneladas/año.

En la naturaleza, el Pb^{2+} es la forma estable del Pb, pero también forma complejos poco solubles con carbonatos, sulfuros, sulfatos e hidróxidos. Los compuestos orgánicos (derivados alquílicos del Pb) también forman complejos con materiales húmicos (Schulz-Baldes *et al.*, 1983).

Las fuentes de contaminación de Pb son más variadas y proceden de varios ámbitos.

Las áreas urbanas y cercanas a carreteras han sido la principal fuente de Pb antropogénica. Como resultado, la aportación primaria de plomo al medioambiente se hizo a través de la combustión de gasolinas de automóviles. Según Clark (1992), las actividades humanas liberan mucho más Pb a la atmósfera (449.000 toneladas/año) que las fuentes naturales (19.000 toneladas/año). Prueba de ello, es que las concentraciones de Pb están mucho más elevadas en el suelo y organismos cercanos a carreteras donde la densidad de tráfico es alta. El Pb medido es inorgánico y deriva casi exclusivamente de compuestos alquílicos de Pb añadidos a los carburantes de automóviles (WHO, 1989).

Las emisiones o descargas de industrias que utilizan Pb en su actividad constituyen una fuente de contaminación de los alrededores. El problema surge porque cuando vierten a medios acuáticos, esta contaminación iniciará un recorrido a más larga distancia.

Otra fuente importante de Pb, creciente a lo largo de estas últimas décadas, son los perdigones de cartuchos de munición. El efecto y la toxicidad se conoce muy bien en aves, pero pocos estudios se han realizado sobre la contaminación de Pb en peces consecuencia de estos perdigones en el medio acuático.

Existe evidencia de que todo el Pb metálico de las plomadas de pesca y perdigones de caza se transforma en especies particuladas y moleculares de Pb que se dispersan por el medioambiente. Cuando el Pb, en forma de perdigones o plomadas, se expone al aire o agua, se produce óxido de Pb, carbonatos de Pb y otros compuestos. Scheuhammer y Norris (1996) analizaron los productos de la corrosión de perdigones y demostraron que se producía cerusita (PbCO_3), hidrocerusita ($\text{Pb}(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$) y algo de anglesita (PbSO_4).

En la corteza terrestre, el **cobre** (Cu) se encuentra a una concentración aproximada de 70 ppm y en una gran variedad de formas. Así mismo, forma dos tipos de sales con las dos valencias Cu^{1+} y Cu^{2+} que suelen ser muy estables en el medioambiente (Budavari, 1996).

El Cu se descarga ampliamente de fuentes puntuales (plantas industriales de metales y de otras industrias, como refinerías y fundiciones), vertidos domésticos, botes de pintura y lixiviados metálicos, así como de fuentes más lejanas como la escorrentía que arrastra fertilizantes, pesticidas, deposición atmosférica, tratamientos antialgas de aguas, etc....

Movimiento de residuos de metales pesados en el medio ambiente

-Distribución y niveles de metales pesados en agua

La concentración de metales en agua superficial contribuye a la acumulación de metales en branquias y riñón de peces. Las branquias se exponen a metales a través del agua ya que están constantemente en contacto directo. Los riñones están expuestos a los metales del agua porque la sangre fluye desde las branquias a la arteria carótida, que aporta sangre al riñón (Farell, 1993).

En general, el orden de acumulación de metales pesados en la red trófica es como sigue: capa biológica=sedimentos>invertebrados>peces (Deacon y Driver, 1999).

Aunque las concentraciones absolutas de metales están más elevadas en la capa biológica y sedimentos, se ha cuestionado que los metales se biomagnifiquen en peces. Los datos de un estudio realizado por Farag *et al.* (1998) demuestran que los metales son biodisponibles y que aunque no se biomagnifiquen a través de niveles tróficos, sí se bioacumulan a concentraciones que causen efectos fisiológicos en peces.

El muestreo de sedimentos de una cuenca se puede usar para definir el enriquecimiento de metales a causa de cualquier contaminación exógena - mineras, industriales-. Estos metales pesados son ingeridos con las partículas de materia orgánica por los organismos bénticos y luego se pueden acumular y mover a lo largo de la cadena trófica, por lo que la concentración detectada en los sedimentos se puede utilizar para evaluar su toxicidad potencial para la vida que lo circunda (Deacon y Driver, 1999).

La concentración de metales asociada a los sedimentos está en un orden de 3 veces mayor que los asociados a la fase acuosa, en parte a causa del pequeño tamaño de partícula de los sedimentos que actúa como agente de transporte de metales.

Los elementos traza, al distribuirse en el medio acuático tienden a asociarse con el grano fino de los sedimentos, por lo que la concentración de metales en los sedimentos de una cuenca generalmente se incrementa a medida que el tamaño de partícula disminuye.

Deacon y Driver (1999) realizaron un estudio de los niveles de Cu, Zn, Pb y Cd en los sedimentos y su distribución, llegando a la conclusión de que a medida que disminuye el tamaño de la partícula en los sedimentos, la concentración de estos metales aumenta. De esta forma, todos los metales se encontraron en elevadas concentraciones en la fracción de sedimento de tamaño de partícula <63 µm.

Gran parte del Cd que entra en la superficie acuática de efluentes industriales se absorbe rápidamente a las partículas de materia y se aposenta en sedimentos. Todos los estudios muestran que la concentración de Cd en sedimentos es, al menos, el doble que en la superficie de agua de contacto con sedimentos (Callahan *et al.*, 1979). Según estos autores, en los sedimentos, bajo condiciones anaeróbicas y en presencia de sulfuros, se puede formar CdS bastante insoluble. Sólo cuando se remueven grandes cantidades de sedimentos el CdS se puede transformar y liberar Cd al contacto con el ambiente aeróbico.

El Pb que penetra en los sistemas fluviales se retira pronto del agua superficial hacia los sedimentos, absorbiéndose a la materia orgánica y arcillas, precipitándose más tarde como sales insolubles (carbonato, sulfato y sulfuro de Pb). En los sedimentos reacciona con iones OH^- , aluminio y óxido de magnesio. Se acumula básicamente en las capas más superficiales (Schulz *et al.*, 1983).

El análisis de las concentraciones totales de metales sólo nos da información del enriquecimiento de metales en los sedimentos, pero no nos da una información directa sobre los efectos biológicos. Esto es debido al hecho de que las diferentes formas químicas de un metal en los sedimentos determinará su comportamiento en el medioambiente. Por el contrario, la extracción secuencial nos aporta información sobre la forma en que están esos metales pesados en los sedimentos y así deducir información sobre movilidad, ocurrencia y biodisponibilidad (Zhou *et al.*, 1998).

Zhou *et al.* (1998) analizaron sedimentos de 3 ríos de Hong Kong usando extracciones secuenciales para fraccionar los metales contenidos en los sedimentos en 6 grupos:

- Fracción de metales soluble en agua
- Fracción de metales intercambiable
- Fracción de metales en carbonatos
- Fracción de metales unidos a óxidos de Fe-Mn
- Fracción de metales en materia orgánica
- Fracciones de metales residuales

Los niveles en la fracción residual se pueden considerar como valores base de metales pesados en los sedimentos. Las fracciones soluble en agua, intercambiable y carbonato se consideran como medianamente biodisponibles para el medioambiente.

El Zn se concentró principalmente en la fracción residual (23-45%), óxido de Fe-Mn (24-38%) y carbonato (21-36%). El carbonato de calcio forma complejos con el Zn como dobles sales $\text{CaCO}_3\text{-ZnCO}_3$ en los sedimentos. Este fenómeno de coprecipitación con el carbonato puede ser un mecanismo importante de

eliminación del Zn cuando la fracción de materia orgánica y de óxidos de Fe son menos abundantes en los sistemas acuáticos.

El Cd se encontró principalmente en la fracción carbonato (34-61%) y en la fracción intercambiable (22-29%) y no se pudo encontrar en las fracciones de óxido de Fe-Mn ni en la fracción orgánica.

El Pb se concentró principalmente en la fracción residual (62-87%), mientras que la fracción óxido de Fe-Mn llevó entre el 8-22% del Pb total. Al igual que el Zn, el Pb forma complejos estables con el óxido de Fe-Mn haciéndose menos biodisponible.

En todos los sedimentos estudiados, sólo el Cu se observó en la fase soluble en agua. El mayor porcentaje (55-70%) estaba asociado con la fracción orgánica. Como media, el porcentaje de Cu asociado con las diferentes fracciones era en este orden: orgánica>residual>carbonato> Óxido Fe-Mn>intercambiable>soluble en agua.

Teóricamente, los iones libres de metales son la forma más biodisponible de los metales pesados aunque la concentración de los iones libres varía con el pH y las sustancias orgánicas. Asumiendo que la biodisponibilidad se relaciona con la solubilidad, las seis fracciones en orden decreciente de solubilidad serían: fracción soluble en agua>intercambiable>carbonato> óxido Fe-Mn>orgánica>residual, por lo que la disponibilidad de los metales decrece en ese mismo orden.

Tariq *et al.* (1996) determinaron el contenido de metales pesados en peces, sedimentos y agua del río Indus (Paquistán). De los datos observados en los sedimentos y agua se reflejó una posible correlación entre el contenido de metales pesados de peces y de sedimentos. De esta forma, los niveles en peces y en los sedimentos de la misma zona se elevaron o disminuyeron.

Miller *et al.* (1992) estudiaron la relación que existía entre el Cu y Zn del agua con los sedimentos, invertebrados bénticos y los tejidos de una especie de carpa chupadora (*Catostomus commersoni*) en zonas contaminadas. Las concentraciones de Cu en invertebrados se correlacionaron con las de agua ($r=0,857$) pero no con el sedimento ($r=0,595$), sugiriendo así que el agua juega un importante papel en la acumulación de metales en invertebrados. Por el contrario, las concentraciones de Zn en invertebrados se correlacionaron con sedimentos ($r=0,786$), pero no con las concentraciones en agua ($r=0,548$), sugiriendo por tanto que los sedimentos son la principal fuente de contaminación de Zn para invertebrados. Para ambos metales, la concentración en agua fue la que mejor se correlacionó con la contaminación en tejido de peces, mientras que pobremente lo hizo la concentración en sedimentos o invertebrados.

Gümgüm *et al.* (1994) realizaron un estudio sobre metales pesados (Zn, Pb y Cu) en sedimentos, agua y peces del río Tigris en Turquía.

	Zona I	Zona II	Zona III	Zona IV	Zona V
Zn sedimento	484	89	456	405	716
Zn agua	0,04	0,08	0,09	0,14	0,14
Zn peces-hígado	-	-	488±35	607±100	225±12
Zn peces-músculo	-	-	87±9,3	47±16,1	43±10
Pb sedimento	63	102	83	31	24
Pb agua	0,2	0,2	0,3	0,4	0,5
Pb peces-hígado	-	-	Nd	Nd	Nd
Pb peces-músculo	-	-	Nd	Nd	Nd
Cu sedimento	641	3433	1213	904	991
Cu agua	0,03	0,02	0,01	0,04	0,01
Cu peces-hígado	-	-	1641±62	1497±53	619±143
Cu peces-músculo	-	-	271±52	75±18	77±25

Tabla 32. Metales pesados (Zn, Pb y Cu) en sedimentos, agua y el pez *Cyprinus macrostomus* del río Tigris (Turquía). Valores expresados en ppm. (Nd= no detectable)

Según esta tabla, no existe una clara relación entre la cantidad de metales pesados hallada en sedimentos con la cantidad hallada en agua o peces (tal vez para el Cu), de tal forma que no se puede establecer correlaciones ni positivas ni negativas, y por ende, no se puede predecir el comportamiento de los metales pesados a partir de su determinación en sedimentos.

Livonen *et al.* (1992) no encontraron correlación alguna entre los niveles de metales pesados hallados en sedimentos y en agua de varios lagos de Finlandia.

Zhou *et al.* (1998) dividieron los sedimentos de agua dulce en varias fracciones, como antes se ha comentado. Estos autores estudiaron las relaciones de los metales en cada fracción (excepto la fracción soluble en agua) de sedimento con los metales en las diferentes órganos del pez usando una matriz de correlación de Pearson. La acumulación del Cu en hígado se relacionó estrechamente con la concentración de este metal en cada fracción de sedimento. La concentración de Zn en piel se relacionó con la fracción carbonato, óxido de Fe-Mn, orgánica y residual. El contenido de Pb en branquia, hígado, piel y músculo se relacionó con la fracción intercambiable de los sedimentos. En lo que se refiere al Cd, no hubo correlaciones significativas entre el contenido en los diferentes órganos del pez y los niveles hallados en los sedimentos.

Pardo *et al.* (1989) analizaron Zn, Cd, Pb y Cu en aguas de diferentes ríos de la provincia de Valladolid, con el fin de monitorizar la carga de metales pesados y, más importante aún, la forma en la que estos metales estaban en el agua.

El Zn se distribuyó entre el estado disuelto y unido a la materia suspendida. En el estado disuelto, la cantidad principal corresponde a la categoría de lábil y especie intercambiable con H⁺. Este comportamiento está de acuerdo con la tendencia usual del Zn, ya que tiene poca afinidad por la materia orgánica disuelta, principal agente que forma especies inertes en las aguas fluviales.

El Cd apareció mayormente en estado de disolución en especie lábil, pero no siguió un patrón definido en cada río.

El Pb se encontró principalmente unido a la materia suspendida.

El Cu siguió una tendencia parecida al Pb, ya que se presentó en la materia suspendida y unido a la materia orgánica disuelta como especie fuertemente inerte.

Especiación de metales	Zn	Cd	Pb	Cu
Lábil	15,3	37,2	6,7	3,5
Intercambiable con H ⁺	13,3	14,7	18,7	14,1
Fuertemente inerte	7,0	13,8	20,1	61,2
En materia suspendida	64,4	34,3	54,5	21,2

Tabla 33. Resumen de la forma de estado de metales pesados (expresado en %).

En general, los estudios coinciden en que el Cd se encuentra siempre en forma de Cd²⁺ en agua. Por consiguiente, el potencial redox tiene poco efecto en la valencia del Cd. En aguas naturales, el Cd puede ser encontrado de varias formas químicas, como Cd²⁺ o sus hidratos (Cd(OH)⁺), como complejos metálicos inorgánicos (Cd(HCO₃)⁺) y complejos metálicos orgánicos. Como otros metales, la dureza y el pH tienen efectos significativos y se sabe que hasta un pH de 9, casi todo el Cd soluble está en forma de catión divalente. Por encima de pH 9, el Cd(OH)₂ precipita (Callahan *et al.*, 1979).

En un estudio realizado por la EPA estadounidense, no se vio diferencia en la especiación del Pb entre las muestras filtradas y no filtradas, indicando que los complejos existen en la fase disuelta (U.S. EPA, 1977).

En cuanto a los factores de bioconcentración (BCF), para el Zn se han descrito unos BCF de 4.000 en plantas acuáticas, 40.000 para invertebrados acuáticos, 30.000 para larvas de quironómidos y 1.000 para peces de agua dulce (Camusso *et al.*, 1995).

Los BCF del Cd recogidos en la bibliografía son, para las plantas acuáticas de 1.000, invertebrados acuáticos de 4.000 y en peces, generalmente no supera el valor de 100, aunque en algún caso se haya llegado hasta 3.000 (Callahan *et al.*, 1979). Wren *et al.* (1995) determinaron el BCF para la trucha arco iris expuesta a

Cd a través de la comida, siendo menor a 1 cuando se midió la cantidad de Cd en todo el pez entero.

Pez	Compuesto	Tiempo (días)	BCF (todo el cuerpo)
Pez mosquito (<i>Gambusia affinis</i>)	Cloruro de Cd	180	2213
Trucha arco iris	Cloruro de Cd	70	33
Trucha de río	Cloruro de Cd	490	3
Trucha de río	Cloruro de Cd	84	151
Trucha de río	Cloruro de Cd	93	22 (músculo)

Tabla 34. Valores de BCF para el Cd (Cloruro de Cd) de algunos peces (U.S. EPA, 1985)

Los factores de bioconcentración para 4 especies de invertebrados de agua dulce expuestos a Pb variaron entre 499 a 1.700. Los peces no parece que acumulen Pb tan fácilmente como las especies de invertebrados de los que se alimentan, como lo indicaron los BCFs de 42 y 45 para la trucha arco iris y para la perca de agallas azules, respectivamente. Sin embargo, las especies de agua salada acumulan mucho más Pb que las especies dulceacuícolas. Por ejemplo, los BCFs para las ostras y almejas fueron de 1.400 y de 2.570 (Kayser y Sterling, 1982).

El BCF del Cu en peces obtenido en estudios de campo fue entre 10-100, indicando un bajo potencial para la bioconcentración. El BCF es mucho mayor para moluscos, especialmente en ostras, que pueden alcanzar valores de 30.000 (Perwack *et al.*, 1980).

--Niveles de metales pesados en aguas continentales

Generalmente, los niveles base de Zn en aguas superficiales suelen ser menores de 50 µg/L (US DHHS, 1993).

Estudios realizados en diversos cauces fluviales de varios países extranjeros detectaron los siguientes niveles de Zn disuelto:

Río	Zn	Autores
Adige (Italia)	4,4-13,4	Benfenati <i>et al.</i> , 1992
14 ríos Québec (Canadá)	14	Cuthbert y Kallf, 1993
La Rioja (Argentina)	0,01-4,7	Fernández <i>et al.</i> , 1995
Afluentes del Lago Michigan	1-41	Hurley <i>et al.</i> , 1996

Tabla 35. Niveles de Zn (µg/L) disuelto en agua dulce de varios países.

Actualmente se sugiere que la media de la concentración de Cd encontrado de forma natural en agua de ríos y lagos está en el rango de 0,01 a 0,07 µg/L o

incluso menor (Wren *et al.*, 1995). Sin embargo, en las proximidades de rocas naturales que contienen Cd pueden llegar a 10 µg/L.

Hutchinson y Stokes (1975) encontraron concentraciones de Cd en lagos contaminados del área de Sudbury (E.E.U.U.) que variaba entre los 3 y 20 µg/L, pero recientes mediciones sitúan los niveles entre 0,08 y 0,22 µg/L, lo cual indica un receso.

Otro estudio de ríos y lagos de E.E.U.U. sitúa los niveles de Cd de hasta 5,0 µg/L, con una media de 0,3 µg/L (Thornton, 1992).

Zaranyka y Ndapwadza (1995) realizaron un estudio de acumulación de diversos metales pesados en agua en dos ríos de Zimbabue. En el río Mukuvisi obtuvieron una media de 110, 4, 90 y 29 µg/L de Zn, Cd, Pb y Cu respectivamente y en el río Mányame midieron 130, 12, 160 y 3,2 µg/L de Zn, Cd, Pb y Cu respectivamente.

Manny *et al.* (1991) estudiaron la contaminación metálica en el lago Erie, encontrando valores relativamente bajos. Los valores para el Zn, Cd, Pb y Cu fueron 7078, 60, 100 y 1786 ppt, respectivamente.

En España, Pardo *et al.* (1989) realizaron un estudio de los niveles de metales pesados disueltos en ríos de la provincia de Valladolid encontrando valores de Zn comprendidos entre 10,7-55,7 µg/L, para el Cd de 0,6-6,5 µg/L, para el Pb de 1-16,1 µg/L y del Cu entre 1,6-14,1 µg/L, valores todos muy por debajo de los niveles máximos autorizados por la legislación española.

González *et al.* (1985) analizaron las aguas del río Guadimar y sus afluentes, en el Parque Nacional de Doñana en la que encontraron los siguientes niveles:

Localización	Zn	Cd	Pb	Cu
Zona río arenosa	9,63-23,76	0,4-0,78	1,48-3,09	7,96-17,2
Zona de marisma	7,45-895,37	0,09-2,84	1,04-23,17	13,51-53,81
Zona río cercana minas	12-3925	0,61-690	5,91-712,5	29,46-5.000

Tabla 36. Niveles de metales pesados disueltos (µg/L) en el Parque Nacional de Doñana.

Rico *et al.* (1989) realizaron un seguimiento de los niveles de metales pesados en aguas del río Guadimar y sus afluentes en el Parque Natural de Doñana y durante los años 1982-1986. En todos los muestreos, el Cd fue el metal que se encontró en menor concentración, con medias comprendidas entre 0,1-4,2 µg/L, la media de la concentración del Pb varió desde 1,4-41,6 µg/L, el Cu estaba comprendido entre 10,5-50,2 µg/L y el Zn entre 5,4-842 µg/L.

-Niveles de metales en plantas y algas acuáticas

Existen algunos estudios que hacen referencia a la acumulación de metales pesados por plantas acuáticas. Estos estudios tienen importancia porque muchas de ellas son consumidas por invertebrados acuáticos y después éstos ingeridos por peces, o las plantas acuáticas pueden ser directamente ingeridas por los peces. De esta forma interesa saber cuál será más o menos su patrón de acumulación para poder establecer correlaciones entre los niveles hallados en plantas y sus consumidores.

La incorporación de metales por plantas puede ser por agua, suelo, aire o una combinación de los tres, dependiendo del tipo de planta que sea (con raíces, sumergida o no). Lo más habitual es que los metales entren en la planta en su forma iónica. En las plantas acuáticas el proceso consiste en 2 pasos; absorción por las raíces y translocación a los tallos y hojas. La concentración relativa de los metales en las raíces y en las partes más altas depende de la velocidad de estos 2 procesos. A medida que la absorción por raíces es mayor que la velocidad en la translocación hacia tallos y hojas, la concentración de metales será mayor en las raíces que en las demás zonas de la planta.

Zaranyka y Ndapwadza (1995) realizaron un estudio de acumulación de diversos metales pesados en una planta acuática (*Eichhornia crassipes*) y en agua en dos ríos de Zimbabwe. En dicho estudio, los niveles de metales pesados eran superiores en las plantas que en el agua del río Mukuvisi y los BCFs variaron de unos metales a otros en este orden:

Elemento	BCF en Raíces	BCF en Tallos y hojas
Zn	1800	6100
Pb	100	430
Cu	480	2500
Cd	340	740

Manny *et al.* (1991) estudiaron la contaminación metálica en macrofitos acuáticos (alrededor de 2.796 Kg de metales combinados se transportan por los macrofitos al lago Erie) y lo proponen para monitorizar la carga contaminante de los ríos. Estos macrofitos, cuya especie, *Vallisneria americana* era la más importante, son arrastradas por los ríos y con ellas adheridas cargas importantes de metales pesados que sirven de comida a invertebrados acuáticos y peces.

En este estudio demostraron que la concentración de metales pesados era significativamente mayor en macrofitos que en las aguas de los ríos y que se encontraron niveles parecidos en macrofitos y sedimentos.

	Macrófitos	Agua	Sedimentos	Enriquecimiento respecto agua	Enriquecimiento respecto sedimentos
Zn	117,8	7078	272,7	16.600	-
Cd	5,2	60	2	86.700	2,6
Pb	16,1	100	65,6	161.000	-
Cu	31,1	1786	38	17.400	-

Tabla 37. Concentración de metales pesados en macrofitos (ppm), en aguas filtradas (ppt) y sedimentos (ppm).

-Niveles de metales pesados en invertebrados acuáticos

Los metales presentes en los tejidos de invertebrados nos documentan una ruta a través de la cual los metales se mueven hacia arriba en la cadena trófica. Tanto es así, que los invertebrados pueden influir en las concentraciones de los metales acumulados en los macroinvertebrados bénticos y por tanto en peces.

La concentración de metales difiere entre los grupos de macroinvertebrados bénticos, ya que todos no se alimentan de lo mismo. Hay macroinvertebrados que se alimentan filtrando sedimentos, ingiriéndolos o como herbívoros, alimentándose de pequeñas partículas de vegetal. De esta forma, uno debe ser cuidadoso en realizar comparaciones específicas de concentración de metales entre muestras de invertebrados combinados. Kiffney y Clements (1993) comprobaron que los invertebrados que se alimentaban de la biocapa acumularon mayores concentraciones de metales que otros grupos que se alimentaban de otros estratos.

En conclusión, la concentración de metales en macroinvertebrados bénticos se pueden comparar entre zonas diferentes siempre y cuando se obtengan muestras parecidas en talla y hábitos alimenticios.

-Distribución y niveles de metales pesados en peces

Los metales pesados pueden entrar en los peces por 3 posibles vías: a través de las branquias, considerada como la vía más directa e importante, a través de la ingestión de comida, también importante, y por último y con una importancia menor, a través de la superficie corporal (Amundsen *et al.*, 1997).

Los diferentes metales pesados tienen órganos más afines que otros a la hora de acumularse y la mayoría de los autores coinciden en resultados parecidos de patrones de acumulación.

El Zn se acumula principalmente en branquias si la vía de absorción es acuática, también se acumula en hígado, menos en riñón y poco en músculo.

Después de exponer truchas arcoiris al Zn durante 30 días en agua de río, se concluyó que el Zn se acumuló en branquias, hígado, riñón, hueso opercular y muy poco en músculo (Camusso *et al.*, 1995).

También se han visto elevadas concentraciones de Zn en huesos, ya que este metal está involucrado en su formación. En el tejido esquelético, la deposición de Zn se hace en la matriz de fosfato cálcico insoluble por lo que no es fácilmente movilizado, lo que contribuye al reforzamiento de la utilidad de medir Zn en huesos como indicador de contaminación a largo plazo.

Incluso dentro de cada órgano la distribución de los metales no es por igual en la célula. Según Shen *et al.* (1998), el Zn se encuentra más asociado con la fracción citosólica de la célula (ultrasobrenadante de 105.000g: 61-62%), mientras que el Cu y el Cd están principalmente asociados al precipitado resultado de centrifugar a 15.000 g, que contiene núcleos y tejido conectivo (49-61%).

El Cd elige como órgano de concentración mayor el riñón, pero también en menor cantidad en hígado, branquia y como último el músculo. Los organismos marinos generalmente contienen residuos más elevados de Cd que sus congéneres de agua dulce u organismos terrestres (WHO, 1992).

Los niveles relativos de Cd son mucho mayores en hígado que en todo el pez o músculo. El riñón tiende a acumular más Cd que el hígado (McCracken, 1987).

El Pb se acumula más en hígado, branquias (si la vía de absorción es acuática), menos en riñón y también poco en músculo.

La ingestión de Pb por los peces alcanza el equilibrio sólo después de varias semanas de exposición. Cuando el Pb se acumula, mayormente lo hace en branquias, hígado, riñón y huesos. Los huevos de los peces muestran niveles mayores de Pb cuando se incrementa la concentración de la exposición, existiendo indicaciones de que el Pb se presenta en la superficie de los huevos, pero no se acumula en el embrión.

Tras la exposición crónica (21 días) en trucha arco iris (*Salmo gairdneri*) con dosis subletales (<2,4 mg/L) de Pb, la concentración más elevada de Pb se encontró en hueso opercular, seguido de branquias y riñón, mientras que la acumulación en cerebro no se vio claramente (Hodson *et al.*, 1978).

El Cu se acumula básicamente en hígado, aunque también se detectan niveles en riñón, menos en branquia y poco en músculo. En mamíferos, se ha sugerido que el hígado juega el mayor papel en la protección de exposiciones crónicas a Cu al producir metalotioneínas y al actuar como lugar de almacenamiento.

En un estudio realizado por Robinson y Avenant-Oldewage, (1997) en la tilapia (*Tilapia mossambica*) se vio que el hígado acumuló la mayor cantidad de Cu con

respecto a otros órganos, seguido de las branquias, mientras que el músculo tiene pocas propiedades acumulativas. Esta elevada concentración de Cu se atribuye a la unión de éste con las metalotioneínas para formar complejos como mecanismos de detoxificación.

Resultados similares respecto a la ausencia de acumulación en músculo fueron observados por Griffin *et al.* (1997), al exponer peces bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) a concentraciones de 1,7, 2,7 y 3,6 mg/L de sulfato de Cu durante 10 semanas. Parece ser que el músculo posee mecanismos homeostáticos que resisten la tendencia a absorber el exceso de Cu presente en el medio ambiente u otros tejidos.

El Cu hepático se incrementó rápidamente en salmones expuestos a 140 µg/L de Cu, alcanzando 5 veces la concentración del grupo control a las 4 semanas. Salmones expuestos a 70 µg/L de Cu también concentraron de forma significativa más Cu que los animales control (Buckley *et al.*, 1982).

En las branquias, la concentración de Cu fue mucho menor que en hígado pero mayor que en los peces control. Los niveles de Cu en riñón fueron mucho menores que en hígado e incluso los valores encontrados en los peces intoxicados fueron parecidos a los controles, sugiriendo que el riñón no juega un papel importante en la detoxificación del Cu. La única diferencia en la concentración de Cu en plasma entre peces control y expuestos se observó en momentos iniciales de exposición a 140 µg/L de Cu y a las 2 semanas los niveles volvían a valores normales (Buckley *et al.*, 1982).

Shen *et al.* (1998), al determinar las concentraciones de metales en tejidos del pez tilapia (*Tilapia mossambica*), el Cu y el Zn se encontraron en mayor concentración en hígado y branquia respectivamente.

En un estudio realizado sobre las poblaciones naturales del pez raspallón (*Diplodus annularis*) recogidos en el golfo de Gabes (Túnez) se encontró que los niveles mayores de Cd y Cu se hallaron en hígado, mientras que las gónadas poseían mayores concentraciones de Zn, explicables por el hecho de que juega un papel fisiológico esencial en la fertilización y se almacena de reserva en los oocitos femeninos. De esta forma, concluye que las concentraciones de Cd y Cu en el hígado se pueden ser utilizados para biomonitorizar el medio que los circunda (Hamza-Chaffai *et al.*, 1996).

De estos estudios se concluye que el hígado es un órgano de acumulación de metales pesados, el riñón, como órgano filtrador también los retiene, las branquias, directamente expuestas cuando la contaminación es a través del agua, son la primera barrera defensiva y como tal tienen capacidad para retener metales, y por último, el músculo como órgano que no juega un papel esencial en la acumulación de los metales pesados en peces.

Dentro del Programa Nacional de Biomonitorización de Contaminantes, la media encontrada de Zn en varios peces enteros de E.E.U.U. fue de 21,7 µg/g (U.S. DHHS, 1993).

Peces que se alimentan del fondo o sedimentos recogidos de varios puntos de E.E.U.U. tenían una media de concentración de Zn de 36 µg/g (Kidwell *et al.*, 1995).

Otros autores citaron que la media de concentración de Zn estuvo entre 3 y 8 µg/g, con ciertos peces conteniendo hasta 25 µg/g (Allen-Gil *et al.*, 1997). En la trucha marrón (*Salmo trutta*) se detectaron niveles de Zn entre 72-130 µg/g, en la perca flavescens (*Catostomus commersoni*) 61-139 µg/g y en carpas 320-1,321 µg/g recogidas en el Río South Platte (E.E.U.U.) (Heiny y Tate, 1997).

Peces recogidos en lagos de Alaska contenían concentraciones de Zn de entre 89-170 µg/g (hígado) y 17-35 µg/g (músculo) (Allen-Gil *et al.*, 1997).

En el Lago Tanganika (Burundi), los peces recogidos contenían concentraciones de Zn entre 4-30 µg/g (Benemariya *et al.*, 1993). En peces del Río Benue (Nigeria) se detectaron concentraciones de 34-40 µg/g.

Carpas de Australia contenían una media de 16 µg/g de Zn en músculo (Gibbs y Miskiewicz, 1995).

En nuestro país, Anadon *et al.* (1984) realizaron un estudio sobre la distribución de metales pesados en la trucha de río de diferentes regiones fluviales de España:

	Zn	Pb	Cu
Río Moros (Segovia)	330±23	91±6,4	145±9,8
Río Ason (Santander)	246±19.8	9,2±1,7	1011±134
Río Arlanzón (Burgos)	2,4±0,5	-	26±6,9
Río Guadalaviar (Teruel)	19±2,3	-	46±11,5

Tabla 38. Niveles de metales pesados (µg/g de peso seco) en hígado de trucha de río (*Salmo trutta fario*).

Los autores llegaron además a varias conclusiones, como que la distribución de Zn alcanzó los mayores niveles en branquias seguido de hígado, gónadas y músculo. En el caso del Cu el hígado presenta las mayores concentraciones, seguido de branquias, gónada y músculo y el Pb con igual distribución.

	Zn	Pb	Cu
Hígado	330 ± 23	91 ± 6,4	145 ± 9,8
Músculo	36 ± 8	5,5 ± 12	16 ± 3
Branquia	421 ± 16,85	29 ± 5,2	143 ± 8,4
Gónadas	79 ± 5,2	67 ± 6,9	46 ± 11,5

Tabla 39. Niveles de metales pesados ($\mu\text{g/g}$ de peso seco) en trucha de río (*Salmo trutta fario*) de Río Moros (Segovia)

Sánchez-Galán *et al.* (1998) realizaron un estudio de los niveles de Cd, Pb y Cu en la trucha de río (*Salmo trutta*) y la anguila europea (*Anguilla anguilla*) en dos ríos de Asturias llegando a varias conclusiones:

- Los patrones de acumulación fueron: el hígado de las dos especies acumuló más Cu y Cd y luego Pb, pero en cualquier caso mayores contenidos que en el músculo.
- La anguila europea, además, acumuló mayores cantidades de metales pesados que la trucha de río.
- En las dos especies encontraron niveles por encima de los máximos tolerados por la legislación española citados en este trabajo (20 $\mu\text{g/g}$ para Cu; 3 $\mu\text{g/g}$ para Pb y 1 $\mu\text{g/g}$ para Cd referidos en peso fresco).
- En términos generales, los niveles hallados tanto en músculo como hígado reflejaron el contenido de metales en el medio ambiente.

	Órgano	Metales	Río Ferreira	Río Raíces
Trucha de río	Hígado	Cu	70,41±65,1	69,18±60,47
		Pb	0,275±0,29	0,05±0,037
		Cd	0,98±0,41	0,223±0,19
	Músculo	Cu	0,278±0,13	0,22±0,034
		Pb	0,026±0,026	0,001±0,00
		Cd	0,024±0,014	0,006±0,008
Anguila europea	Hígado	Cu	5,27±2,28	5,56±2,63
		Pb	1,93±1,57	0,14±0,076
		Cd	1,41±0,57	0,46±0,29
	Músculo	Cu	0,29±0,14	0,21±0,09
		Pb	0,108±0,096	0,001±00
		Cd	0,067±0,08	0,012±0,004

Tabla 40. Niveles de metales pesados ($\mu\text{g/g}$ tejido fresco).

Hernández *et al.* (1992) realizaron un estudio de metales pesados en el área del Mediterráneo Español. Según estos autores, los niveles de Cd que se detectaron en los peces eran elevados (50-500 ng/g p fresco), probablemente debido a las industrias de cerámica del área cercana. Los niveles de Pb eran generalmente

bajos, aunque en alguna situación puntual se elevaran hasta 350 ng/g peso fresco.

Miller *et al.* (1992) no encontraron diferencias entre las concentraciones de Cu y Zn en el hígado, riñón, branquia y huesos (sólo en el caso de Zn) de peces de diferentes lagos. Este estudio sugiere que el hígado y el riñón son mejores órganos indicadores de exposición crónica a Cu y Zn que el músculo.

3.4.- FACTORES QUE AFECTAN LA ACUMULACIÓN DE METALES PESADOS EN PECES

El medio acuático puede ser dividido en tres compartimentos principales: agua, sedimentos y organismos vivos. Los elementos metálicos naturalmente presentes en el medio ambiente o introducidos artificialmente por las actividades humanas se reparten en estos compartimentos en función de diferentes mecanismos de naturaleza química, física o biológica. Los intercambios entre estos compartimentos estarán influenciados por las variaciones de los factores ecológicos abióticos (características físico-químicas del agua y de los sedimentos) o bióticos (hábitat, régimen alimentario, naturaleza y cantidad de alimento disponible) y por las variaciones del débito fluvial según las estaciones y fluctuaciones climatológicas (Anadon *et al.*, 1984).

Vía de entrada de los metales pesados. Ingestión *versus* absorción de agua

Anteriormente se dijo que el Zn se acumula mucho en branquias, por lo que es lógico pensar en que la ruta de absorción branquial es muy importante. El Cu, que está sobre todo unido a la materia orgánica suspendida en el agua, se acumula mucho más en el hígado y por lo que es más razonable pensar que la vía alimenticia es más enriquecedora de este metal.

En un estudio realizado por Clements y Rees (1997) se observó que los niveles de metales pesados (Zn, Cd y Cu) en hígado y riñón de truchas expuestas a concentraciones superiores no resultaron ser mayores que aquéllas menos expuestas, lo que demuestra una pobre relación entre los niveles de metales pesados en agua y tejidos de peces.

El Cd se absorbe en los peces a través del agua o de la dieta. Sin embargo, los estudios han demostrado que el agua es la primera fuente de ingestión, y la dieta juega un papel secundario (McCracken, 1987).

Cearly y Coleman (1974) demostraron que la concentración de Cd en el pez sol (*Lepomis Macrochirus*) y lobina negra (*Micropterus Salmoides*) alcanzó un equilibrio entre la concentración tisular y en agua al cabo de 2 meses de exposición. Este patrón de acumulación está relacionado en parte con la interdependencia de ingestión y eliminación de los elementos.

Kock *et al.* (1998) examinaron la concentración de Pb en el salvelino alpino (*Salvelinus alpinus*) en dos lagos cercanos y a lo largo del año. Existieron diferencias significativas en las concentraciones de Pb de varios tejidos del pez entre los dos periodos de muestreo (invierno y verano). En uno de los lagos, la concentración de Pb encontrada en branquias fue mayor en verano que en invierno, indicando que las branquias son la vía más importante de entrada de Pb en esta época. Durante el invierno, sin embargo la diferencia disminuye ganando importancia la entrada de Pb por vía digestiva.

Así, estos autores proponen que, para valorar la contribución relativa de los diferentes medios de absorción de los metales pesados, se mida la concentración de Pb en branquia, estómago e intestino y se establezca una relación.

En contraste con los compuestos inorgánicos del Pb, los compuestos alquílicos de Pb se absorben rápidamente por los peces y se eliminan también rápido una vez que los peces se dejan de exponer a estos compuestos (WHO, 1979).

Dieta

La dieta y hábitos alimenticios puede condicionar los niveles de metales pesados ingeridos. Kock *et al.* (1998) encontraron una correlación positiva entre el contenido de Pb de la ingesta y sus niveles en estómago e intestino del pez *Salvelinus alpinus*. Sin embargo, la concentración de Pb en estómago e intestino fue menor en verano que en invierno. Esta diferencia refleja el marcado carácter estacional de los componentes de la dieta. En invierno más del 85% de la dieta consumida eran larvas de quironómidos y en verano los contenidos de su dieta eran predominantemente por otros invertebrados, con menos carga de metales pesados.

Hodson *et al.* (1978) realizaron un estudio de exposición crónica de Pb²⁺ añadido en la comida de truchas arco iris (*Salmo gairdneri*). Pudieron comprobar que el Pb añadido en la dieta no fue asimilado por las truchas, de tal forma que la mayoría del Pb consumido en dieta se eliminó en las heces.

El Cu en la dieta influye en los contenidos de Cu en hígado del pez gato (*Ictalurus punctatus*), hasta el punto de existir una correlación directa y elevada entre la concentración de Cu en dieta y los niveles de Cu acumulados en hígado (Griffin *et al.*, 1997).

Estación del año

La estación del año no es un factor que influya de forma directa en la acumulación de metales pesados en los peces. Son otros factores relacionados con los cambios estacionales, como la composición de la dieta (comentada anteriormente) y las precipitaciones (agua de escorrentía) las que más influyen.

La primavera es el periodo de entrada de agua de los afluentes de ríos importantes debido sobre todo a la descongelación de la nieve y las lluvias. Por consiguiente, la carga potencial de metales pesados de fuentes externas existe, tanto en el agua, como la absorbida por los peces.

González *et al.* (1983) observaron que los niveles de Cd, Pb, Zn y Cu aumentaron drásticamente en aguas del Parque Nacional de Doñana en el otoño, tras una fuerte sequía, por lo que se deduce que las precipitaciones son uno de los factores que afectan en mayor grado a la concentración de metales pesados solubles.

Besser *et al.* (1999) evaluaron la concentración de Zn y Cu en peces *Pimephales promelas* en ríos de Colorado afectados por descargas mineras. Las aguas transportaban más carga de efluentes en primavera, pero en invierno la concentración de Zn y Cu disueltos en el agua eran mayores, aumentando la concentración de estos metales en órganos de los peces y como consecuencia, aumentando la toxicidad.

Este mayor aporte de metales a las aguas naturales en primavera es crítico porque varias especies de peces frezan en áreas de agua dulce de los afluentes y los estadios incipientes de desarrollo de un pez son susceptibles a los impactos directos de metales como el cobre y cadmio o de impactos indirectos si las fuentes de alimentos -zooplancton- se encuentran contaminadas (Hall *et al.*, 1998).

pH del agua

El pH del agua influye en el sentido que determina la proporción del metal total que está en forma catiónica, que es la que generalmente se considera tóxica para las especies piscícolas. Además, los iones H⁺ compiten con los sitios de unión de metales pesados en las branquias de los peces. Los trabajos científicos que estudian esta relación encuentran que a medida que disminuye el pH acuático, los metales pasan a formas iónicas más fácilmente absorbibles por los peces y otros organismos.

En un estudio realizado por Livonen *et al.* (1992), en varios organismos de lagos de agua dulce próximos entre sí, descubrieron que existía una diferencia en la acumulación de metales en organismos de los lagos debido, sobre todo, a una diferencia de pH en el agua. Tanto en el caso de plantas acuáticas (*N. luteum* y *Sparganium spp*), como de peces (*Esox lucius*, *Perca fluviatilis*, *Coregonus spp*), los niveles de Pb, Cd, Zn y Cu fueron mayores en el lago Kaitajärvi o Suo-Valkeinen que en resto debido a que tenían el pH del agua más ácido.

Generalmente, el contenido de Pb encontrado en los tejidos de peces no se correlaciona con los niveles de Pb encontrados en agua de los lagos. Esta

diferencia, según Kock *et al.* (1998) puede ser debido sobre todo a fluctuaciones estacionales de pH del agua. A pH <5,5 el ión libre de Pb es más disponible.

Kock *et al.* (1998) realizaron un estudio sobre las variables que afectaban la acumulación de Pb en tejidos de peces en aguas naturales. En un lago donde la diferencia de pH no resultó ser mucha (pH 5,3-5,5) a lo largo del año, y que llevaba a elevadas proporciones de Pb^{2+} constantes, era rápidamente absorbible por las branquias de los peces, aumentándose la absorción al ayudarse por el incremento de temperatura durante el verano. En otro lago, el pH cambió de ácido (6,3) en invierno a ligeramente alcalino (pH 7,1) en verano conduciendo a un descenso de la disponibilidad de Pb en agua, compensando el efecto del aumento de temperatura sobre la absorción de Pb a través de branquias.

Concentración de sales en agua

El Ca sobre todo y menos el Mg, compiten con los mismos sitios de unión que los metales pesados, sobre todo en las branquias de los peces. De esta forma existirá una relación negativa entre los iones de Ca y Mg del agua (dureza) y la asimilación de metales pesados.

Este efecto ha sido bien estudiado en la acumulación del Cd y Cu. Sin embargo, Hollis *et al.* (1997) concluyeron que el efecto protector del Ca es a corto-medio plazo y no a largo plazo como puede ser el efecto protector del pH o de la materia orgánica.

Bajos contenidos en Ca y Mg en aguas pueden resultar en mayor acumulación de metales a través de las branquias como así lo demostró Livonen *et al.* (1992) al comparar los niveles de Pb, Cd, Zn y Cu encontrados en diferentes especies de peces en distintos lagos con diferentes concentraciones de Ca y Mg.

Concentración de materia orgánica disuelta (DOM)

El efecto protector de la DOM ocurre a causa de la formación de complejos DOM-metal pesado, reduciendo la cantidad de metal libre en el agua. Los complejos DOM-metal no se unen a las branquias.

No todos los metales se unen a la materia orgánica con la misma afinidad. El Cu es el que más se une con diferencia, seguido del Cd, Pb y Zn.

Hollis *et al.* (1997), estudiando la unión del DOM-Cu, concluyeron además, que el efecto protector de la DOM perdura y es a largo plazo.

Diferencias Interespecíficas

Existen diferencias de acumulación de metales entre las distintas especies. Esto ha sido comprobado por casi todos los estudios realizados sobre acumulación de

metales en diversas especies que comparten el mismo hábitat (Amundsen *et al.*, 1997). A grandes rasgos, las diferencias de acumulación entre especies parece estar relacionado con el estatus trófico que ostentan.

Diferencias entre sexos

Shen *et al.* (1998), al determinar las concentraciones de metales en tejidos del pez tilapia (*Tilapia mossambica*), no encontraron diferencias significativas entre machos y hembras.

Sin embargo, otros autores sí parecen encontrarlas. Así, Bobori y Economidis (1996) encontraron que los machos de la perca (*Perca fluviatilis*) tenían niveles de Cd, Pb y Zn significativamente más altos que las hembras, no ocurriendo lo mismo con el Cu, el cual no tenía diferencias.

Resultados similares fueron encontradas por Chernoff y Dooley (1979) para el Zn y Cu, no así para el Cd, atribuyéndolo al efecto de dilución causado por la masa de huevos de las hembras.

Lo que sí está claro es que las hembras y los machos poseen diferencias entre el ritmo de crecimiento y condiciones fisiológicas que pueden influir en la acumulación de los metales.

Se ha sugerido que la acumulación de Cu tiene variaciones dependientes del género en algunos peces. El pez *Castostomus commersoni* acumula mayor concentración de Cu en hígado y gónadas de hembras que en machos (Miller *et al.*, 1992), lo que sugiere que estas diferencias sexuales existen en base a un mecanismo de homeostasis de metales.

Lo cierto es que, aunque puedan existir diferencias de acumulación de metales pesados con respecto al sexo, estas diferencias se dan con ciertos metales y en ciertos órganos, como es el caso sobre todo de Cu y Zn en hígado.

El músculo es un órgano que generalmente no acumula grandes cantidades de metales pesados en peces, por lo que la diferencia de niveles entre sexos es algo que está por demostrar. Griffin *et al.* (1997) expuso peces gato (*Ictalurus punctatus*) a 1,7-3,6 mg/L de sulfato de Cu durante 10 semanas no hallando diferencias de acumulación de Cu en músculo de ambos sexos.

En la mayoría de los vertebrados, el Zn hepático está en el rango de 200-600 nmol/g tejido fresco (Hogstrand *et al.*, 1996). Por el contrario, varios miembros de la familia de los peces rompemejillones (Holocentridae) acumulan Zn en el hígado en niveles extremadamente elevados (hasta 70 μ moles/g). Con la excepción de la retina de los vertebrados, estos son los mayores niveles de Zn encontrados en cualquier tejido de los vertebrados.

Hogstrand *et al.* (1996) realizaron un estudio sobre la acumulación de Zn en el rompemejillones (*Pargus auratus*) llegando a varias conclusiones:

- La acumulación de Zn en hígado del pez es específico de las hembras, mientras que los machos poseen niveles típicos del resto de vertebrados. De ocho tejidos examinados, sólo las gónadas de las hembras mostraron una concentración elevada de Zn, que fue mucho más alta que en otras especies de peces. Este hecho no está relacionado con las preferencias en los hábitos alimenticios.
- La inyección de 17 β -estradiol resultó en una disminución del Zn hepático mientras que el contenido en Zn ovárico se incrementó, indicando que el Zn puede ser transferido desde el hígado a los ovarios.
- Los hepatocitos de las hembras transportaban Zn a mayor velocidad que los de los machos, en ambas direcciones de la membrana, lo que puede explicar la habilidad de las hembras para asimilar mayores cantidades de Zn en hígado.
- Las hembras de rompemejillones tienen al menos 2 polipéptidos que unen Zn que pueden servir para aumentar la capacidad de su almacenaje. Hasta el 70% del Zn en el hígado del pez se une a las metalotioneínas, cuyos niveles se correlacionan con los niveles de Zn hepático. Los niveles de estas metalotioneínas en hembras son superiores a los de los machos y tienen una localización subcelular diferente. Se considera una proteína citosólica en machos y en hembras se encuentra en casi su totalidad en el núcleo.

Tamaño corporal

Generalmente, la relación entre la concentración de metal en el pez y el tamaño del cuerpo es negativa, pero la relación no suele ser significativa. En la literatura existen relaciones positivas, negativas o sin relación alguna. En general, los cambios en la tasa metabólica relacionada con el crecimiento en peces y la estación, así como las variaciones en la biodisponibilidad de los metales en el medio con respecto al tiempo, la proporción superficie/volumen y el crecimiento están entre los factores responsables para dichas relaciones (Bobori y Economidis, 1996).

Vinikour *et al.* (1980) realizaron un estudio exhaustivo de la relación entre el tamaño del pez y la acumulación de Zn, Cd, Pb y Cu en todo el pez. Estos autores llegaron a la conclusión que existía una relación negativa entre estas dos variables en todas las especies estudiadas: *Lepomis macrochirus*, *Pomoxis nigromaculatus*, *Ictalurus melas* y *Perca flavescens*. Algunas de las causas de falta de correlación son:

- Se forma mayor cantidad de tejido en comparación con la cantidad de metal que se ingiere, o lo que es lo mismo, peces que crecen a un ritmo rápido y no están excesivamente expuestos a metales pesados o éstos no aumentan su concentración en el medio.
- Cuando el pez crece, existe una menor proporción de víscera, que es donde mayormente se acumulan los metales pesados.
- Cambios en los hábitos alimenticios.

Farag *et al.* (1998) realizaron un estudio en salmónidos relacionando la carga metálica con los hábitos alimenticios. Llegaron a la conclusión que las concentraciones de metales son inversamente proporcionales al tamaño del pez, de esta forma, las primeras fases de desarrollo de peces son más sensibles a la acumulación de metales pesados por dos razones: los salmónidos jóvenes (<100 mm) se alimentan exclusivamente de insectos, zooplancton e invertebrados de talla más pequeña, mientras que los peces más grandes se alimentan de otros peces y de invertebrados mayores por lo que reciben dosis menores de metales pesados.

Se ha observado que las concentraciones de Zn en el músculo de perca (*Perca fluviatilis*) y del pez blanco (*Coregonus lavaretus s.l.*) disminuyen conforme la longitud del pez aumenta (Amundsen *et al.*, 1997). Esto puede ser debido, en parte, al diferente grado de adsorción en el intestino, o que exista un mayor rendimiento de excreción en los peces más viejos (Patric y Loutit, 1978).

El Zn es un elemento esencial y está controlado homeostáticamente, por lo que esta correlación negativa entre la concentración del metal y el tamaño del pez puede ser resultado de una regulación homeostática. Por otro lado, también puede estar relacionado con los ritmos de absorción del Zn a través de branquias. El Zn es el único elemento que se encontró en elevadas concentraciones en las branquias con respecto a músculo o hígado. Estas altas concentraciones son indicativas de la ingestión a través de branquias. El área de las branquias disminuye a medida que aumenta el tamaño del pez, de esta forma, puede resultar una gran absorción de Zn en peces más pequeños.

Variaciones estacionales

En general, en las aguas, todos los metales se muestran en mínimas concentraciones en mayo y máximas en invierno para el Cd, Pb y Zn y principios de primavera para el Cu. Las variaciones estacionales en el contenido de metales en peces dependen de varios factores difícilmente diferenciados.

Papagerogiou (1977) encontró en la perca (*Perca fluviatilis*), que las gónadas suponían el 11% del total del peso corporal. Considerando que los metales se acumulan en gónadas más que en músculo, es obvio que después del periodo de freza es esperado que disminuyan los niveles de metales pesados. Según Bobori y Economidis (1996), en la perca, las mayores concentraciones de Cd, Pb y Zn se observaron antes de periodo de freza (marzo a abril) atribuyéndose a una mayor actividad metabólica durante este periodo. El incremento de las concentraciones de metales en tejidos durante julio-septiembre se puede atribuir a un aumento en la ingestión de metales, como consecuencia del aumento de la temperatura.

3.5.- TOXICIDAD DE METALES PESADOS PARA LOS PECES

Se podría establecer tres umbrales críticos para el contenido de metales: un primer umbral, a nivel de trazas, donde los metales esenciales juegan su papel de activadores enzimáticos indispensables en el metabolismo; un segundo umbral, que determina una absorción pasiva, donde los metales van acumulándose en ciertos órganos; y un tercer umbral, incompatible con los fenómenos vitales, que desencadena procesos de defensa que tienden a disminuir la permeabilidad y el paso de estos metales a través de las membranas celulares (Labat *et al.*, 1974).

El segundo y tercer umbral han dado pie a numerosos estudios para dilucidar por un lado los efectos subletales y toxicidad crónica que se derivan de bajas acumulaciones y, cuando la concentración de metales es más elevada, realizar estudios de toxicidad aguda.

La toxicidad de los metales pesados está muy influida por las condiciones del test y las especies elegidas, como se verá a lo largo de este capítulo. Estas consideraciones se deben de tener en cuenta, sobre todo, a la hora de comparar la toxicidad relativa entre varios estudios.

Toxicidad del zn

La especiación química y su toxicidad relacionada no están del todo comprendidas, sin embargo, existe evidencia de la toxicidad de ciertas formas de Zn.

El ión hidratado $Zn^{2+}-(H_2O)_6$ predomina sobre otras especies solubles (excepto en aguas con elevada dureza y pH superiores a 7,5) y se sospecha que este ión es el más tóxico, pero no el único, ya que existen estudios que revelan toxicidad del Zn con pH y dureza del agua elevados, en cuyo caso la especie carbonato de Zn suspendido parecía que aportaba cierta toxicidad. Pero la toxicidad disminuye cuando existen condiciones adecuadas para la formación de hidróxido de Zn ($Zn(OH)_2$), que no es relativamente tóxico (Spear, 1981).

El rango de valores de toxicidad aguda para organismos de agua dulce varía desde 90-38.100 $\mu g/L$ y es muy similar entre peces e invertebrados. Los resultados de test crónicos también indican un rango amplio de valores, entre 47 a 852 $\mu g/L$, pero a pesar de este rango, no parece que la dureza del agua afecte mucho sobre la toxicidad del Zn en peces (EPA, 1980).

Thompson *et al.* (1980) realizaron un estudio de toxicidad del Zn ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) en la perca de agallas azules (*Lepomis macrochirus*), estableciendo una CL-50 a 96 h en el Zn de 3,2 mg/L .

Según Anadon *et al.* (1984), la CL-50 a 96 h del Zn para salmónidos es de 1 mg/L, aunque las concentraciones letales pueden variar desde 0,01 hasta 10 mg/L dependiendo de las especies y dureza del agua.

Los datos relativos a CL-50 del Zn hallados por diversos autores aparecen en la siguiente tabla

Pez	Toxicidad	CL-50 (mg/L)	Autores
Trucha arco iris (<i>Salmo gaidneri</i>)	CL-50 48h	4,76	Solbe, JF, 1974
Trucha arco iris	CL-50 96 h	4,6	Hazardous Chemical Data, 1985
Anguila japonesa (<i>Angilla japónica</i>)	CL-50 24h	29	Cruz y Muroga, 1985
“	CL-50 48h	14	
“	CL-50 96 h	11	
Tilapia (<i>T.mossambica</i>)	CL-50 96 h	24,3	Lam <i>et al.</i> 1998
Carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>)	CL-50 96 h	17	Lam <i>et al.</i> 1998
Perca agallas azules (<i>Lepomis macrochirus</i>)	CL-50 96 h	3,2	Thompson <i>et al.</i> , 1980
<i>Trucha arcoiris</i>	CL-50 96 h	0,41 a 0,83	US-EPA, 1987
Carpita cabezona (<i>Pimephales promelas</i>)	CL-50 96 h	0,396 a 3,10	US-EPA, 1987
<i>Jordanella floridae</i>	CL-50 96 h	1,50	US-EPA, 1987
<i>Poecilia reticulata</i>	CL-50 96 h	1,74	US-EPA, 1987
<i>Salvelinus fontinalis</i>	CL-50 96 h	2,12 a 2,24	US-EPA, 1987
Perca agallas azules (<i>Lepomis macrochirus</i>)	CL-50 96 h	3,31 a 3,57	US-EPA, 1987
Salmónidos	CL-50 96 h	0,1-10	Anadon <i>et al.</i> , 1984

Tabla 41. Toxicidad del Zinc (Cloruro de Zinc) en diversos peces.

Toxicidad del cadmio

En el medio acuático, los crustáceos parecen ser los más sensibles, seguido de los moluscos y poliquetos (Sadiq, 1992). Los organismos marinos son menos sensibles a la toxicidad del Cd disuelto que los organismos de estuario o de agua dulce.

Probablemente es el metal de los más biotóxicos que existen. Cuando se absorbe a través de la ingesta o por agua, el Cd puede dañar el riñón, pulmón, esqueleto, testículos y sistema nervioso central (Chang y Cockerham, 1994). Como el riñón acumula Cd selectivamente, el fallo renal suele ser la lesión más principal y temprana.

En peces, el Cd afecta a varios sistemas enzimáticos, como los involucrados en la neurotransmisión, transporte transepitelial, metabolismo intermediario, actividad antioxidante y oxidasas de función mixta. También se han visto deformidades en el esqueleto a exposiciones de bajo nivel.

El mecanismo de acción más conocida es que el Cd interacciona con el metabolismo del Ca en los animales. Una respuesta común en vertebrados ante la exposición de Cd es la hipocalcemia, relacionada con el flujo de calcio (Hall *et al.*, 1998). En peces causa hipocalcemia, probablemente al inhibir la ingestión de Ca del agua. Sin embargo, elevadas concentraciones de Ca en el medio acuático protegen de la ingestión de Cd.

La toxicidad es variable en los peces, pero se sabe que los salmónidos son particularmente sensibles. Los estados embrionarios y tempranos de larvas son los más sensibles, mientras que los huevos son los menos sensibles (WHO, 1992).

La CL-50 a 96 h del Cd en salmónidos es cercana a 1 µg/L (Pickering *et al.*, 1989). En la trucha arco iris la CL-50 a 96 h es de 0,5 µg/L (Hall *et al.*, 1998) y según la WHO (1992), la CL-50 a 96 h la establece en 6,6 µg/L.

Wren *et al.* (1995) citan que la CL-50 a 96 h para salmónidos está entre 1 y 29 ppb. Otras especies de peces parecen ser más tolerantes al Cd, ya que la CL-50 a 96 h para varias especies de ciprínidos (*Lepomis macrochirus*, *Ptychocheilus oregonensis*) resultó estar entre 1.092 a 6.500 ppb.

La US-EPA (1985) recogió los siguientes datos de toxicidad del Cd, en forma de cloruro de Cd:

Pez	CL-50 (µg/L)	Tpo (días)	mg/L CaCO₃	T^a (°C)
Salmón plateado (<i>Oncorhynchus Kisutch</i>)	2	217 h	22	
Trucha arco iris (<i>Salmo gairdneri</i>)	10-30	10	125	18
Trucha arco iris	30	10	125	12
Trucha arco iris	10-30	10	125	6
Trucha arco iris	16,6	8	82	15
Carpitas cabezonas (<i>Primiphales promelas</i>)	80,8	96 h	63	
Carpitas cabezonas	40,9	96 h	55	
Carpitas cabezonas	80,8-135	96 h	62-66	

Tabla 42. Toxicidad del cloruro de Cd para algunas especies de peces.

Los valores de toxicidad crónica varían mucho entre las diferentes especies de peces. La exposición a concentraciones de Cd (0,5 a 5,2 µg/L) durante 168 a 408 días provocó la mortalidad de 50% de varios estadios de la trucha arco iris, salmón del pacífico (*Oncorhynchus Tshawytscha*) y del Salmón plateado (*Oncorhynchus Kisutch*) (Wren *et al.*, 1995).

Las concentraciones más bajas de Cd que afectaron al crecimiento y la supervivencia de las carpitas cabezonas (*Pimephales promelas*) en exposiciones de 8 a 32 días, fueron entre 14,5 y 41 µg/L. Exposiciones a más largo plazo (≥126 días) de 3,4 µg/L de Cd redujeron el crecimiento y la supervivencia de la trucha de Fontana (Wreng *et al.*, 1995).

En conclusión, varios estudios de toxicidad crónica realizados demuestran efectos tóxicos del Cd en peces a concentraciones tan bajas como 0,5 a 1 µg/L.

Toxicidad del plomo

La toxicidad de aguas contaminadas con Pb para los peces varía considerablemente dependiendo de la disponibilidad y la ingestión del ión de Pb. Existen factores que afectan la disponibilidad del Pb, como son la dureza del agua, pH, salinidad y materia orgánica. La ingestión también se ve afectada por la presencia de otros cationes y el contenido en oxígeno en el agua.

El Pb orgánico se absorbe más rápidamente que el Pb inorgánico. Los pocos datos disponibles sugieren que la toxicidad del Pb orgánico puede ser entre 10 a 100 veces mayor que la del Pb inorgánico. Exposiciones a largo plazo de peces adultos con Pb inorgánico induce efectos subletales en la morfología, actividad delta-ALAD y otras actividades enzimáticas y alteraciones en el comportamiento a concentraciones entre 10 y 100 mg/L (WHO, 1989).

En su mecanismo de acción tóxica, el Pb, al igual que otros metales pesados, ejerce una amplia variedad de efectos biológicos en numerosos procesos bioquímicos a nivel subcelular.

Por su similitud química con el Calcio, interfiere a nivel mitocondrial en procesos que regulan el metabolismo energético celular. A nivel hematológico ejerce una potente inhibición de enzimas que intervienen en la síntesis del grupo hemo, resultando en anemia con plumbemia. A nivel de sistema nervioso central interfiere en la síntesis y liberación de neurotransmisores (acetilcolina, dopamina, GABA), alterando la transmisión sináptica. A nivel renal las lesiones precoces asientan en los túbulos proximales y se caracterizan por cambios mitocondriales y aparición de cuerpos de inclusión nuclear, que producen afectación del tejido renal, sobre todo fibrosis, que evoluciona a insuficiencia renal (Rand y Petrocelli, 1985).

Un estudio realizado por Tabche *et al.* (1990) determinó la CL-50 a 72 horas para la tilapia (*Oreochromis hornorum*) en 202 mg/L de una solución acuosa de Pb²⁺.

Alam y Maughan (1995) estimaron la CL-50 a 96 h en 0,44 mg Pb²⁺/L en carpas comunes (*Cyprinus carpio*) pequeñas (3,5 cm) y en 0,8 mg Pb²⁺/L en carpas de 6 cm de longitud.

La CL-50 a 96 h del acetato de Pb, para la perca de agallas azules (*Lepomis macrochirus*) fue de 400 ppm (Ellgaard y Rudner, 1982).

Anadon *et al.* (1984) concluyeron que la CL-50 a 24 h para la trucha arco iris fue de 3,75 mg de Pb/L y la CL-50 a 96 h de 1,38 mg de Pb/L, aunque señalan que existe una gran variabilidad.

Algunos datos de toxicidad de distintas sales de Pb en peces están recopilados por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1989) en la siguiente tabla:

Pez	CL-50 en mg/L	Compuesto
Pececillos de río americano	6,7-10,5 (24h)	Cloruro de plomo
“	4,3-8,7 (48h)	Cloruro de plomo
“	3,9-7,9 (96 h)	Cloruro de plomo
“	10,7-63,9 (24h)	Acetato de plomo
“	7,2-16,7 (48h)	Acetato de plomo
“	4,9-11,8 (96 h)	Acetato de plomo
Perca agallas azules (<i>Lepomis macrochirus</i>)	22,5-30,4 (24h)	Cloruro de plomo
“	20,9-29,1 (48h)	Cloruro de plomo
“	20,0-28,4 (96 h)	Cloruro de plomo
Truchas arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	6,3 (24h)	Nitrato de plomo
“	6,3 (48h)	Nitrato de plomo
“	1,17 (96 h)	Nitrato de plomo

Tabla 43. Datos de toxicidad del Pb para especies de peces, recopilados por la OMS (1989).

Toxicidad del cobre

El Cu a bajas concentraciones es un nutriente minoritario tanto para animales como plantas, pero es tóxico para la vida acuática a concentraciones aproximadamente entre 10 y 50 veces su nivel normal.

La toxicidad del Cu se atribuye sobre todo a la forma Cu^{2+} y, en menor frecuencia porque es menos encontrado, al CuOH^+ . El Cu^{2+} rápidamente forma complejos con las sustancias inorgánicas y orgánicas y puede ser adsorbido a las partículas de materia orgánica. Como resultado, los iones de Cu raramente están en forma libre en agua, excepto en aguas blandas y ácidas (Robinson y Avenant-Oldewage, 1997).

El Cu afecta adversamente a los peces causando alteraciones histopatológicas en las branquias, riñón, tejido hematopoyético, mecanorreceptores, quimiorreceptores y otros tejidos. El Cu^{2+} causa daño en la célula alterando los sitios activos de los enzimas y peroxidación de las membranas, causando así serias modificaciones en la célula y su medio circundante. Los efectos sobre la reproducción, como la producción reducida de huevos en hembras, anomalías en las progenies y reducción de supervivencia también se han demostrado (Hall *et al.*, 1998).

Los efectos tóxicos del cobre se suelen evitar en organismos vivos al desarrollar, por un lado, un proceso activo de eliminación del exceso de Cu ingerido en la dieta, por otro, al reducir la actividad termodinámica de los iones de Cu virtualmente a cero usando el metal sólo como elemento fuertemente unido a proteínas específicas de Cu y, por último, al interactuar con el Zn.

Hall *et al.* (1997) recopila datos de toxicidad aguda para 121 especies animales de agua dulce y 57 especies de agua salada, así como datos sobre toxicidad crónica para 35 especies de agua dulce y 12 de agua salada.

Los ciprínidos y salmónidos contienen especies más sensibles a exposiciones agudas que otras familias de peces de agua dulce. Las especies bénticas más sensibles a exposiciones agudas de cobre son gasterópodos, seguida de anfípodos, así el rango de valores de toxicidad aguda varían desde 1,3 µg/L para *Daphnia* a 346.700 µg/L para especies de cangrejo.

Alam y Maughan (1995) estimaron la CL-50 a 96 h en 0,30 mg Cu²⁺/L en carpas comunes (*Cyprinus carpio*) pequeñas (3,5 cm) y en 1 mg Cu²⁺/L en carpas de 6 cm de longitud.

Thompson *et al.* (1980) realizaron un estudio de toxicidad del Cu (CuCl₂·2H₂O) en la perca de agallas azules (*Lepomis macrochirus*), estableciendo una CL-50 a 96 h para el Cu de 1 mg/L.

La CL-50 a 96 h para la tilapia (*Tilapia mossambica*) fue de 1,52 ppm y para la carpa común de 50 ppm, siendo ésta última más resistente (Lam *et al.*, 1998).

Dethloff *et al.* (1999) expusieron truchas arco iris a concentraciones subletales de Cu (14 µg/L) y una mezcla de Cu (14 µg/L) y Zn (57 y 81 µg/L) durante 21 días no observando mortalidad en el curso de la exposición ni diferencias en el peso medio de los peces.

Buckley *et al.* (1982) realizaron test de supervivencia con salmones previamente expuestos durante 16 semanas a 0, 70 y 140 µg/L de Cu llegando a la conclusión que los peces expuestos se volvían más tolerantes al Cu. De esta forma la CL-50 del grupo expuestos a 140 µg/L de Cu fue de 3 veces la de los controles y el grupo expuesto a 70 µg/L de Cu fue significativamente más resistente que los controles.

Los valores de toxicidad crónica del Cu para peces varían desde 3,9 µg/L para la trucha de Fontana hasta 60,4 µg/L para el lucio (Hall *et al.*, 1998).

La CL-50 del sulfato de Cu a 96 h para el salmón plateado (*Oncorhynchus kisutch*) fue de 286 µg/L, para la perca de agallas azules (*Lepomis machochirus*) fue de 884 µg/L, para el percasol verde (*Lepomis cyanellus*) fue de 3.510 µg/L y

para las carpitas cabezonas (*Pimephales promelas*), fue de 838 µg/L (U.S. EPA, 1985).

Pez	CL-50 (µg/L) a 96 h	°C	Ppm CaCO ₃	Fuente
Pez dorado (<i>Carassius auratus</i>)	1.380	18	272	U.S. Department of Interior, Fish and Wildlife Service, 1980
Carpitas cabezonas (<i>Pimephales promelas</i>)	838	18	272	"
Percasol verde (<i>Lepomis cyanellus</i>)	3.510	18		"
Perca de agallas azules (<i>Lepomis machochirus</i>)	884	18		"
Trucha arco iris	135	13		"
Carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>)	50.000			Lam <i>et al.</i> , 1998
Lubina rayada (<i>Morone Saxatilis</i>)	1.000			Hughes, 1970
Tilapia (<i>Tilapia mossambica</i>)	1.520			Lam <i>et al.</i> , 1998
Tilapia (<i>Tilapia mossambica</i>)	6.000 48 h			Balavenkatasubbaiah <i>et al.</i> , 1984
<i>Salmo gairdneri</i>	42			U.S. EPA, 1980
<i>Fundulus diafanus</i>	840			U.S. EPA, 1980
<i>Salmo clarki</i>	73,6			U.S. EPA, 1980
<i>Lepomis macrochirus</i>	1.100			U.S. EPA, 1980
<i>Pimephales promelas</i>	75 a 84			U.S. EPA, 1980
<i>Lepomis gibbosus</i>	2.400 a 2.700			U.S. EPA, 1980
<i>Salvelinus fontinalis</i>	100			U.S. EPA, 1980
<i>Poecilia reticulata</i>	138			U.S. EPA, 1980
<i>Carassius auratus</i>	300			U.S. EPA, 1980
<i>Roccus saxatallis</i>	4.000			U.S. EPA, 1980
<i>Roccus americanus</i>	4.000 a 6.400			U.S. EPA, 1980
<i>Cyprinus carpio</i>	800			U.S. EPA, 1980
<i>Anguilla rostrata</i>	6.400			U.S. EPA, 1980
<i>Lepomis machochiru</i>	884			U.S. EPA, 1985
<i>Lepomis cyanellus</i>	3.510			U.S. EPA, 1985
<i>Pimephales promelas</i>	838			U.S. EPA, 1985
Salmón plateado (<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	286			U.S. EPA, 1985

Tabla 44. CL-50 del Cu recogidas por diversos autores y la US. EPA para varias especies de peces.

3.6.- FACTORES QUE AFECTAN LA TOXICIDAD DE METALES PESADOS

Forma química del metal

Los compuestos orgánicos suelen ser más biodisponibles que las formas inorgánicas de los metales pesados. Sin embargo, las formas inorgánicas son más solubles en los ambientes acuáticos.

Por lo tanto, el estado orgánico o inorgánico de los metales pesados condicionará su solubilidad o no en agua, o lo que es lo mismo, cuanto más insoluble, más unido a la materia orgánica, siendo así menos biodisponible. Sin embargo, las sustancias orgánicas que estén disueltas en agua o vehiculadas por ella y contacten con la superficie de las branquias de los peces serán, sin duda alguna, más biodisponibles y penetrarán mejor. Esto ocurre con numerosos tóxicos y los metales pesados son un ejemplo más a añadir.

Dureza del agua

En los estudios de toxicidad en agua dulce con metales pesados, la dureza (concentración de calcio y magnesio y sus sales de carbonato y bicarbonato) es una de las variables de calidad que influye significativamente en la toxicidad de estos metales pesados. A medida que la dureza se incrementa, la toxicidad de los metales traza para la vida acuática disminuye debido a la menor biodisponibilidad del metal o alteración de la capacidad osmorregulatoria del organismo.

La toxicidad del Cd para los organismos acuáticos es inversamente proporcional a la dureza del agua, por lo que a medida que aumentan estas sales en el agua, la toxicidad del Cd se modera al unirse con carbonatos y con los iones de calcio (Versteeg y Giesy, 1986).

Sin embargo, se ha descubierto que al aumentar la concentración de iones Ca y H⁺ en el medio, los iones de Cd se acumulan más en las branquias. El Cd es absorbido más por las branquias debido a su afinidad por los canales de Ca, pero realmente los iones libres de Cd son los que se unen, mientras que los complejos de Cd no suelen unirse para absorberse a las branquias (Playle *et al.*, 1993).

Pez	Compuesto	CL-50 (µg/L)	Tpo (días)	mg/L CaCO ₃
Trucha arco iris (<i>Salmo gairdneri</i>)	Cloruro de Cd	10-30	10	125
Trucha arco iris	Cloruro de Cd	16,6	8	82
Carpitas cabezonas (<i>Primiphales promelas</i>)	Cloruro de Cd	80,8	96 h	63
Carpitas cabezonas	Cloruro de Cd	40,9	96 h	55
Carpitas cabezonas	Cloruro de Cd	80,8-135	96 h	62-66

Tabla 45. Toxicidad del Cadmio (Cloruro de Cadmio) recogida del U.S-EPA (1985).

Jones (1938) expuso peces espinosos (*Gasterosteus aculeatus*) a nitrato de Pb bajo condiciones estáticas, reemplazando el agua cada 24 horas y observó el tiempo de supervivencia. La adición de 2 mg/L de cloruro de calcio a una solución de exposición de 50 mg/L de nitrato de Pb alargó el tiempo de supervivencia en más de 10 días.

Davies *et al.* (1976) estudiaron la toxicidad aguda del nitrato de Pb en la trucha arco iris (*Salmo gairdneri*) con diferentes grados de dureza del agua. Las sales de Pb tienden a precipitar en aguas duras, por lo que la CL-50 a las 96 h obtenidas fueron mayores en aguas más duras.

El Cu es un metal no ajeno a este comportamiento, resultando así que la disponibilidad de los iones de Cu son menores en aguas duras que blandas, ya que el Cu forma complejos con los carbonatos (Cairns *et al.*, 1975).

En el caso del Cu, la CL-50 para la trucha de río está en un rango de 0,02-0,1 mg/L para agua blanda y de 0,5-1 mg/L para agua dura (Anadon *et al.*, 1984).

Concentración de oxígeno disuelto

Los niveles de oxígeno disuelto tienden a ser bajos en aguas ciertamente contaminadas, mientras que las pruebas de toxicidad se llevan a cabo en aguas saturadas de oxígeno. Teniendo en cuenta esto, Lolyd (1961) examinó el efecto de variar la concentración de oxígeno disuelto en la toxicidad de sales de Pb en agua. A 65% de oxígeno, la toxicidad del Pb se incrementó 1,2 veces más que al usar agua saturada de oxígeno y niveles de saturación del 40% produjo un aumento de 1,4 veces más de toxicidad.

Influencia del pH acuático

Generalmente, el efecto del pH es importante ya que determina la especiación química de los metales pesados. A pH ácidos existe una mayor solubilidad y por tanto disponibilidad de los iones metálicos, por lo que aumenta la toxicidad de los metales pesados.

Sin embargo, en el caso del Cd, un pH bajo del agua parece reducir la toxicidad del Cd para algas y peces. Se ha sugerido que la causa de esta reducción en la toxicidad es por la competición generada entre los iones libre de H⁺ y los cationes libres de Cd en los sitios de unión celulares (Wren *et al.*, 1995).

Hodson *et al.* (1978), expusieron truchas de 4 meses a concentraciones de Pb entre 0 y 1 mg/L, y encontraron que los niveles de Pb en sangre se incrementaban a medida que el pH del agua descendía de 10 a 6. Los niveles mayores de Pb en sangre (aprox. 10 mg/L) se midieron después de la exposición a pH 6, mientras que la concentración del agua fue de 180 µg/L de Pb. Esto suponía un factor de concentración cercano a 50 en sangre sobre el agua. Los autores calcularon que

un descenso de una unidad de pH resultaba en un incremento del Pb sanguíneo de 2,1 veces.

El Cu en los ambientes acuáticos es móvil y soluble a pH bajos. En condiciones alcalinas, el Cu precipita resultando ser no tóxico. Andrew *et al.* (1977) encontraron que ligeros incrementos en la concentración de H⁺ (pH 7,6 a 8) condujeron a una disminución de la toxicidad del Cu²⁺ libre.

La acidificación potenció significativamente la toxicidad del sulfato de Cu en la trucha arco iris, causando serios problemas fisiológicos y bioquímicos, entre otros, la inhibición de la actividad acetilcolinesterasa y, consecuentemente, la alteración de la función nerviosa en órganos vitales, como el corazón (Hughes y Nemcsók, 1988). Otros autores, como Howarth y Sprague (1978) también han observado que el Cu es más tóxico a pH 5,4 que a pH 7,3.

Según Miller y Mackay (1980), paradójicamente, entre pH 4,34 y 4,7 el Cu es menos tóxico que a pH 7,3. Estos autores sugieren que, aunque tanto el ácido como el Cu estimulan la producción de mucus en el pez, el estímulo producido por el ácido predomina y además quela el Cu y reduce su toxicidad.

Efecto de la salinidad del agua

Es una característica que afecta más a los ambientes marinos, pero que puede resultar útil tenerla en cuenta a la hora de realizar ensayos en el laboratorio con especies marinas, ya que se ha visto que algunos metales aumentan la toxicidad al disminuir la concentración de sal en el medio acuático.

Somero *et al.* (1977) expusieron peces teleósteos de estuario (*Gallichthys mirabilis*) a concentraciones de acetato de Pb de 2,65 mg/L durante 36 días en 100% de agua de mar (salinidad del 3,36%) y en agua de mar de otras salinidades (2,52%, 1,68% y 0,84%). El contenido de Pb en todos los tejidos estudiados mostró un incremento al disminuir la salinidad. Los niveles más altos se encontraron en bazo, cuyo factor de concentración fue de alrededor de 74,4 para el agua con salinidad del 3,36% y de 137,7 para el agua con 0,84% de salinidad (WHO, 1989).

Efecto de la temperatura del agua

El metabolismo (y por tanto la ventilación en branquias) muestra un incremento con la temperatura, lo que probablemente facilite la ingestión. Los estudios parecen revelar que la temperatura ejerce un efecto directo sobre la toxicidad, de tal forma que al aumentar la temperatura, aumenta la toxicidad de algunos metales pesados.

La toxicidad aguda del Zn para la perca (*Lepomis Macrochirus*) bajo similares condiciones ha sido hallada por varios autores:

CL-50 a 96 h (mg/L)	T ^a (°C)	Autores
4,9-5,8	25	Pickering&Henderson (1966)
2,9-3,8	18	Cairns&Scheier (1957)
1,9-3,6	30	Cairns&Scheier (1957)

Tabla 46. Toxicidad del Zn para *Lepomis macrochirus* a diferentes temperaturas

Aunque se han hecho varios estudios sobre el efecto de la temperatura sobre la toxicidad del Zn, no se llega a una conclusión clara, ya que se citan aumentos de la toxicidad del Zn y en otros estudios no parece que se vea afectada la toxicidad del Zn al aumentar la temperatura.

Hodson y Sprague (1975) dan una explicación definitiva para esta variedad de respuestas. Utilizando el Salmón del Atlántico en el experimento, llegaron a la conclusión que los peces son más sensibles al Zn a elevadas temperaturas cuando el estudio se hace con exposiciones durante un periodo corto de tiempo. A medida que la duración de exposición aumentaba, el efecto de la temperatura se iba reduciendo progresivamente, e incluso el efecto llega a invertirse a las 2 semanas de exposición, siendo la toxicidad menor en aguas con mayor temperatura.

Truchas aclimatadas a 6°C mostraron un umbral de letalidad al Cd 3 veces superior que truchas en estanques a 18°C. Esta elevación de la toxicidad del Cd al aumentar la temperatura se correlacionó con la supresión del calcio plasmático por el Cd, ya que la hipocalcemia es uno de los mecanismos tóxicos clave del Cd (Roch y Maly, 1979).

Lemus y Chung (1999) realizaron un estudio con alevines del pez *Petenia kraussii* exponiéndolos a dos concentraciones subletales (0,2 y 1,2 ppm) de Cu durante 4 semanas y a dos regímenes de temperatura (22 y 30°C). Llegaron a la conclusión de que la concentración de exposición, el tiempo y la temperatura son factores importantes en la acumulación y eliminación del Cu, de tal forma que el aumento de temperatura facilitó la acumulación del Cu.

La toxicidad del Cu para la perca de agallas azules (*Lepomis macrochirus*) bajo similares condiciones también se ha visto por otros autores:

CL-50 a 96 h (mg/L)	T ^a (°C)	Autores
1,3	18	Patrick <i>et al.</i> (1968)
1,1	20	Benoit (1975)
0,7	20	Trama (1954)
0,7	25	Pickering&Henderson (1966)

Tabla 47. Toxicidad del Cu para *Lepomis macrochirus* a diferentes temperaturas.

De acuerdo con Cairns *et al.* (1975), el tiempo de supervivencia de los peces expuestos al Cu se acorta al incrementar la temperatura.

En estudios realizados por la OMS en percas (*Lepomis macrochirus*) expuestas a una solución de Pb, a dos regímenes diferentes de temperatura (10 y 20-25°C) durante 42 días en agua de mar normal, se encontró que si se aumentaba la temperatura, el contenido de Pb se elevaba (WHO, 1989).

Influencia de agentes quelantes

Los agentes quelantes son sustancias que poseen una elevada afinidad por los elementos metálicos, por lo que es de esperar que al secuestrar los iones metálicos de los metales pesados ejerzan un efecto positivo disminuyendo la toxicidad de los mismos.

Muramoto (1980) mantuvo carpas comunes (*Cyprinus carpio*) durante 48 horas en concentraciones de nitrato de Pb que variaron entre 0 y 20 mg/L con o sin uno de estos quelantes: EDTA, NTA o DTPA. Los agentes quelantes redujeron la ingestión de Pb a todas las dosis de exposición.

El carbón orgánico disuelto (DOC) es un término general para definir los productos de degradación de la materia orgánica. En agua dulce, la fuente de DOC proviene principalmente de las plantas. Se compone de ácidos húmicos y fúlvicos, con grupos carboxilos y fenoles que son los responsables de la quelación metálica (Morel y Hering, 1993).

Este DOC actúa formando complejos con los metales de tal modo que los iones metálicos libres están menos disponibles para absorberse por las branquias. El Cu se une unas 50 veces mejor al DOC que a las branquias, no sucediendo así con el Cd que es parcialmente unido por el DOC.

Concentraciones de $\text{DOC} \geq 4,8$ mg/L evitaban que el cobre se acumulara en las branquias de las carpas cabezonas (*Pimephales promelas*) (Playle *et al.*, 1993).

La fuente y tamaño de la fracción de DOC no influye en su efecto protector frente a la acumulación de Cu en las branquias, como tampoco lo hace el envejecimiento de las uniones metal-DOC (Hollis *et al.*, 1996).

Edad de los peces

La edad de los peces se encuentra relacionada con respecto a la toxicidad de los metales, de tal manera que son más dañinos cuando los peces están en las etapas primeras del desarrollo y crecimiento.

Se sabe que los huevos de los peces son tolerantes al Cd, ya que la cápsula de estos actúa como barrera protectora. En las especies de salmónidos a las que se les ha realizado varios estudios de toxicidad crónica con Cd, se ha visto que los estados juveniles más tardíos son más sensibles que los estados más tempranos de alevines o de estados adultos (Wren *et al.*, 1975).

La CL-50 a 96 h para jóvenes (0,2 g) de trucha de Fontana (*Salvelinus fontinalis*) fue de 2,4 µg/L, muy baja comparada con los 5080 µg/L en animales de 100 gramos. Caso similar ocurrió con carpitas cabezonas (*Pimephales promelas*) en las que la CL-50 a las 96 h fue de 11-54,2 µg/L en peces de un día y de 1280-7160 µg/L para peces de 30 días (Wren *et al.*, 1995).

Sexo

Tsai y Chang (1981) demostraron que existe una gran diferencia en la susceptibilidad al Cu y Cd entre machos y hembras del guppy común (*Lebistes reticularis*), si bien, otra variable que influye es la diferencia de tamaño de los sexos.

En el caso del pez mosquito (*Gambusia affinis*), cuyos sexos son comparables en tamaño, Chagnon y Guttman (1989) encontraron que los machos son 2,4 veces más sensibles a la mortalidad que las hembras a las mismas dosis de Cu. Perkins *et al.* (1997) estudiaron el efecto de la exposición a sulfato de Cu y lo relacionaron con el sexo del pez gato (*Ictalurus punctatus*). Los machos del pez gato mostraron ser más susceptibles a la letalidad del Cu durante la exposición, que duró 10 semanas, pero esta diferencia disminuyó cuando se incrementaba el tiempo de exposición.

Fenómeno de adaptación como factor que modifica la toxicidad de metales pesados

Cuando las poblaciones se exponen a contaminantes en su medio ambiente, es muy probable que estos contaminantes tengan un efecto sobre la supervivencia y/o reproducción de los seres más sensibles de la población. Si la sensibilidad relativa a la contaminación es heredable, la exposición a contaminantes actuará con presión selectiva resultando en un incremento de la resistencia de las poblaciones de la siguiente generación. Esta adaptación puede traer consecuencias ya que las poblaciones adaptadas pueden permanecer en áreas contaminadas a pesar de la contaminación.

Se conocen plantas adaptadas a minas abandonadas de Gran Bretaña, poliquetos, como el *Nereis diversicolor*, que habita ríos a los que drenan áreas mineras, o incluso oligoquetos de ambientes acuáticos contaminados con Cd.

Stubblefield *et al.* (1999) comprobaron en ejemplares adultos y juveniles de trucha arco iris que la exposición previa a dosis subletales de Zn y de Cd modificó

notablemente su respuesta a dosis letales posteriores. Así, la concentración de Zn o Cd que producía efectos letales tempranos se elevó 3 veces (Zn) y 2 veces (Cd) cuando se exponían previamente a concentraciones subletales de 324 mg/L de Zn y 10,2 mg/L de Cd. Una aclimatación similar, pero menos acusada, se dio en ejemplares jóvenes.

El estudio de Klerks y Lentz (1998) sobre los niveles de Pb y Zn en sedimentos, agua y el pez gambusino (*Gambusia affinis*) de Bayou Trepagnier (Louisiana) mostró unas elevadas concentraciones en los peces, consideradas como “frecuentemente asociadas con efectos adversos”. Los niveles de Pb en agua también estaban por encima de los criterios de calidad de agua propuestos por la US-EPA en 1986. El Pb y el Zn fueron biodisponibles para el gambusino, como lo indicaron las elevadas cantidades de Zn (277 ± 9 µg/g ps) y Pb (898 ± 306 ng/g ps) encontrados en el pez. La conclusión final fue que el gambusino de esta zona era más resistente al Pb que congéneres de zonas control y por el contrario, no hubo diferencias en la resistencia de Zn. Esta disimilitud entre los dos metales puede ser consecuencia de la mayor bioacumulación del Pb con respecto al Zn.

La resistencia incrementada al Pb ya no fue evidente después de que los peces se mantuvieran en agua limpia durante 34 días. Esto indica que esta resistencia es sólo temporal y que es más bien consecuencia de una aclimatación fisiológica más que una adaptación genética, debido a la inducción de sistemas detoxificadores como metalotioneínas o citocromo P₄₅₀.

Aunque la aclimatación al Pb se ha visto en invertebrados acuáticos pero no parece haberse demostrado en todo tipo de peces.

Mientras que una base medioambiental de las diferencias en la resistencia de Pb es una posible explicación, la resistencia expresada genéticamente no puede ser totalmente excluida. Una población podía estar genéticamente adaptada a un contaminante y lograr una más rápida inducción de los sistemas de detoxificación al exponerse a bajos niveles de contaminación, aunque tales diferencias genéticas no serían evidentes cuando los peces se exponen a niveles tóxicos agudos sin ser previamente expuestos a concentraciones menores (Klerks y Lentz, 1998).

3.7.- EFECTOS PROVOCADOS POR LOS METALES PESADOS

Principalmente, los efectos tóxicos de los metales pesados en peces son asfixia debida a coagulación de mucus sobre las branquias, lesión directa sobre las branquias, acumulación de metales en tejidos internos y lesiones intensas sobre estos tejidos (Anadon *et al.*, 1984).

Parámetros generales

Los tóxicos producen efectos observables y otro tipo de efectos que, aunque incipientes y no patentes, ejercen una toxicidad subaguda en los sistemas celulares. Los efectos que podemos observar de la acción directa de los metales pesados son los principales signos que nos hacen sospechar de efectos tóxicos.

Entre los efectos observables o visibles, consecuencia de la acción directa de los metales pesados, se han citado los siguientes:

- Aumento del ritmo opercular y del reflejo de tos en truchas arco iris a una solución de 40 ppm de sulfato de Zn (Skidmore, 1970).
- Ligero cambio de color en la piel en truchas arco iris expuestas a dosis de 19 y 25 $\mu\text{g/L}$ de cloruro de Cd (CdCl_2). Las espaldas y los laterales se oscurecieron, persistiendo mientras se mantiene la exposición (Ricard *et al.*, 1998).
- Oscurecimiento de la cola en trucha arco iris expuesta a 0,12 mg/L de Pb. Después de 32 semanas, el 30% de los peces que sobrevivieron mostraron este oscurecimiento de las colas (Hodson *et al.*, 1978).
- Malformaciones óseas. Holcombe *et al.* (1976) expuso 3 generaciones de truchas de Fontana (*Salvelinus fontinalis*) a nitrato de Pb en agua. Toda la segunda generación de truchas expuestas a 0,235-0,474 mg/L de Pb y el 34% de las expuestas a 0,119 mg/L mostraron deformidades espinales. El 21% de la tercera generación expuesta a 0,119 mg/L mostraron escoliosis. Además se redujo el peso de esta tercera generación.

Hodson *et al.* (1980) examinaron la posibilidad de que el efecto tóxico del Pb en salmónidos fuera debido a una deficiencia en ácido ascórbico, ya que los síntomas eran similares. Ellos no encontraron interacción entre el Pb y la deficiencia en ácido ascórbico.

Los síntomas más importantes observados en truchas inyectadas intraperitonealmente una solución de sulfato de Cu en 0,9% de NaCl (mg/Kg) fue de un rápido movimiento vertical de arriba abajo que apareció tras un periodo inicial sin síntomas. El pez permanecía en posición vertical por varios minutos y

luego descendía y permanecía en el fondo con un incremento del ritmo ventilatorio. Más tarde el pez permanecía en la superficie o en el fondo en decúbito supino mostrando una lenta ventilación. Antes de la muerte, se pudieron observar convulsiones (Carbonell *et al.*, 1998).

Mortalidad y crecimiento

Una concentración de 12,7 mg/L de Cd causó muerte en una especie de percasol (*Lepomis macrochirus*), a los 21 días y las mortalidades duraron hasta los 144 días. A los 24 días, también se observó una disminución en el tamaño de los peces, lo que se traduce en una disminución del crecimiento (Versteeg y Giesy, 1986).

La trucha arco iris expuesta a 100 µg/L de cloruro de Cd, durante 47 días en agua dura (98,6 mg/L de carbonato de Ca), produjo efectos tóxicos reduciendo el crecimiento y la supervivencia (US-EPA, 1985).

Salmones del Atlántico expuestos a 2 µg/L de carbonato de Cd durante 70 días en aguas (13 mg/L carbonato de Ca) experimentaron una disminución del crecimiento (US-EPA, 1985).

Efectos sobre el comportamiento migratorio

Un buen ejemplo de efectos a dosis subagudas fue el producido por los niveles de Cu y Zn en salmones atlánticos (*Salmo salar*) de ríos de New Brunswick (Canadá) corrientes abajo de zonas mineras. Niveles por debajo de los considerados como letales hizo que los salmones evitaran las aguas contaminadas. Durante los periodos de elevados niveles de metales pesados en agua, las migraciones aguas arriba para la reproducción no se produjeron (Sprague *et al.*, 1965).

Giattina y Garton (1983) llevaron a cabo experimentos en la trucha arco iris usando sales inorgánicas de Pb y concluyeron que las truchas evitaban las aguas con contenidos de 0,026 mg/L. Jones (1948) encontró el mismo comportamiento en *Phoximus phoximus* usando valores de 0,4 mg/L de sales inorgánicas de Pb.

La trucha arco iris, expuesta a 52 µg/L de carbonato de Cd durante 80 minutos, evitó dichas aguas, afectando a su comportamiento (US-EPA, 1985).

Efecto sobre el comportamiento predador

Salmones del Atlántico expuestos a concentraciones subletales de Cu (70 y 140 µg de Cu/L) redujeron la ingesta de alimentos inmediatamente tras la exposición. Los peces fueron recuperando el apetito gradualmente, pero la ganancia de peso se recuperó después de las 2 semanas de exposición a 70 µg/L de Cu y a las 4

semanas después en el caso de exposición a 140 µg/L de Cu (Buckley *et al.*, 1982).

El efecto de los metales pesados también se hace notar en las presas que habitualmente consumen los peces. Cambios en las comunidades bénticas expuestas a metales pesados incluyen la disminución de las poblaciones y cambios en la composición, predominando especies más tolerantes a los metales pesados.

Tal es el caso del estudio realizado por Clements y Rees (1997) en dos zonas de un río. En la primera zona, con bajos niveles de metales pesados, predominaron macroinvertebrados sensibles a los mismos, más preferidos por la trucha, mientras que en la segunda zona, contaminada por metales pesados, predominaban macroinvertebrados resistentes a estos elementos, modificando así los hábitos predatorios de la trucha marrón, que sólo podía comer este tipo de invertebrados.

Efectos hematológicos

Truchas arco iris expuestas a 10 µg/L de CdCl₂ no mostraron cambios en el valor hematocrito, pero las que se expusieron a 25 µg/L sí mostraron disminución significativa (Ricard *et al.*, 1998).

Hodson *et al.* (1978) observaron que la exposición a concentraciones tan bajas como 0,013 mg de Pb/L condujo a un incremento en el número de eritrocitos, disminución en el volumen eritrocitario y del contenido eritrocitario de hierro, así como disminución en la actividad delta-ALAD. No hubo modificaciones en el hematocrito o el contenido total de hierro en la sangre y los cambios indicaron un incremento en la producción de eritrocitos para compensar la muerte eritrocitaria e inhibición de la producción de hemoglobina.

La exposición de tilapia (*Oreochromis hornorum*) a dosis subletales de una solución de plomo (30,3; 47; 62,5; 79 y 95 mg Pb²⁺/L) produjo una reducción proporcional de la hemoglobina sanguínea (Tabche *et al.*, 1990).

Concentraciones de 15 mg/L de nitrato de Pb a *Colisa fasciatus* durante 90 horas produjo un descenso del hematocrito y niveles de hemoglobina y un incremento del número de eritrocitos inmaduros en la circulación (Srivastava y Mishra, 1979).

Dethloff *et al.* (1999) expusieron truchas arco iris a concentraciones subletales de Cu (14 µg/L) y una mezcla de Cu (14 µg/L) y Zn (57 y 81 µg/L) durante 21 días no observando ningún efecto sobre la hemoglobina ni hematocrito. Sí se produjo una depresión en el recuento de linfocitos comparándolos con animales no expuestos. También produjo una elevación del porcentaje de monocitos, así como neutrofilia.

Tencas (*Tinca tinca L.*) expuestas experimentalmente a 75 mg de sulfato de Cu/L de agua, desarrollaron anemia microcítica, acompañada por una clara desnaturalización de la hemoglobina eritrocitaria, que contribuyó a la muerte de los peces (Roncero *et al.*, 1992).

Efectos sobre bioquímica sanguínea

Al exponer carpas comunes a 6 mg/L de Zn durante 1, 15 y 30 días, se produjo una disminución significativa de la actividad colinesterasa en branquia, riñón, intestino, cerebro, hígado y músculo. Así mismo se produjo un aumento significativo en el contenido de acetilcolina en los órganos observados. Estos cambios fueron más importantes en cerebro>hígado >músculo que en branquia, riñón e intestino (Suresh *et al.*, 1992).

Dethloff *et al.* (1999) expusieron truchas arco iris a concentraciones subletales de Cu (14 µg/L) y una mezcla de Cu (14 µg/L) y Zn (57 y 81 µg/L) durante 21 días produciendo una elevación de los niveles de la Acetilcolinesterasa cerebral que se mantuvo durante los primeros 14 días.

La exposición al Cd de varias especies de peces (múgil, trucha arco iris, tilapia y la anguila americana), aumentó el cortisol plasmático que permaneció durante varios días. Se ha sugerido que este incremento pueda funcionar para mantener elevados los niveles de glucosa circulantes después de la inducción de catecolaminas que ocurre en respuesta a agentes estresantes (Soengas *et al.*, 1996). Por esta misma razón, se encontraron niveles elevados de lactato y glucosa en salmones del Atlántico expuestos al Cd. Los niveles de glucógeno hepático disminuyeron, respuesta que es dosis-dependiente. También se produjeron cambios en la actividad de los enzimas involucrados en el metabolismo del glucógeno. Así, se produjo un incremento dosis-dependiente de la Glucógeno-fosforilasa, así como una disminución de la enzima Glucógeno-sintetasa, sugiriendo un incremento en el potencial glucogenolítico (Soengas *et al.*, 1996).

Al exponer truchas arco iris a 10 y 25 µg/L de cloruro de Cd durante 30 días se pudo observar una disminución del glucógeno hepático proporcional a la dosis de cloruro de Cd (Soengas *et al.*, 1996).

El incremento de la glucólisis puede estar relacionado con un aumento de la demanda de energía en el hígado. Uno de los posibles usos de esta energía pudiera ser la activación de las rutas metabólicas involucradas en la detoxificación y en la síntesis de metalotioneínas en el hígado (Olsson *et al.*, 1989).

Shaffi (1979a) examinó varios parámetros bioquímicos en 9 especies de peces de agua dulce expuestos a nitrato de Pb (5, 19, 15 y 20 mg/L). Estas concentraciones causaron glucogenolisis en todos los peces estudiados. El efecto

fue mayor en el músculo, y menor en hígado, riñón y cerebro. Hubo una relación inversa entre los niveles de glucógeno en el músculo, hígado y cerebro y entre la concentración de Pb en agua, así como una relación directa entre los niveles de Pb en agua y los niveles de glucosa y lactosa sanguíneos.

La exposición a 10 ppm de sulfato de Cu incrementaron la glucosa sanguínea, LDH, GOT, GPT en 3 especies de peces, carpa plateada > carpa común > anguila europea (Nemcsok y Boross, 1982).

El pez *Tilapia mossambica* se sometió a concentraciones letales (6 mg/L) y subletales (1,5 mg/L) de cloruro de Cu durante 1,7 y 14 días. El descenso del consumo de oxígeno y los cambios en hígado y músculo (disminución de la actividad succinato deshidrogenasa y el aumento significativo de la LDH) sugirieron que los peces recurrieron a la energía a través de la oxidación anaerobia y estos enzimas pueden ser utilizados para monitorizar toxicidad inducida a metales (Balavenkatasubbaiah *et al.*, 1984).

Percasoles (*Lepomis macrochirus*) expuestos durante 32 días a 12,7 mg/L de Cd mostraron cambios en varios enzimas séricos. Después de 16 días, la actividad de la fosfatasa ácida se incrementó en un 40% y la actividad N-acetil-beta-D-glucosaminidasa lo hizo en un 250% a los 32 días, indicando un descenso en la estabilidad de la membrana lisosomal. Sin embargo, la LDH, alanina-aminotransferasa y aspartato-aminotransferasa se mantuvieron normales a lo largo de toda la experiencia (Versteeg y Giesy, 1986).

En salmones del Atlántico expuestos a 0,01 mg/L y a 0,1 mg/L de Cd no se observaron cambios en los niveles de proteína hepática (Soengas *et al.*, 1996).

Christensen (1975) examinó una serie de parámetros bioquímicos en embriones de truchas de Fontana expuestos a nitrato de Pb (entre 0,057 mg/L y 0,53 mg/L) durante 16-17 días y expuestos durante 21 días como alevines. No encontró efectos en los huevos, pero en los alevines pudo observar pérdida de peso, un incremento en la actividad fosfatasa alcalina y un incremento en la actividad acetilcolinesterasa.

Christensen *et al.* (1977) expuso truchas de Fontana adultas a concentraciones de nitrato de Pb de entre 0,009 mg/L y 0,474 mg/L durante 2 y 8 semanas. No encontraron efectos sobre el peso corporal, longitud ni en la glucosa sanguínea o niveles de lactato. Encontraron disminución significativa en los niveles de hemoglobina (exposiciones desde 58 µg/L). La actividad de transaminasas glutámico-oxalacética disminuyó. El sodio plasmático y el nivel de cloruros se elevó después de la segunda semana.

Hodson (1976) encontró que el Pb, como nitrato de Pb, en agua a concentraciones tan bajas como 13 µg/L causaron una inhibición significativa de la actividad delta-ALAD en trucha arco iris después de la 4ª semana.

Sastry y Gupta (1978) expusieron peces gato (*Channa punctata*) a 3,8 mg/L de nitrato de Pb –establecida previamente como concentración subletal- durante 15 y 30 días y luego fueron sacrificados. Se prepararon muestras de estómago, intestino, ciego pilórico e hígado para la estimación de las actividades enzimáticas. No hubo cambios en la actividad fosfatasa alcalina en hígado o estómago, pero en intestino y ciego pilórico se inhibieron después de 15 días de exposición. Después de los 30 días, la actividad fosfatasa alcalina difería de los controles en el ciego pilórico, pero ahora existiendo una aumento de la actividad. Después de 15 días de exposición se observó una elevación de la actividad fosfatasa ácida en todos los tejidos.

Otros efectos

El Zn^{2+} , cuando se acumula en branquias, produce una alteración de su epitelio. Como consecuencia, se va a alterar la presión osmótica del plasma sanguíneo arterial o en el contenido iónico. Concentraciones altas de Zn (40 ppm) pueden producir la muerte de la trucha arco iris por hipoxia tisular (Skidmore, 1970).

Concentraciones subletales de Cd (1 mg/L de cloruro de Cd) y Pb (100 mg/L de $(NO_3)_2Pb$) no causaron notables efectos sobre la actividad ATPasa en branquias de *Procambarus clarkii* después de 12, 48 y 96 horas de exposición (Torreblanca et al., 1989). Sin embargo, la exposición a Pb a las 48 horas produjo una mayor actividad Mg-ATPasa, por lo que puede indicar que la Mg-ATPasa sea más sensible que la Na,K-ATPasa en las branquias del cangrejo *P. clarkii*.

Canli y Stagg (1996) estudiaron el efecto de la exposición de Cd, Cu y Zn sobre la actividad de las ATPasas del crustáceo marino *Nephrops norvegicus*, llegando a la conclusión que sí son sensibles a la exposición de metales, pero no de una forma elevada atribuyendo esta falta de significación a las bajas concentraciones utilizadas (1,5 y 25 $\mu g/L$ de Cd y Cu y 8, 40 y 200 $\mu g/L$ de Zn).

Thomas y Wofford (1993) expusieron el pez corviñón brasileño (*Micropogonias undulatus*) a 5 mg/L de Cd durante 6 días seguido de una exposición a 1 mg/L de Cd durante 33 días, resultando en una elevación de los niveles de malondialdehído en homogenados y microsomas hepáticos y en ovarios. También se produjo un descenso en la actividad glutatión-peroxidasa y en el contenido de ácido ascórbico en ambos tejidos. Esto representa una cierta degradación celular y respuesta de los mecanismos de detoxificación celulares.

Resultados similares de incremento hepático de la lipoperoxidación lipídica (aumento del malondialdehído) se ha observado en el pez gato (*Ictalurus punctatus*) expuestos a nitrato de Pb en concentraciones de 5,10 y 15 ppm (Chaurasia et al., 1996).

Dethloff *et al.* (1999) expusieron truchas arco iris a concentraciones subletales de Cu (14 µg/L) y una mezcla de Cu (14 µg/L) y Zn (57 y 81 µg/L) durante 21 días. Esta exposición produjo un efecto en la producción del anión superóxido por macrófagos elevando el ritmo respiratorio celular.

También se ha comprobado el efecto del Cu sobre la ionorregulación, produciendo una inhibición de la absorción de Na por las branquias, provocando una disfunción en la regulación osmótica del plasma de los peces (Hollis *et al.*, 1997).

Los iones de Cu, resultado de una intoxicación experimental por sulfato de Cu (75 mg/L) en la tenca (*Tinca tinca L*), inhibieron el sistema piruvato deshidrogenasa, interrumpiendo la producción de energía de hepatocitos e inhibiendo la absorción de sodio, modificando así la permeabilidad de la membrana celular e inhabilitando la capacidad de síntesis de proteína, representada en la disminución, sobre todo, de ceruloplasmina (Roncero *et al.*, 1992).

El cortisol plasmático expresado en ng cortisol/mg proteína mostró un incremento significativo en las truchas expuestas a 10 y 25 µg/L de cloruro de Cd durante 30 días, no así cuando se expresa en ng de cortisol/ml de plasma, ya que el tratamiento con cloruro de Cd produce hipoproteinemia (Ricard *et al.*, 1998).

Chaurasia *et al.* (1996) administraron 5, 10 y 15 ppm de nitrato de Pb en acuarios al pez gato, y concluyeron que la concentración de hormona tiroidea (T₃) disminuyó, a causa de la inhibición de la enzima 5'-D que es responsable de la conversión de la T₄ a la T₃, siendo éste la ruta más importante de la génesis de T₃.

Hallazgos anatomopatológicos

Peces de una especie de percasol (*Lepomis macrochirus*), expuestas a 12,7 mg/L de Cd durante 32 días, desarrollaron córneas opacas más abultadas y lesiones ulcerativas de la dermis. Estas lesiones se localizaron típicamente en la superficie lateral superior a la inserción de la aleta pectoral, base de la garganta y cerca de las branquias. Percasoles expuestos a la misma dosis de Cd durante 163 días causaron pocas lesiones en los órganos internos. Se observaron lesiones en las branquias, mostrando hiperplasia e hipertrofia. Los filamentos estaban engrosados y separados (Versteeg y Giesy, 1986).

En el bazo de los peces expuestos se redujo el área blanca a los 14 días de exposición a Cd, atribuible a una redistribución de linfocitos, lo que puede representar un efecto no deletéreo para los peces (Ohsawa *et al.*, 1983).

Las lesiones que Roncero *et al.* (1990) encontraron en la tenca (*Tinca tinca, L.*), tras exposición a 75 mg de nitrato de Pb/L de agua, se localizaron básicamente en las branquias. Estas lesiones incluyeron hiperplasia y necrosis de las células

epiteliales del espacio interlaminillar, proceso ya evidente a las 24h tras la administración del tóxico. En el espacio extracelular se pudo apreciar un material granular electrodenso, que podría tratarse de partículas de Pb. Posteriormente, se produjo necrosis celular y muerte de las tencas hacia el 9º día.

Una exposición a 30,3; 47; 62,5; 79 y 95 mg/L de una solución acuosa de Pb^{2+} , produjo alteraciones en la estabilidad de la membrana lisosomal (medido por la liberación de ácido fosfatasa) de las branquias de la tilapia (*Oreochromis hornorum*), proporcionales a la dosis recibida. Concluyen el estudio diciendo que la evidencia de inestabilidad de la membrana lisosomal es un indicador sensible para monitorizar la contaminación de plomo en agua.

Zeeman y Brindley (1981) encontraron que peces expuestos entre 1 y 3,2 mg/Kg de Cu^{2+} mostraron un incremento elevado en la necrosis de los tejidos intersticiales hematopoyéticos del riñón del pez.

Roncero *et al.* (1992) expusieron experimentalmente tencas (*Tinca tinca L*) a 75 mg de sulfato de Cu/L agua. El hígado fue el órgano de almacén de las sales de cobre, provocando edema periportal y en fases finales (12 días) abundante infiltración de células reticuloendoteliales repletas de pigmento hemoglobinémico. Hacia el día 6 de la exposición se produjo degeneración vacuolar que condujo más tarde a necrosis que cubría largas áreas del hepatocito y consecuentemente, desintegración del mismo.

Gómez *et al.* (1998) expusieron experimentalmente tencas (*Tinca tinca L.*) a 13,5 mg/L de sulfato de Cu. Las lesiones más características fueron hiperplasia del epitelio interlaminillar e incremento de las células epiteliales del espacio interlaminillar que al final conducen a necrosis (evidentes al 4º día de exposición).

3.8.- NIVELES DE TOLERANCIA POR LA LEGISLACIÓN

Aguas

Según Sadiq, 1992, niveles de Cd por debajo de 100 ng/L se pueden considerar como relativamente aguas no contaminadas. Gill *et al.* (1993) comentan que la concentración de Cd en aguas impolutas está entre 36 y 60 ppt. Kennish (1994), por su parte, nos dice que la concentración base del Cd en ríos y océanos está entre 30-50 ng/L, valor muy similar al que defiende el anterior autor. Todas estas afirmaciones nos dan una idea clara de los niveles deseables de Cd en las aguas naturales no sometidas a contaminación antropogénica.

Los niveles máximos tolerables por la US-EPA en aguas continentales para el Zn, Cd, Pb y Cu son de 5.000, 10, 50 y 1.000 ppb respectivamente, mientras que los niveles que se encuentran de forma habitual son de 10, 0,07, 0,2 y 1,8 ppb (Fornstner y Wittman, 1979).

El criterio seguido por González *et al.* (1984) para las concentraciones, expresadas en ppb, de algunos metales pesados en los cursos de agua protegidos y las consideradas de riesgo mínimo son las siguientes:

	<u>Zn</u>	<u>Cd</u>	<u>Pb</u>	<u>Cu</u>
Valor permitido en cauces protegidos de España	5000	20	100	50
Valor considerado de riesgo mínimo	20	0,2	10	10

La Directiva 78/659/CEE del Consejo de 18 de julio de 1978 relativa a la calidad de las aguas continentales que requieren protección o mejora para ser aptas para la vida de los peces establece las siguientes concentraciones máximas en zinc y cobre que están en función de la dureza del agua:

- Zinc total: 0,3-1,0 mg/l para una dureza del agua de 100 mg/l de CaCO₃. Para durezas comprendidas entre 10 y 500 mg/l, los valores límite correspondientes se pueden encontrar en el Anexo II.
- Cobre soluble: 0,04 mg/l para una dureza del agua de 100 mg/l de CaCO₃. Para las durezas comprendidas entre 10 y 300 mg/l, los valores límite correspondientes se pueden encontrar en el Anexo II.

anexo II: indicaciones particulares relativas al zinc total y al cobre soluble:

Zinc total	Valores de dureza de las aguas comprendidos entre 10 y 500 mg/L CaCO ₃			
	10	50	100	500
Aguas salmonícolas	0,03	0,2	0,3	0,5
Aguas ciprinícolas	0,3	0,7	1,0	2,0

Tabla 47. Concentraciones de zinc (mg/L de Zn) en función de diversos valores de dureza de las aguas comprendidos entre 10 y 500 mg/L CaCO₃

Cobre soluble	Valores de dureza de las aguas comprendidos entre 10 y 500 mg/L CaCO ₃			
	10	50	100	500
mg/L Cu	0,005	0,022	0,04	0,112

Tabla 48. Concentraciones de cobre soluble (mg/L Cu) en función de diversos valores de dureza de las aguas comprendidos entre 10 y 300 mg/l CaCO₃

La Directiva 76/464/CEE (modificada por la 91/692/CEE y la 2000/60/CEE) relativa a la contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas vertidas en el medio acuático de la Comunidad sienta las bases para que se adopten las medidas apropiadas para eliminar la contaminación de las aguas naturales por vertidos con el fin de proteger eficazmente el medio acuático. Detalla una Lista II que recoge sustancias que tienen efectos perjudiciales sobre el medio acuático y que no obstante pueden limitarse a determinada zona según las características de las aguas receptoras y su localización, entre las que contempla el zinc, cobre y plomo.

La Directiva 2000/60/CEE por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas incluye a los metales y sus compuestos entre los principales contaminantes de las aguas, y la Decisión 2455/201/CE del Parlamento Europeo y del Consejo incluye al cadmio, al plomo y a sus respectivos compuestos entre las sustancias peligrosas prioritarias a controlar.

La Directiva 83/513/CEE del Consejo (modificada por la 91/692/CEE) relativa a los valores límite y a los objetivos de calidad para los vertidos de cadmio establece que, si bien el objetivo es eliminar toda contaminación, unas concentraciones máximas de cadmio de 5 µg/L en aguas superficiales interiores afectadas por vertidos constituyen las exigencias mínimas necesarias para proteger la vida acuática.

Respecto a las aguas continentales superficiales que van a ser destinadas a la producción de agua potable, la Orden de 11 de mayo de 1988 del MOPU (que traspone la Directiva CEE 75/440), modificada por la orden de 15 de octubre de 1990, establece las siguientes características básicas de calidad en función del tratamiento que han de recibir esas aguas:

PARÁMETRO (mg/l)	TRATAM. A1	TRATAM. A2	TRATAM. A3
Cobre	0.05	(0.05)	(1)
Zinc	3	5	5
Cadmio	0.005	0.005	0.005
Plomo	0.05	0.05	0.05

Tabla 49. Características de calidad de las aguas en función del tratamiento que han de recibir.

Los valores entre paréntesis se tomarán como valores indicativos deseables con carácter provisional.

Respecto a las aguas potables, describimos a continuación los datos más interesantes.

Según Mustafa *et al.* (1988), OMS y el Servicio Público de Salud de los E.E.U.U. (USPHS) recomendaron valores límites de la concentración de Cd y Zn en aguas potables de consumo humano en 0,01 y 5 mg/L respectivamente.

La Oficina del Agua de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US-EPA, 2000) detalla los siguientes niveles deseables y máximos permitidos en agua potable dentro de los estándares del Reglamento Nacional Primario de Agua Potable:

Contaminante	MNMC (mg/l)	NMC (mg/l)
Cadmio	0.005	0.005
Cobre	1.3	Nivel de acción=1.3
Plomo	Cero	Nivel de acción=0.015

Tabla 50. Niveles deseables y máximos permitidos por la US-EPA en aguas

* MNMC = Meta del Nivel Máximo del Contaminante, que es el nivel de un contaminante en el agua potable por debajo del cual no se conocen o no se esperan riesgos para la salud, por lo que permiten contar con un margen de seguridad y no son objetivos de salud pública obligatorios.

* NMC = Nivel Máximo del Contaminante, que es el máximo nivel permitido de un contaminante en el agua potable, por lo que se establecen lo más próximos posible a los MNMC según permita la tecnología y los costos.

En el caso del plomo y el cobre se establecen unos niveles de acción que se usan como límites a partir de los cuales se deben adoptar medidas adicionales de tratamiento.

El REAL DECRETO 1138/1990, de 14 de septiembre, que traspone la Directiva 80/778/CEE, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables de consumo público, establece las siguientes cantidades máximas de sustancias admitidas:

Parámetro	Nivel guía ($\mu\text{g/L}$)	Conc. Máx admi. ($\mu\text{g/L}$)
Zinc	100	-
Cadmio	-	5
Plomo	-	50 (en agua corriente)
Cobre	100 (a la salida de las instalaciones de bombeo y/o preparación y de sus dependencias) 3000 (después de 12 horas de estancamiento en la canalización y en el punto de puesta a disposición del consumidor)	-

Tabla 51. Concentraciones de metales pesados en aguas potables, según la legislación española

Estos valores deberán modificarse próximamente de acuerdo con la Directiva 98/83/CE del Consejo donde desaparece la concentración máxima para el zinc y se determinan los siguientes valores para los demás compuestos de nuestro interés:

- Cadmio: 5 $\mu\text{g/L}$
- Cobre: 2 mg/L
- Plomo: 10 $\mu\text{g/L}$

Peces

Con el fin de preservar la salud pública, la nueva legislación vigente respecto al contenido de contaminantes en los peces es el Reglamento 466/2001/CE de la Comisión por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. En ella se contemplan como sustancias necesarias de controlar el plomo y el cadmio, fijando los siguientes contenidos máximos en productos de la pesca:

- Plomo:
 - 0,2 mg/kg en carne de pescado en general
 - 0,4 mg/kg en el caso particular de la carne de lenguadillo (*Dicologlossa cuenata*), anguila (*Anguilla anguilla*), baila (*Dicentrarchus punctatus*), jurel (*Trachurus trachurus*), lisa (*Mugil labrosus labrosus*), mojarra (*Diplodus vulgaris*), ronco (*Pomadasys benneti*), sardina (*Sardina pilchardus*)

- Cadmio:
 - 0,05 mg/kg en carne de pescado en general
 - 0,1 mg/kg en el caso particular de la carne de lenguadillo (*Dicologlossa cuenata*), anguila (*Anguilla anguilla*), *Anguilla*, boquerón (*Engraulis encrasicholus*), luvaro (*Luvarus imperialis*), jurel (*Trachurus trachurus*), lisa (*Mugil labrosus labrosus*), mojarra (*Diplodus vulgaris*), ronco (*Pomadasys benneti*), sardina (*Sardina pilchardus*).

1.- TOMA DE MUESTRAS

La toma de muestras se realizó en el P.N. de Monfragüe, situado al noreste de la provincia de Cáceres. Como se ha dicho en la introducción, se trata de un Parque Natural que representa el bosque mediterráneo con una gran riqueza en especies animales.

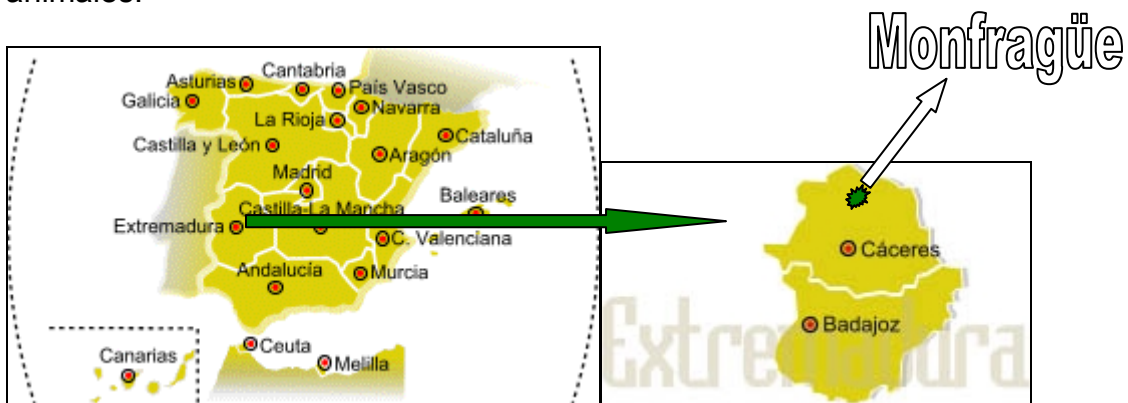


Figura 20. Mapa de España, localizando la Comunidad Autónoma de Extremadura, y dentro de la Comunidad Autónoma, situación del P.N. de Monfragüe.

1.1.- AGUAS

1.1.1.-Localización de los puntos de muestreo

El agua representa un medio en el que viven las especies piscícolas objeto de nuestro estudio. Atravesando el P.N. de Monfragüe, se encuentran dos grandes ríos, el río Tajo y el río Tiétar, de los que hemos tomado las muestras para el análisis de metales pesados y OC.

La localización de los puntos de muestreo queda reflejado en la figura de abajo, en la que representa el P.N. de Monfragüe atravesado por el río Tajo y el río Tiétar.



Figura 21. Puntos de muestreo de muestras de agua en los ríos Tajo y Tiétar

Los muestreos periódicos se realizaron en 5 puntos:

Río Tajo:

- 1 toma a la entrada del río Tajo en el Parque Natural (Tajo 1)
- 1 toma en la mitad del transcurso del río Tajo por el Parque (Tajo 2)
- 1 toma al final del transcurso del río Tajo por el Parque donde además ya ha recibido las aguas del río Tiétar (Tajo 3).

Río Tiétar:

- 1 toma a la entrada del río Tiétar en el Parque Natural (Tiétar 1)
- 1 toma en la mitad del transcurso del río Tiétar por el Parque (Tiétar 2)

1.1.2.- Periodicidad de los muestreos

Se procedió a la toma de muestras durante el periodo comprendido entre septiembre de 1996 y agosto de 1997. En dicho periodo se tomó una muestra mensual, recogida entre el día 13 y 16 de cada mes, de agua superficial de los ríos Tajo y Tiétar en los 5 puntos anteriormente señalados.

El número total de muestras de agua recogidas y analizadas en el laboratorio fue de 60.

1.1.3.- Técnica de muestreo

Para evitar posibles contaminaciones de las muestras de agua en el proceso de recogida, se han tenido en cuenta las precauciones descritas por APHA-AWWA-WPCF (1992).

Todas las muestras de agua destinadas para el **análisis de OC** se recogieron en botellas de vidrio de color ámbar de 5 litros de capacidad, previamente lavadas y aclaradas con acetona y hexano. En el momento de la toma de muestras se hacen 2 enjuagues previos con el agua del río y después se hace la toma de la muestra de agua superficial a unos 30 cm de profundidad.

Todas estas muestras de agua se procesan en el laboratorio el mismo día de su toma. Se realiza todo el proceso descrito en el método, excepto la cuantificación.

Las muestras de agua destinadas al **análisis de metales pesados** se recogieron en botellas de polietileno de 1L de capacidad. Las botellas estuvieron inmersas en una solución de ácido nítrico al 10% durante 24 h antes y aclarados con agua ultrapura. En el momento de la toma de muestras en cada punto, cada botella se enjuagó dos veces con el agua de río antes de tomar la muestra definitiva de agua a unos 30 cm de profundidad.

A cada muestra de agua destinada al análisis de metales pesados se añade 1,5 mL de ácido nítrico ultrapuro al 65% para conservar las muestras. Se transportan al laboratorio el mismo día de la recogida, se refrigeran a 4°C y se analizan en la misma semana de la recogida de las muestras.

1.1.4.- Características de las aguas de los ríos

Se caracterizan por ser dos ríos con gran caudal. El Tiétar es un afluente del río Tajo y desemboca en este último en el último tercio del P. N. de Monfragüe, como se mostró en el mapa.

El Tajo y sus afluentes son ríos contemplados en el Plan Nacional Hidrológico. El organismo encargado de su gestión es la Confederación Hidrológica del Tajo, que ha basado el aprovechamiento de sus aguas para abastecimiento urbano, suministro a regadíos agrícolas, usos industriales, aprovechamiento energético, refrigeración de centrales térmicas y el trasvase Tajo-Segura.

La complejidad de estos usos requiere de una gran organización y control del caudal del río. Como consecuencia, sobre ambos ríos se ejerce un control del caudal, mediante presas y trasvases de agua según las necesidades, peculiaridades que hacen que los dos ríos objetos de estudio parezcan embalses, más que si fueran ríos con un caudal de agua en continua corriente.

En el P.N. de Monfragüe, la presa de Torrejón-Tiétar regula el caudal que fluye por el río Tiétar y la presa de Torrejón-Tajo regula el caudal del río Tajo. De esta forma, los dos ríos mantienen un caudal más o menos constante realizándose el control con las presas anteriores y posteriores al Parque.

Los datos referentes a la calidad de las aguas fueron suministrados por el Departamento de Calidad de Aguas de la Confederación Hidrográfica del Tajo, mediante la toma de muestras realizadas por las subestaciones situadas cercanas a las dos presas. No poseemos datos del verano de 1996 porque la Confederación no los tomó.

Las características de calidad de ambos ríos en el año 1997 se detallan en las siguientes tablas:

RIO TAJO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE
FECHA TOMA MUESTRA	11/7/97	8/8/97	1/9/97
Tª AGUA (°C)	23,6	23,7	22,1
Tª AMBIENTE (°C)	24	29,2	27,6
pH	8,6	8,0	7,6
OXIGENO DISUELTO (mg/l) O2	7,3	6,5	6,9
OXIGENO SATURACIÓN %	87,8	78,4	81,0
CONDUCTIVIDAD (µS/cm)	970	898	678
DBO5 (mg/l)	4	3	2
DQO (mg/l O2)	18	<10	<10
MATERIA SUSPENSIÓN	14	6	4
NITRATOS (mg/l N)	31	12	4
NITRITOS (mg/l N)	0,26	0,13	0,23
AMONIO (mg/l N)	0,33	0,53	0,49
N KJELDAHL (mg/l N)	0,6	0,7	0,5
FOSFORO (mg/L P)	0,26	0,4	0,39
FOSFATOS (mg/l P2O5)	0,33	0,92	0,73
CIANUROS (mg/l CN)	-	-	<0,01
BICARBONATOS (mg/L H2CO3)	-	-	114
CLORUROS (mg/L Cl)	53	99	60
FLUORUROS (mg/L F)	-	-	0,2
SULFATOS (mg/L SO4)	11	197	199
MERCURIO (mg/l Hg)	-	-	<0,001
CADMIO (mg/L Cd)	-	-	<0,005
ARSÉNICO (mg/L As)	-	-	0,011
CROMO TOTAL (mg/L Cr)	-	-	<0,05
COBRE (mg/L Cu)	-	-	<0,05
ZINC (mg/L Zn)	-	-	<0,05
PLOMO (mg/L Pb)	-	-	<0,05
HIERRO (mg/L Fe)	-	-	<0,05
MANGANESO (mg/L Mn)	-	-	<0,05
SODIO (mg/L Na)	-	-	51
CALCIO (mg/L Ca)	-	-	60
MAGNESIO (mg/L Mg)	-	-	56
POTASIO (mg/L K)	-	-	5
HC DISUELTO (mg/L)	-	-	<0,05
TENSIOACTIVOS (mg/L)	<0,05	<0,05	<0,05
FENOLES (mg/L)	-	-	<0,01
COLIFORMES TOTALES (ufc/100 ml)	10	40	210
Tabla 52. Características físico-químicas del río Tajo. Datos suministrados por la Confederación Hidrológica del Tajo.			

En el río Tiétar, las características fueron similares:

RIO TIETAR	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE
FECHA TOMA MUESTRA	17/6/97	11/7/97	8/8/97	1/9/97
Tª AGUA (°C)	23,3	20,5	24,2	25
Tª AMBIENTE (°C)	25,1	22,7	29	27,3
pH	8,6	8,9	7,9	7,5
OXIGENO DISUELTO (mg/l) O2	6,8	7,4	7,0	6,1
OXIGENO SATURACIÓN %	71,6	87,5	85,1	80
CONDUCTIVIDAD (µS/cm)	64	104	110	140
DBO5 (mg/l)	10	6	4	3
DQO (mg/l O2)	34	35	14	<10
MATERIA SUSPENSIÓN	12	19	6	6
NITRATOS (mg/l N)	<1	13	3,1	<1
NITRITOS (mg/l N)	<0,01	0,19	0,1	<0,01
AMONIO (mg/l N)	0,18	0,68	0,54	1,1
N KJELDAHL (mg/l N)	<0,5	0,8	0,7	1
FOSFORO (mg/L P)	0,008	0,21	0,1	0,13
FOSFATOS (mg/l P2O5)	0,04	0,01	0,02	0,11
CIANUROS (mg/l CN)	-	-	<0,01	-
BICARBONATOS (mg/L H2CO3)	-	-	32	-
CLOUROS (mg/L Cl)	7	11	11	14
FLUORUROS (mg/L F)	-	-	0,1	-
SULFATOS (mg/L SO4)	6	5	12	20
MERCURIO (mg/l Hg)	-	-	<0,001	-
CADMIO (mg/L Cd)	-	-	<0,005	-
ARSÉNICO (mg/L As)	-	-	<0,005	-
CROMO TOTAL (mg/L Cr)	-	-	<0,05	-
COBRE (mg/L Cu)	-	-	<0,05	-
ZINC (mg/L Zn)	-	-	<0,05	-
PLOMO (mg/L Pb)	-	-	<0,05	-
HIERRO (mg/L Fe)	-	-	0,09	-
MANGANESO (mg/L Mn)	-	-	<0,05	-
SODIO (mg/L Na)	-	-	12	-
CALCIO (mg/L Ca)	-	-	10	-
MAGNESIO (mg/L Mg)	-	-	1	-
POTASIO (mg/L K)	-	-	2	-
HC DISUELTO (mg/L)	-	-	<0,05	-
TENSIOACTIVOS (mg/L)	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
FENOLES (mg/L)	-	-	<0,01	-
COLIFORMES TOTALES (ufc/100 ml)	15	210	18	890

Tabla 53. Características físico-químicas del río Tiétar. Datos suministrados por la Confederación Hidrológica del Tajo.

1.2.- PECES

1.2.1.- Localización de los puntos de muestreo

Los peces objeto de estudio se capturaron en los dos ríos, en su curso por el P.N. de Monfragüe.

Los peces del río Tajo se capturaron en el embalse de Torrejón-Tajo. Los peces del río Tiétar se capturaron en el embalse de Torrejón-Tiétar, a la altura del salto de Torrejón.



Figura 22. Puntos de muestreo de peces en el río Tajo (en amarillo) y Tiétar (en rojo) dentro del P.N. de Monfragüe.

1.2.2.- Periodicidad de los muestreos

Se procedió a realizar 3 muestreos en cada uno de los ríos durante el periodo comprendido entre julio de 1996 y agosto de 1997. El primer muestreo se realizó el 23 de julio de 1996, el segundo se realizó el 29 de abril de 1997 y el tercero se realizó el 22 de agosto de 1997. Datos que se recogen en la siguiente tabla:

	Tajo (Embalse Torrejón-Tajo)	Tiétar (Embalse Torrejón-Tiétar)	Total
23 julio 1996	16	14	30
29 abril 1997	12	6	18
22 agosto 1997	10	12	22

Tabla 54. Número y fechas de captura de peces en ambos ríos.

Se tomaron datos biométricos de todos los peces que a continuación se detallan en cada río.

Valores medios \pm desv. estándar de peces del RIO TAJO					
	peso (g)	longitud (cm)	altura (cm)	Hembras	Machos
julio-1996	596,15 \pm 173,6	31,6 \pm 9,14	6,98 \pm 2,02	4	12
abril-1997	487,78 \pm 88,77	30,93 \pm 2,34	7,08 \pm 0,59	7	5
agosto-1997	790,78 \pm 140,1	39,03 \pm 3,36	8,44 \pm 0,75	5	5
Promedio \pm desv. estándar	630,32 \pm 150,75	34,56 \pm 3,87	7,63 \pm 0,78	16	22

Tabla 55. Características biométricas de los peces capturados en el río Tajo

Valores medios \pm desv. estándar de peces del RIO TIETAR					
	peso (g)	longitud (cm)	altura (cm)	Hembras	Machos
julio-1996	443,57 \pm 98,30	31,01 \pm 2,37	6,15 \pm 0,75	12	2
abril-1997	379,2 \pm 181,88	30,4 \pm 6,79	6,00 \pm 1,02	3	3
agosto-1997	404,29 \pm 175,51	29,67 \pm 4,75	6,45 \pm 1,15	4	8
Promedio \pm desv. estándar	417,98 \pm 143,26	30,39 \pm 4,15	6,24 \pm 0,95	19	13

Tabla 56 Características biométricas de los peces capturados en el río Tiétar.

En conclusión, para la elaboración del presente estudio, se capturaron un total de 70 peces de especie única que fue el barbo comiza (*Barbus comizo*), que en conjunto presentaron un peso de 534,92 \pm 180,94 g, una longitud de 32,69 \pm 4,49 cm y una altura de 7,01 \pm 1,11 cm.

1.2.3.- Técnica de muestreo

Los peces fueron capturados con una red trasmallo por los Agentes de Medio Ambiente de la Junta de Extremadura encargados del P.N. de Monfragüe y se transportaron, el mismo día de captura, en sacos de tela al laboratorio.

Cada pez se lavó con agua potable, fue aclarado con agua destilada y se tomaron datos biométricos, como el peso, longitud (desde la boca a base de la cola) y altura (desde el inicio de la aleta dorsal al borde inferior del pez) y cada pez se envolvió en papel de filtro. Después se introdujeron en bolsas de plástico, adecuadamente rotuladas para su identificación y se congelaron rápidamente a -40°C para su posterior análisis.

1.2.4.- Características de la especie seleccionada. Barbo comiza

Para la elaboración del presente estudio, se pretendía escoger la o las especies que se presentaran con mayor densidad en el momento de la captura. En nuestro caso, el barbo comiza (*Barbus comizo*) fue la única especie capturada en todos los muestreos realizados.

Es un pez típico de zonas de corrientes profundas y rápidas de los cursos superiores y centrales de los ríos por lo que se ha dado en llamar a estos tramos “la zona del barbo “.

Descripción

El barbo es uno de los peces más habituales en todos nuestros ríos. Es un pez largo y esbelto, con el vientre plano y adaptado a vivir en el fondo. Comparándolo con otros peces de la misma talla, el barbo es un pez más ligero.

El dorso de los adultos es de color pardo verdoso, volviéndose amarillento al acercarse a los flancos y blanquecino en el vientre y la garganta. Las escamas son pequeñas y muy pegadas a la piel, lo que hace que disponga de una escasa capa de mucosa protectora. Los ojos son desproporcionadamente pequeños.

El hocico es largo, con una parte colgante y una boca saliente que utiliza para absorber la comida, posee unos labios gruesos y carnosos y presenta cuatro barbillones, uno de cada esquina de la boca y dos bajo el hocico, posee una abertura bucal pequeña y en la parte posterior, cerca de la garganta, tiene unos potentes dientes faríngeos que utiliza para triturar la comida antes de tragarla. En los barbillones están alojados los sentidos del gusto y del tacto y los utiliza para buscar la comida entre los sedimentos y la grava del lecho de los ríos.

Su talla oscila entre los 20 y los 75 cm llegando a pesar entre 8 y 10 Kg. La hembra tiene un crecimiento más rápido y el macho alcanza tallas mayores.

El barbo comizo se diferencia del común por tener un largo hocico y el primer radio de la aleta dorsal osificado y robusto. Solo se encuentra en las cuencas del Tajo, Guadalquivir y Guadiana, como es el caso.

Ciclo de vida del barbo

Frezan en mayo y Junio en aguas corrientes entre la grava del fondo, en esta época se concentran en cardúmenes para remontar los ríos y arroyos. Los machos exhiben unas protuberancias blancas en la cabeza y dorso.

Las hembras buscan zonas poco profundas, excavan una pequeña depresión con la cola, depositan sus huevos, y a veces los cubren. Una vez hecha la puesta, darán carreras veloces por la zona de freza para limpiarse. Cada hembra deposita de 3.000 a 30.000 huevos de color ambarino. Estos huevos, que son tóxicos, se pegan a las piedras o se alojan entre hendiduras del fondo y la incubación dura de 10 a 15 días. Los peces recién nacidos, protegidos entre las piedras y plantas, se alimentan primero de algas, y luego, durante su desarrollo, de ninfas, camarones, caracoles, renacuajos, cangrejos, peces pequeños e incluso de moscas en la superficie.

El pez de un año tiene una talla de 12 a 15 cm y el cuerpo ligeramente moteado. A finales del segundo año de su vida los barbos habrán doblado su longitud y a finales del tercero tendrán 35 cm o más. Los peces de 5 años medirán entre 45 y 52 cm. Cuando su peso se sitúa entre 2,8 y 3,2 kg. tendrán unos 60 cm de longitud y habrá alcanzado la edad de 7 u 8 años. Sobre los 4 kg. serán ya un ejemplar bastante maduro y a cuando pese más de 8 kg. es posible que haya alcanzado una edad entre 13 y 15 años.

Costumbres

Después de la época de freza regresan a sus lugares de alimentación habituales. Cuando llega el otoño buscarán aguas más profundas y en invierno, en zonas frías, pasarán a un estado de semi-hibernación y sólo se alimentaran cuando despierten durante períodos de tiempo calurosos y soleados.

El barbo es un pez que cuando las condiciones le son favorables se alimentará continuamente a lo largo de todo el día, y lo hará en breves periodos cuando éstas no lo sean. Sus periodos más activos se desarrollan por la noche y cuando el curso del río arrastra alimento, como sucede después de una tormenta. Se alimentan de plantas y animales que encuentran entre las capas de cieno del lecho del río, que limpian por aspiración, y realizan búsquedas entre la arena y la grava en grupos de varios individuos que se reúnen en torno a las piedras, moviéndolas para poder alcanzar los bentos escondidos.

2.- ANÁLISIS QUÍMICO

Uno de los principales problemas que se plantean en los estudios de monitorización de sustancias contaminantes, sobre todo cuando se pueden encontrar a niveles trazas, como suele ocurrir con los OC y metales pesados, es la posibilidad de contaminación indeseable al momento del muestreo, procesado y análisis de las muestras.

Para evitar los problemas metodológicos que pueden acarrear contaminación de las muestras o materiales que se usan en los diferentes análisis, se tuvieron en cuenta las recomendaciones que, sobre preparación de las muestras y limpieza de los materiales a utilizar, se describen para los ensayos de OC y metales pesados en peces por parte de la FAO (1983) y para aguas, lo descrito por la APHA-AWWA-WPCF (1992).

Para el análisis cuantitativo de los metales pesados nos hemos decantado por la **voltamperometría de redisolución anódica** debido a la disponibilidad del equipamiento y las ventajas que suponen en cuanto a coste y mantenimiento y límite de detección con respecto a la técnica clásica de espectrofotometría de absorción atómica, en sus modalidades de llama o cámara de grafito. Para estos análisis, siempre se ha utilizado el método de las adiciones estándar para cuantificación.

Para el análisis de OC se ha utilizado, tanto en aguas como en músculo de pez, la técnica de la extracción en fase sólida mediante el uso de cartuchos de C-8 o C-18 en los procesos de extracción y purificación y la **cromatografía de gases con detector de captura de electrones (ECD)** para cuantificación mediante la técnica de patrón externo.

Tanto la técnica voltamperométrica como la cromatografía de gases están contempladas como métodos de cuantificación de metales y plaguicidas respectivamente en la orden de 8 de febrero de 1988 (BOE 2/3/1998) relativa a los métodos de medición y a la frecuencia de muestreo y análisis de aguas superficiales que se destinen a la producción de agua potable.

2.1.- DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS EN AGUAS

2.1.1.- Método

Para evitar contaminación por metales pesados en el análisis, los reactivos ácidos utilizados fueron de calidad suprapur para análisis de trazas y el agua utilizada fue de calidad ultrapura miliQ.

Todo el material utilizado se mantuvo durante 12 horas en una solución de ácido nítrico al 10% y posteriormente se enjuagó con agua ultrapura varias veces.

El tampón acetato pH 4,6 2M utilizado como electrolito soporte en las determinaciones de Zn, Cd y Pb se pasó a través de una columna de resina Chelex 100 antes de su uso. Con ello, se consiguió una reducción efectiva en la carga de elementos metálica, llegando a tener una concentración final que era el 15; 37,1 y 85% de la concentración inicial de Zn, Cd y Pb, respectivamente.

2.1.1.1.- Determinación de metales pesados disueltos en agua

Los metales disueltos son los componentes (metálicos) de una muestra sin acidular que pasan a través de un filtro de membrana de 0,45 µm (APHA, AWWA, WPCF).

El primer paso seguido fue el filtrado de las muestras de agua. Para ello se cogieron 50 mL de las muestras de agua destinadas a la determinación de metales pesados y se hicieron pasar por un filtro de membrana de nylon de 0,45 µm de poro (APHA, AWWA, WPCF), recogándose en matraces.

Para la cuantificación se siguieron los pasos descritos en el método "**Determinación de Zn, Cd, Pb, Cu**" descrito en la monografía "Polarografía. Voltamperometría de redisolución. Fundamentos y aplicaciones" desarrollada en las aplicaciones de técnicas VA en el análisis de trazas con instrumentos METROHM (Carvajal *et al.*, 1991).

En la cubeta de medida, se colocaron 20 mL de agua filtrada a los que se añadieron 5 mL de tampón acetato 2M ó 20µL de ácido perclórico, dependiendo del metal a analizar y se procedió al análisis de los niveles de metales por duplicado, además de dos blancos cada día.

2.1.1.2.- Determinación de metales pesados totales en muestras de agua

Se entiende por metales totales a la concentración de metales determinada en una muestra sin filtrar tras digestión intensa, o la suma de las concentraciones de metales en las fracciones disuelta y suspendida (APHA, AWWA, WPCF).

Para la digestión de la muestra seguimos el protocolo de actuación contemplado por APHA-AWWA-WPCF (1992). En un matraz de 250 mL se añaden 100 mL de la muestra de agua y 5 mL de ácido nítrico concentrado (65%). Se someten a digestión caliente en placa (hervir) hasta concentrar la muestra a 5 mL aproximadamente, comprobando que está transparente. Se deja enfriar 15 minutos y se añade agua ultrapura y se traspasa el contenido a un matraz aforado de 25 mL y se completa el volumen hasta enrase.

Para la cuantificación de los metales totales, se colocaron 20 mL de agua digerida en la cubeta de medida del voltamperómetro y se les aplicó las correspondientes condiciones de medida.

2.1.2.- Polarografía

La determinación de metales pesados puede realizarse por diversos métodos (espectrofotometría de absorción atómica de llama, electrotérmica de absorción molecular con cámara de grafito, ICP, voltamperometría, etc...). De estos métodos, la voltamperometría es uno de los utilizados en la actualidad para muestras biológicas (Valenta *et al.*, 1977; Gajan *et al.*, 1982; Wahdat *et al.*, 1990; García, 1994).

2.1.2.1.- Equipo utilizado y condiciones operativas

Se ha utilizado un polarógrafo METROHM, constituido por un procesador VA-746 y un puesto de trabajo VA-747. Este puesto de trabajo consta de una cubeta de vidrio donde se deposita la muestra y tres electrodos:

- a) **electrodo de trabajo**, NME, o electrodo multimodo
- b) **electrodo de referencia**, compuesto de un sistema de referencia Ag/AgCl y un vaso relleno de electrolito (tampón KCl 3 mol/L)
- c) **electrodo auxiliar** de platino

La medición de los metales pesados en aguas se realizó en dos segmentos.

Un primer segmento en el que se midió cobre y luego se mide el segmento de Zn-Cd-Pb, adicionándole el tampón acetato.

Cuando se midieron metales pesados en aguas superficiales utilizamos como electrolito de soporte el ácido perclórico y la señal producida para cada metal era buena, excepto para el Zn en el que se producía una depresión de la señal del

mismo por lo que su resolución no era buena. Al utilizar el tampón para medir el segmento entero, el pico del Cu se desdoblaba en dos, con lo que no podíamos cuantificar bien el Cu. De tal forma que decidimos realizar primero la medición de Cu en medio ácido, añadiendo 20 μL de ácido perclórico a la muestra de agua y después añadir 5 mL de tampón acetato y medir el segmento de Zn, Cd y Pb. Las condiciones operativas fueron:

VARIABLES DEL MÉTODO	SEGMENTO DEL CU	SEGMENTO Zn-Cd-Pb
Purga de nitrógeno	300 seg a 2.000 rpm	300 seg a 2.000 rpm
Técnica	HMDE (tamaño de gota 4)	HMDE (tamaño de gota 4)
Modo de medición	Diferencial de impulsos (DPMODE)	Diferencial de impulsos (DPMODE)
Tiempo de electrolisis	120 seg	120 seg
Amplitud de impulsos	50 mV	50 mV
Tiempo de repetición de impulsos	40 msec	40 msec
Tiempo de reposo tras electrolisis	15 seg	15 seg
Inicio de medición	-200 mV	-1.110 mV
Fin de la medición	200 mV	-200 mV
Velocidad de barrido	20 mV/seg	20 mV/seg
Electrolito de soporte	20 μL de HCl	Tampón acetato

Tabla 57. Características de los segmentos de medida del Cu y del Zn-Cd-Pb en el voltamperómetro METROHM.

Las condiciones de cálculo fueron:

Adición de patrones: 2 por análisis

Volumen de solución de patrones: 100 μL (25 μL de cada patrón independiente)

Concentración de la solución patrón de trabajo: entre 1,5 y 3 veces de la medida en la muestra

Volumen de la muestra en cubeta: 20 mL

La **identificación** de cada pico viene ya indicada en el método. En nuestro caso concreto los potenciales de verificación no variaron sustancialmente.

Metal Potencial de verificación

Zn -950 mV \pm 50 mV Pb -400 mV \pm 50 mV

Cd -559 mV \pm 30 mV Cu 0 mV \pm 50 mV

2.1.3.- Validación de la técnica de análisis

Para dicha prueba, se prepara una muestra aleatoria de agua de Monfragüe de 240 mL a la que se añaden 10 mL de una mezcla de patrones para que el

volumen final sea de 250 mL con una concentración de 500 ng/L de cada uno de los patrones de Zn, Cd, Pb y Cu.

Se preparan alícuotas de 20 mL a la que se añade 20 µL de ácido perclórico y se mide la concentración de Cu y después se añaden 5 mL de tampón acetato y se mide la concentración de Zn, Cd y Pb en el voltamperómetro. Paralelamente se preparan 4 blancos con agua sin adicionar la mezcla de patrones, sino 10 mL de agua ultrapura y se procede a medir igual que el resto de las muestras.

Después de sustraer el promedio de los blancos a las muestras, los valores determinados están reflejados en la siguiente tabla:

	Zn (ng/L)	Cd (ng/L)	Pb (ng/L)	Cu (ng/L)
Muestra 1	510,45	482,94	496,99	491,16
Muestra 2	469,36	477,88	489,43	476,5
Muestra 3	513,15	479,38	502,71	493,11
Muestra 4	507,22	481,73	507,76	499,74
Muestra 5	507,56	472,35	511,01	486,02
Muestra 6	498,93	490,98	486,14	485,85
Muestra 7	523,33	473,25	496,61	480,58
Muestra 8	488,56	466,32	493,33	512,22
Muestra 9	523,15	479,61	490,2	493,69
Muestra 10	503,12	511,12	500,82	496,13
Media	504,483	481,556	497,5	491,5
Desv. Estándar	16,16	12,35	8,11	10,18
Coef. Variación	3,20	2,56	1,63	2,07
% recuperación	100,8966	96,3112	99,5	98,3

Tabla 58. Porcentaje de recuperación de los diferentes metales pesados adicionados a muestras de agua para verificar la exactitud del método de análisis de metales pesados disueltos.

En el caso de la técnica para analizar los metales pesados totales, se procede de igual forma.

Elegimos una muestra cualquiera de las traídas de Monfragüe y se preparan 10 alícuotas de 100 mL a las que se añaden 200 µL de una mezcla de patrones de concentración conocida (Zn=5 ppm; Cd=0,1 ppm; Pb= 2 ppm y Cu= 1 ppm) y se procede a digerirlas como la técnica anteriormente citada. Paralelamente se preparan 4 blancos utilizando la misma muestra de agua pero sin adicionar los patrones, si no 200 µL de agua ultrapura y se someten a los mismos pasos.

Después de sustraer el promedio de los blancos a las muestras, los valores determinados están reflejados en la siguiente tabla:

	Zn (µg/L)	Cd (ng/L)	Pb (µg/L)	Cu (µg/L)
Muestra 1	21,09	465,23	8,01	3,96
Muestra 2	19,03	363,55	7,99	3,88
Muestra 3	20,46	442,2	8,12	4,12
Muestra 4	16,46	415,15	6,96	3,65
Muestra 5	18,93	366,23	7,66	4,02
Muestra 6	22,18	389,62	8,02	4,23
Muestra 7	21,71	381,87	8,35	4,1
Muestra 8	21,96	384,95	7,12	4,09
Muestra 9	23,01	409,74	7,86	3,56
Muestra 10	19,68	413,01	8,32	3,78
Media	20,45	403,16	7,84	3,94
Desv. Estándar	1,96	32,59	0,47	0,22
Coef. Variación	9,60	8,08	5,98	5,54
% recuperación	102,26	100,79	98,01	98,48

Tabla 59. Porcentaje de recuperación de los diferentes metales pesados adicionados a muestras de agua para verificar la exactitud del método de determinación de metales totales en aguas.

Los porcentajes de recuperación y la variabilidad obtenida confirman la validez del método para la determinación de metales pesados en agua.

2.2.-DETERMINACIÓN DE OC EN AGUAS

2.2.1.- Método

Para la extracción de OC en agua se utilizó el protocolo de actuación del método M206 de determinación de OC en aguas superficiales y potables descrito en el manual de Analytichem Applications de ANALYTICHEM INTERNATIONAL, INC., preparado para el uso de las columnas de extracción en fase sólida Bond Elut C-8.

Una vez que las muestras de agua llegan al laboratorio, se filtran por un filtro de membrana de 0,45 µm de poro para eliminar la materia orgánica y sólidos en suspensión, hasta conseguir 1 L de agua filtrada. Esta se hace pasar por cartuchos de extracción en fase sólida rellenos de C-8, previamente activados con 2 volúmenes (2 mL) de metanol y después con dos volúmenes (2 mL) de agua ultrapura, evitando la desecación de la columna antes de pasar la muestra.

El flujo de paso de la muestra filtrada por los cartuchos rellenos de C-8 es de 1L/hora aproximadamente. Una vez que el agua ha terminado de pasar por los cartuchos, estos se dejan secar haciendo pasar aire durante ½ hora.

A continuación, se eluyen los plaguicidas de la columna con 2 volúmenes de 0,5 mL cada uno de acetato de etilo, que se recogen en viales de cristal de 2 mL previamente etiquetados y pesados en vacío.

2.2.2.- Cromatografía de gases

Para la cuantificación, los eluatos de acetato de etilo se proceden a pinchar en el cromatógrafo de gases equipado con detector de captura de electrones y un inyector split/splitless en modo splitless.

-Condiciones operativas del cromatógrafo de gases

Columna: columna semicapilar SGL-5 (5% difenilmetilsilicona) de 30 m x 0,53 mm y 5 µm de espesor, de Sugelabor®

Gas portador: nitrógeno 99,999% pureza

Flujo total: 51,7 mL/min (42,72 mL/min make-up + 9,37 mL/min gas portador + 0,61 mL gas de purga).

Tª detector: 300°C

Tª columna: 220°C

Tª inyector: 300°C

Volumen inyectado: 1 µL

-Identificación de los plaguicidas

Para cada cromatograma se realiza la identificación de cada uno de los picos según el tiempo de retención y comparándolos con el tiempo de retención de la mezcla de patrones de los 10 plaguicidas que se van pinchando en el cromatógrafo de gases cada 4 muestras.

Los tiempos de retención a los que aparecieron los plaguicidas son los siguientes:

Pesticida	Tiempo medio de retención (minutos)	Orden aparición
α-HCH	4,36	1º
β-HCH	4,93	2º
δ-HCH	5,83	4º
Lindano	5,21	3º
Heptacloro	8,01	5º
Endosulfán	15,35	6º
DDE	17,30	7º
DDD	22,44	8º
DDT	28,43	9º
Metoxicloro	41,59	10º

Tabla 60. Tiempo y lugar de aparición de los OC utilizados como patrón de plaguicidas

Como se puede apreciar en este cromatograma realizado, los picos se separan bien, si bien aparece un pico de una sustancia no identificada a los 25 minutos, pero que no interfiere con ninguno de los plaguicidas analizados:

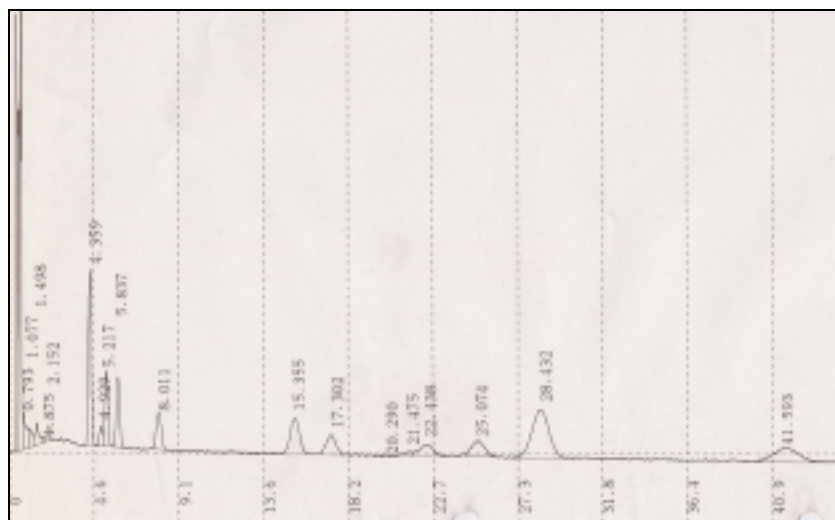


Figura 23. Imagen de un cromatograma de la mezcla de los 10 patrones utilizados con su tiempo de retención, cuantificados en columna semicapilar SGL-5.

-Confirmación de los picos obtenidos

En el caso de los plaguicidas encontrados en agua, se realizó una confirmación de los picos encontrados mediante inyección de las muestras en otro tipo de columna, la MFE-1701 (14% cianopropilmetilsilicona) de 25 x 0,25 mm y 0,25 μ m de Análisis Vínicos® (España).

2.2.3.- Validación de la técnica de análisis

2.2.3.1.- Sensibilidad de la técnica

Para poder cuantificar adecuadamente un compuesto, es preciso que exista una relación lineal entre la concentración de dicho compuesto y su correspondiente respuesta. Si fabricamos un patrón y lo sometemos a varias diluciones conocidas, no sólo conseguiremos conocer la respuesta lineal del aparato, si no que comprobaremos cuál es la dilución más baja que produce señal y que corresponde a una concentración cuantificable del compuesto.

Por lo tanto, con esta prueba se obtendrán resultados referentes a la cantidad mínima reconocida por el cromatógrafo de gases y por otro lado, observar la respuesta lineal de las diferentes concentraciones del compuesto a analizar.

Al no existir picos interferentes que coincidan con los picos de cada pesticida, un patrón de plaguicidas de concentración conocida es sometido a varias diluciones hasta que el cromatógrafo de gases produzca una señal reflejada en un pico muy

pequeño, que no sea resoluto o inferior al valor de la pendiente que nos indica el cromatógrafo al realizar un test de sensibilidad de la línea base.

La linealidad de respuesta y los límites de detección de los diferentes plaguicidas están expresados en la siguiente tabla, teniendo en cuenta que la cantidad mínima detectada (pg detectados) está expresada por μL que inyecta la jeringa.

Pesticida	pg detectados	Rango áreas	r^2
α -HCH	7	5.641.269 – 89.635	0,9986
β -HCH	32	6.964.759 – 110.265	0,9976
δ -HCH	5,2	3.384.790 - 55.213	0,9981
Lindano	4,7	6.195032 - 48.563	0.9985
Heptacloro	21	11.848.126 – 150.236	0,9999
Endosulfan	68	17.700.844 – 249.533	0,9991
DDE	28	5.365.129 – 358.623	0,9991
DDD	53	16.205.344 – 520.934	0,9971
DDT	94	32.339.814 – 257.896	0,9975
Metoxicloro	300	27.229.986 – 536.574	0,9987

Tabla 61. Respuesta lineal y límite detección del cromatógrafo de gases para los diferentes plaguicidas

Conseguimos una buena respuesta lineal del cromatógrafo, si bien la sensibilidad del aparato va disminuyendo a medida que aumenta el tiempo de retención de los plaguicidas. Los picos de detección de los plaguicidas se van ensanchando a medida que aumenta el tiempo de retención. Así, a partir del DDE los picos se hacen más anchos y más difíciles de cuantificar, por lo que para su correcta cuantificación necesitamos un pico más definido y más grande, por esta razón, las áreas mínimas de detección son mayores a medida que aumenta el tiempo de retención.

2.2.3.2.- Exactitud de la técnica

La representación de la exactitud de la técnica viene dada por la precisión (coeficiente de variación) y el porcentaje de recuperación de la sustancia que queramos medir, en este caso los OC.

Para comprobar esta fiabilidad, a 5 muestras de agua ultrapura se adicionó 1 mL de patrón de los 10 plaguicidas de concentración conocida (expresadas en la tabla) diluidos en acetona y se procedió a la extracción y cuantificación (por duplicado), como en la técnica descrita anteriormente. Paralelamente se preparan 2 blancos a los que sólo se adiciona 1 mL de acetona.

Pesticida	Concentración ensayada (ng/mL)	% Recuperación	Desv estándar	Coefficiente de variación
α -HCH	61	88,25	7,8	6,9
β -HCH	92	89,03	8,3	9,0
δ -HCH	45	96,56	6,6	5,2
Lindano	46	99,15	4,8	8,9
Heptacloro	47	90,72	4,5	4,6
Endosulfán	154	100,94	5,3	7,4
DDE	51	99,36	6,4	9,1
DDD	99	87,52	9,9	6,7
DDT	300	94,44	8,5	8,1
Metoxicloro	450	92,67	8,8	10,6

Tabla 62. Porcentaje de recuperación de los plaguicidas en agua.

A partir del 85-90% se puede considerar un buen porcentaje de recuperación (Singh y Chawla, 1988; Bernal *et al.*, 1992), y así aparece en la mayoría de los trabajos de investigación. En nuestro caso, todos los plaguicidas están dentro de este rango, aunque se advierte que la recuperación es mejor en unos plaguicidas que en otros. Así, el endosulfán, lindano, DDE rondan el 100%, el δ -HCH, DDT, metoxicloro y heptacloro están por encima del 90% y por debajo del mismo están el α -HCH, β -HCH y DDD.

2.3.-DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS EN PECES

2.3.1.- Método

Consta de varias fases: Obtención de la muestra, digestión húmeda, medición y cuantificación

Para la **obtención** de músculo se realiza un corte en la zona del lomo del lateral izquierdo del pez (el lado derecho nos sirvió para la obtención del músculo para la determinación de OC). Se continúa extrayendo, por corte directo, las branquias de cada uno de los lados del pez.

Después se procede a diseccionar el pez por la línea media ventral y obtener el hepatopáncreas y riñón.

Estas operaciones se realizan con cuchillo y pinzas de plástico que previamente se sumergieron en una solución de ácido nítrico al 10% y lavadas con agua ultrapura.

Para la **digestión de la muestra**, hemos utilizado un método de digestión húmeda descrito por Oehme y Lund (1979), pero ligeramente modificado.

De cada una de las muestras se pesó 1 g en un tubo de cuarzo. En el caso de músculo no hubo problemas, pero en el caso de branquia, riñón y hepatopáncreas si no alcanzaba 1 g se analizó todo el órgano, anotando su peso.

Se añadió un volumen de 1.275 μL (o la parte proporcional si el órgano no llegaba al gramo) de una mezcla de ácidos nítrico, perclórico y sulfúrico en proporción 8:8:1 respectivamente.

Las muestras se agitaron y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 24 horas, transcurridas las cuales, se procedió a realizar un tratamiento térmico en un digestor (Bloc Digest 20) de Selecta® de acuerdo con el siguiente esquema de temperaturas:

- 1 Ascensión hasta 100°C en 20 minutos
- 2 Mantiene a 100°C durante ½ hora
- 3 Ascende hasta 210°C en 15 minutos
- 4 Mantiene 210°C durante 2 horas
- 5 Ascende hasta 370°C en 10 minutos
- 6 Mantiene a 370°C durante 3 horas

Al residuo obtenido, de aproximadamente 20 μL , se añadió 10 mL de agua ultrapura, sobre el que se realizó la medición polarográfica de todos los metales Zn, Cd, Pb y Cu en un solo segmento.

2.3.2.- Polarografía

Los 10 mL se añaden a la cubeta de medida del voltamperómetro y se miden los 4 metales pesados en un solo segmento y por duplicado (excepto las muestras con menos de 1 gramo), midiendo dos blancos diarios.

-Equipo utilizado y condiciones operativas

Se ha utilizado un polarógrafo METROHM, constituido por un procesador VA-746 y un puesto de trabajo VA-747. Este puesto de trabajo consta de una cubeta donde se deposita la muestra y tres electrodos antes descritos. Las condiciones operativas fueron:

Variables del método	Segmento Zn-Cd-Pb-Cu
Purga de nitrógeno	300 seg a 2.000 rpm
Técnica	HMDE (tamaño de gota 4)
Modo de medición	Diferencial de impulsos (DPMODE)
Tiempo de electrolisis	30 seg
Amplitud de impulsos	6 mV
Tiempo de repetición de impulsos	40 msec
Tiempo de reposo tras electrolisis	15 seg
Inicio de medición	-1.250 mV
Fin de la medición	200 mV
Velocidad de barrido	20 mV/seg
Electrolito de soporte	Ninguno
Tabla 63. Características del segmento de medida del Zn-Cd-Pb-Cu en el voltamperómetro METROHM	

Las condiciones de cálculo fueron:

Adición de patrones: 2 por análisis

Volumen de solución de patrones: 100 μ L (25 μ L de cada patrón independiente)

Concentración de la solución patrón de trabajo: entre 1,5 y 3 veces la medida en la muestra

Volumen de la muestra en cubeta: 10 mL

Los potenciales de verificación para la **identificación** de los metales pesados fueron:

<u>Metal</u>	<u>Potencial de verificación</u>	<u>Metal</u>	<u>Potencial de verificación</u>
Zn	-960 mV ± 50 mV	Pb	-399 mV ± 50 mV
Cd	-585 mV ± 30 mV	Cu	21 mV ± 50 mV

Para la **cuantificación** se utilizó el método de adición de patrón estándar.

2.3.3.- Validación de la técnica de análisis

La validación de la técnica de determinación de metales en peces se llevó a cabo utilizando una muestra certificada de músculo bovino liofilizado del BCR (referencia, nº 184) que tenía las siguientes concentraciones certificadas:

Zn: 166 µg/g
 Cd: 13 ng/g
 Pb: 239 ng/g
 Cu: 2,36 µg/g

De esta muestra certificada se hicieron un total de 8 replicados utilizando 0,15 g de músculo liofilizado y 4 replicados de blanco que se sometieron al proceso de digestión y cuantificación antes detallado. Los resultados de la exactitud del método fueron los siguientes:

	Zn	Cd	Pb	Cu
Recuperación (%)	113,4	98,92	91,35	107,8
Coef. Variación en la muestra certificada (%)	7,8	5,6	8,3	5,8
Coef. Variación en los blancos (%)	9,7	4,4	4,5	7,7

Tabla 64. Porcentaje de recuperación de metales pesados en muestra certificada.

De estos resultados se deduce la viabilidad del método utilizado para la determinación de metales pesados en tejidos.

2.4.-DETERMINACIÓN DE OC EN PECES

Todo el material de vidrio se lava con detergente y agua, se aclara con agua destilada y se lava con acetona y posteriormente con hexano.

2.4.1.- Método

El protocolo de actuación seguido es el método de “extracción de OC en tejidos de plantas y animales, M53” recogido por Analytichem Applications de ANALYTICHEM INTERNATIONAL INC., preparado para el uso de columnas de extracción en fase sólida Bond Elut C-18.

Se procedió a descongelar el pez y con bisturí se realizó un corte en el lomo derecho del pez, aislando la piel y descubriendo el músculo que nos sirvió para el análisis de los OC.

Para el proceso de **extracción de plaguicidas**, se pesan 10 g de músculo de pez en un matraz de 250 mL, al que se añaden 100 mL de metanol y se homogeneiza con un homogeneizador de cuchillas. Se utiliza la misma velocidad de las cuchillas y el mismo tiempo de homogeneización, con la precaución de la inmersión de cada matraz en baño de hielo.

El homogeneizado obtenido se filtra por un embudo de vidrio que contiene lana de vidrio y 1 g de sulfato de sodio anhidro. Se enjuaga cada matraz que contiene el homogeneizado con dos volúmenes de 5 mL de metanol y se hacen pasar por el filtro.

En matraces de 250 mL se vierte el metanol recogido y se añade 2,5 veces su volumen de agua ultrapura.

Para el proceso de **aclarado**, se activan cartuchos de extracción en fase sólida rellenos de C-18 con dos volúmenes de metanol (2mL cada uno) y otros 2 volúmenes posteriores (2 mL cada uno) de agua ultrapura, evitando que la columna se seque. Una vez activados, se hace pasar la mezcla de metanol y agua (muestra) a un ritmo por debajo de 1L/hora, ayudados por la presión de vacío.

Después que han pasado las muestras por completo se procede a secar los cartuchos de C-18 dejando pasar aire durante ½ hora aproximadamente.

A cada cartucho de C-18 se hace pasar 3 volúmenes de hexano (0,5 mL cada uno) a un ritmo de aproximado de 1 mL/min y el volumen se recoge en viales con tapón de rosca de 2 mL de capacidad, previamente etiquetados y pesados en vacío.

2.4.2.- Cromatografía de gases

2.4.2.1.- Cuantificación

Los eluatos de hexano se proceden a pinchar por duplicado en un cromatógrafo de gases equipado con detector de captura de electrones y un inyector split/splitless, en modo splitless.

-Condiciones operativas del cromatógrafo:

Tipo Columna: Columna Capilar SGL-5 (5% difenilmetilsilicona) de 25mx0,25 mm y 0,25µm espesor, suministrada por Sugelabor®

Gas portador: nitrógeno 99,99 % pureza

Flujo total: 58,9 mL/min (55,42 mL/min make-up + 2,87 mL/min gas portador + 0,61 mL/min gas de purga).

Tª detector: 300°C

Tª columna: 180°C (10 minutos), rampa 30°C/min (1 minuto), 210°C (19 minutos)

Tª inyector: 300°C

Volumen de muestra inyectado: 1 µL

2.4.2.2.- Identificación de los plaguicidas

Para cada cromatograma se realiza la identificación de cada uno de los picos según el tiempo de retención y comparándolos con el tiempo de retención de la mezcla de patrones de los 10 plaguicidas que se van pinchando en el cromatógrafo de gases cada 4 muestras biológicas.

El tiempo de retención de los plaguicidas y el orden de aparición quedan reflejados en la siguiente tabla:

Pesticida	Tiempo medio de retención (minutos)	Orden aparición
α -HCH	4,91	1°
β -HCH	5,63	2°
δ -HCH	6,72	4°
Lindano	5,93	3°
Heptacloro	9,39	5°
Endosulfán	13,99	6°
DDE	15,46	7°
DDD	18,08	8°
DDT	21,50	9°
Metoxicloro	28,18	10°

Tabla 65. Tiempo y lugar de aparición de los OC utilizados como patrón de plaguicidas en la columna capilar

El cromatograma de los 10 patrones de plaguicidas utilizados se muestra en la figura , indicando para cada uno el tiempo de retención:

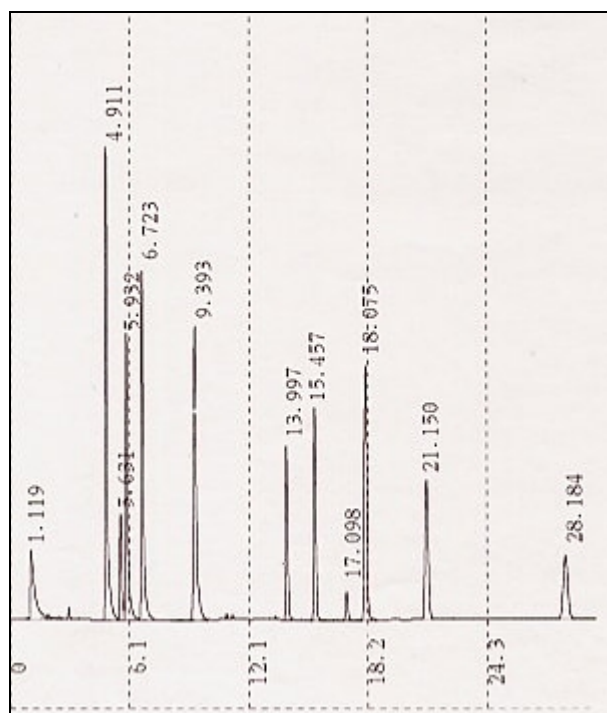


Figura 24. Cromatograma de mezcla de los 10 plaguicidas utilizados, medidos en columna capilar SGL-5.

2.4.3.- Validación de la técnica de análisis

2.4.3.1- Sensibilidad de la técnica

Debido al cambio de columna y de programación de temperaturas en la misma se procedió a realizar un estudio de respuesta lineal y de límite de detección, al igual que el realizado para el caso de las aguas, cuyos resultados se detallan en la siguiente tabla en la que la cantidad mínima detectada (pg) está expresada por μL que inyecta la jeringa.

Pesticida	pg detectados	Tpo retención (min)	Rango áreas	r^2
α -HCH	6,25	4,92	3.579.440 – 111.858	0,9977
β -HCH	12,5	5,63	784.879– 49.055	0,9912
δ -HCH	6,25	6,72	2.907.745 – 90.867	0,9930
Lindano	6,38	5,94	2.283.840 – 71.370	0.9958
Heptacloro	6,56	9,40	2.654.594 – 82.956	0,9943
Endosulfán	6,38	13,98	1.354.054 – 42.314	0,9990
DDE	12,37	15,44	1.757.529 – 109845	0,9922
DDD	12,37	18,06	2.531.979 – 158248	0,9941
DDT	12,37	21,12	1.490.209 – 93.138	0,9915
Metoxicloro	25	28,16	801.971 – 100.246	0,9989

Tabla 66. Respuesta lineal y límite detección del CG para los diferentes plaguicidas

Conseguimos una buena respuesta lineal del aparato, y como era de esperar, la sensibilidad del cromatógrafo va disminuyendo a medida que aumenta el tiempo de retención de los plaguicidas.

Con esta nueva columna y las condiciones de temperatura se consiguió acortar el tiempo del cromatograma y se mejoró la sensibilidad del sistema.

2.4.3.2.- Exactitud de la técnica

La representación de la exactitud de la técnica viene dada por el coeficiente de variación (precisión) y el porcentaje de recuperación de la sustancia que queramos medir, en este caso los OC.

Para comprobar esta fiabilidad, 5 muestras de músculo de pez (5 g) se homogeneizaron con 50 mL de metanol. Se añadieron 100 μL de una mezcla de 10 patrones en hexano de concentración conocida (expresadas en la tabla) y procedió a la extracción y cuantificación (por duplicado), como en la técnica descrita anteriormente. Paralelamente se prepararon 3 blancos a los que se añadió sólo 100 μL de hexano.

Pesticida	Ng adicionados	Recuperación (%)	Desv estándar	Coef. variación
α -HCH	51	95,75	6,6	4,8
β -HCH	50	103,01	9,3	9,6
δ -HCH	54	102,1	4,8	5,3
Lindano	51	89,60	5,8	8,7
Heptacloro	56	91,8	3,9	6,3
Endosulfán	52	95,6	6,8	5,2
DDE	48	95,64	7,7	7,1
DDD	56	100,9	10,1	6,2
DDT	55	102,3	9,6	7,5
Metoxicloro	56	98,5	8,2	8,4

Tabla 67. Porcentaje de recuperación de los OC para verificar la exactitud del método.

A partir del 85-90% se puede considerar un buen porcentaje de recuperación (Singh y Chawla, 1988; Bernal *et al.*, 1992), y así aparece en la mayoría de los trabajos de investigación. En nuestro caso, todos los plaguicidas están dentro de este rango, lo que unido a la buena precisión (coeficiente de variación <10%) demuestra la exactitud del método propuesto.

2.5.- MATERIAL Y REACTIVOS UTILIZADOS

Material

Bisturí, tijeras y pinzas de acero inoxidable para técnicas de disección de peces para obtención de las muestras destinadas a determinación de OC.

Cuchillo, tijeras y pinzas de plástico para técnica de disección de peces para la obtención de muestras para determinación de metales pesados.

Papel aluminio y papel de laboratorio para pesar las muestras

Material de vidrio para cada muestra de músculo: matraz Erlenmeyer de 100 mL y de 250 mL, probeta 100 mL, embudo cristal, pipeta de 5 mL.

Material de vidrio para cada muestra de gónada: matraz Erlenmeyer de volumen variable (25-50 y 100 mL) dependiendo del peso de la gónada, probeta de 100 mL, embudo cristal, pipeta de 5 mL.

Material de vidrio para cada muestra de cerebro: Tubo ensayo grande (capacidad 15 mL), embudo, tubo de centrifuga graduado, matraz Erlenmeyer de volumen variable (25, 50 mL), pipeta de cristal de 1 mL.

Filtros de membrana de nylon de poro de 0,45 μm y 47 mm de diámetro. Lote 5-8067 Supelco®

Filtros de membrana de 0,45 μm de poro y 47 mm de diámetro. Lote H6PM1 0572 de Millipore®

Reservorios de 60 mL de Supelco®

Columnas de extracción en fase sólida rellenos de C-8. Bond Elut C8, 200 mg, 3 mL de Varian®.

Columnas de extracción en fase sólida rellenos de C-18. Bond Elut C18, 500 mg, 3 mL de Varian®.

Viales de cristal para extracción de OC, de capacidad de 1,5 mL, con tapón de teflón.

Cromatógrafo de gases, modelo GC-14A (Shimadzu®), equipado con detector de captura de electrones (ECD) y anexo un procesador de datos CR4A de Shimadzu® con impresora.

Columna semicapilar SGL-5 (5% difenilmetilsilicona) de 30 mt x 0,53 mm y 5 μm de espesor, suministrada por Sugelabor®.

Columna capilar MFE-1701 (5% difenilmetilsilicona), 25 mt x 0,25 mm y 0,25 μm de espesor, suministrada por Análisis Vínicos®.

Columna capilar SGL-5 (5% difenilmetilsilicona), 25 mts x 0,25 mm y 0,25 μm de espesor, suministrada por Sugelabor®

Aguja inyección de las muestras de 1 μL , Microliter*7001 de Hamilton®

Homogeneizador de cuchillas Kinematica-GmbH® (Suiza)

Balanzas:

Balanza Sartorius® 110 g x 0,1 mg type 180

Balanza Gram®, mod 323 5.000g x 1 g

Balanza AND ACAI®, mod EK-1200A. 1200g x 0,1g

Congelador muestras biológicas

Aparato producción de agua ultrapura, Milli-Q plus de Millipore®.

Pipetas de cristal de 100 y 200 μL , de 1, 2, 5 y 10 mL

Tubos cristal de mL con tapón de rosca para la fabricación de patrones. Matraces aforados de 10, 100, 200 mL.

Reactivos

Plaguicidas:

El lindano, heptacloro, endosulfan, DDE, DDD, DDT y metoxicloro. Se obtuvieron de Supelco® (USA). Lot.no. PS-5014, kit número 510DX.

El α -HCH se obtuvo de Riedel-de Haën® (Alemania), 1 g, lote 2761, ref. 35809

El β -HCH se obtuvo de Riedel-de Haën® (Alemania), 250 mg, lote 2761, ref. 35911

El δ -HCH se obtuvo de Riedel-de Haën® (Alemania), 250 mg, lote 2761, ref. 35912

Metanol para análisis de residuos de plaguicidas. Scharlau®

Agua ultrapura

n-Hexano, 96% para análisis de residuos de plaguicidas. Scharlau®

Nitrógeno líquido para cromatógrafo de gases

Sulfato de Sodio anhidro purísimo de Panreac®, PR

Lana de vidrio lavada puro de Panreac®, PR

Acido nítrico 65% suprapur® de Merck, 250 mL

Acido sulfúrico 96% suprapur® de Merck, 250 mL

Acido clorhídrico 30% suprapur® de Merck, 250 mL

Acido perclórico 70% proanalysis, Merck

Patrones de Zn (ref. 313193), Cd (ref. 313175), Pb (ref. 313189) y Cu (ref. 313178) de Panreac®, AA.

3.-ANALISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

El tratamiento estadístico de los resultados se ha realizado mediante el paquete estadístico SPSS 10.0, realizándose el estudio estadístico descriptivo de los datos. Como los datos de concentración de plaguicidas y metales pesados no se ajustaron a una distribución normal, para las comparaciones entre grupos se utilizó el test no paramétrico de la U de Mann-Whitney que compara la tendencia central de datos de muestras independientes entre sí. Para las correlaciones entre niveles de plaguicidas y metales pesados y datos biométricos de los barbos se usó regresión lineal simple.

Los grupos estudiados fueron los dos ríos y dentro de cada uno, se compararon las concentraciones de OC y metales pesados entre cada muestreo realizado.

1.- NIVELES DE PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS EN AGUAS DEL P. N. DE MONFRAGÜE.

1.1.- α -HCH

Los niveles del plaguicida α -HCH detectados en las aguas del P. N. de Monfragüe se encuentran reflejados en la siguiente tabla:

alfa-HCH	tajo 1	tajo 2	tajo 3	tiétar 1	tiétar 2
Sep-96		< 7	7,03		< 7
Oct-96	< 7	9,47	< 7	8,84	44,86
Nov-96	< 7	< 7	< 7	< 7	8,78
Dic-96			< 7		< 7
Ene-97					
Feb-97					
Mar-97		< 7		< 7	
Abr-97		< 7	7,08		
May-97	14,84	8,66	10,31	< 7	10,36
Jun-97		< 7	10,58	< 7	
Jul-97	< 7			< 7	29,70
Ago-97	< 7	< 7	< 7	10,97	< 7

Tabla 68. Niveles α -HCH (ng/L) en aguas superficiales de Monfragüe

- Los valores < 7 son picos cromatográficos diferenciables, pero que están ligeramente por debajo del límite de detección. Las celdas en blanco representan valores por debajo del límite de detección.

Como se puede apreciar, existe unos niveles muy bajos durante todo el año y ligeramente superiores al límite de detección, excepto el mes de mayo-97 que aumentan, aunque en concentraciones muy bajas.

Aunque existe una dispersión aparente de los datos, está claro que la distribución de α -HCH se encuentra a partir del mes de septiembre de 1996 hasta diciembre y comienza a aparecer de nuevo a partir de marzo hasta agosto. De esta forma, parece deducirse que el isómero α -HCH deja de estar presente en aguas en invierno.

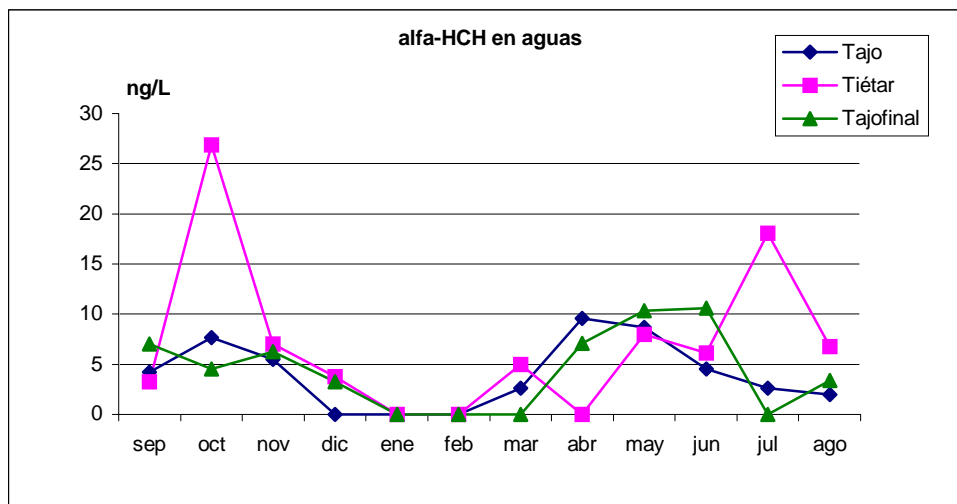


Figura 25. Niveles de α -HCH agrupados por ríos a lo largo del año en el P. N. de Monfragüe.

En la representación gráfica, hemos unificado los resultados hallados en los dos puntos del Tajo y en los dos puntos del río Tiétar, para diferenciar los niveles en ambos ríos y el punto Tajo3 es el punto donde ya se han unificado el río Tajo y Tiétar en el río Tajo, que hemos denominado Tajofinal.

El valor más constante es el aparecido en el mes de mayo de 1997. La concentración es similar entre los diferentes puntos de muestreo. La tendencia general es a disminuir los niveles en el invierno y aumentar en la primavera. En el río Tiétar existen dos subidas importantes, la que se produce en octubre de 1996 y en julio de 1997. Estos mismos incrementos se producen en la concentración de lindano, pero en ningún plaguicida más.

En España, García y Repetto (1997) midieron los niveles de α -HCH en agua potable durante varios años detectando unos niveles fluctuantes a lo largo de estos años. Así en 1995 se detectaron 3,5 ng/L, en el año 1992 se midieron 27 ng/L, en el año 1993 fueron 26 ng/L y en el año 1994 se detectaron 9,5 ng/L.

Los autores concluyen que debido a las bajas concentraciones de plaguicidas encontradas en las aguas públicas, estas se pueden considerar casi libre de plaguicidas. Con este mismo criterio, las aguas de Monfragüe poseen una concentración media de <10 ppt de α -HCH, con lo que se puede considerar que son concentraciones muy bajas.

Simal *et al.* (1984) encontraron que el α -HCH se presentó en el 44,82% de las muestras, pero en concentraciones bajas en muestras de agua potable de Galicia. En nuestro estudio, la frecuencia encontrada en aguas fue del 58,3%.

En aguas continentales del Parque Natural de Doñana, Rico *et al.* (1989) encontraron que el 70% de las muestras de agua contenían α -HCH, pero en ningún caso en concentración por encima de 15 ng/L.

Hernández *et al.* (1976) recogieron muestras de agua de 11 puntos en el trascurso del río Guadalquivir y encontraron en todos ellos α -HCH y su concentración media fue de 30 ± 33 ng/L.

Marc Chevreuil *et al.* (1996) realizaron un estudio temporal de los niveles de α -HCH en el río Sena en los alrededores de París. Los niveles a lo largo del muestreo no mostraron un patrón de evolución aparente, oscilando entre 0,5-2 ng/L (promedio de 1,5 ng/L), valor situado por debajo de los que hemos encontrado nosotros.

Dua *et al.* (1998) midieron concentraciones medias de 740 ppt en varios lagos de la India, poco expuestos a actividad antropogénica. A pesar de tener poca actividad cercana a los lagos, la concentración fue muy superior a la hallada en nuestro estudio.

Dong *et al.* (2000) midieron niveles medios de 3,3 ng/L en el río Yangtse (China) concluyendo que se trataba de aguas poco contaminadas y seguras como fuente de agua potable.

Todos estos estudios muestran valores similares a los encontrados por nosotros, por lo que nuestros resultados muestran una concordancia y similitud en cuanto a la frecuencia de aparición y niveles detectados en aguas naturales de España y otros países.

1.2.- β -HCH

Sólo detectable en la muestra Tiétar 1 de junio de 1997: 31,9 ng/L.

García y Repeto (1997), en su estudio de niveles de plaguicidas organoclorados en agua potable de la ciudad de Sevilla, encontró niveles medios de 12 ng/L en el año 1991, pero no encontró niveles detectables en los muestreos realizados en 1992, 1993 y 1994.

Tampoco se encontraron niveles detectables de β -HCH en los estudios realizados por Simal *et al.* (1984) en agua potable de Galicia, ni Rico *et al.* (1989) en aguas naturales del Parque Nacional de Doñana, ni Hernández *et al.* (1976) en aguas del río Guadalquivir.

De los estudios consultados, pocos encuentran niveles de β -HCH detectables, por lo que se trata de un plaguicida con baja frecuencia de aparición.

Según Raldúa (1995) la capacidad de fugacidad del β -HCH es de $4,04 \times 10^{-4}$ (muy baja), lo que le convierte en uno de los isómeros del HCH más fugaces en la fase acuática, con lo que tenderá a unirse a la materia orgánica o sedimentos de forma mucho más rápida.

1.3.- δ -HCH

El isómero delta del hexaclorociclohexano no se detectó tampoco con mucha frecuencia en las muestras de agua, no obstante en algunos momentos el plaguicida aparece, pero siempre en concentraciones bajas.

alfa-HCH	tajo 1	tajo 2	tajo 3	tiétar 1	tiétar 2
Sep-96	9,01				
Oct-96					
Nov-96					
Dic-96					
Ene-97					
Feb-97					
Mar-97					
Abr-97					
May-97		11,92			
Jun-97					
Jul-97	5,38				
Ago-97	13,9	9,29			

Tabla 69. Niveles δ -HCH (ng/L) en aguas de Monfragüe

En los estudios consultados, casi todos encuentran niveles de δ -HCH no detectables (Simal *et al.*, 1984; Lehotay *et al.*, 1998; Hernández *et al.*, 1992; García y Repetto, 1997), por lo que se trata de un plaguicida con baja frecuencia de aparición.

Según Raldúa (1995) el coef. de fugacidad (Z) del δ -HCH es de $2,8 \times 10^{-2}$. En las fases donde Z es baja (como es el caso del agua), la fugacidad es alta y las concentraciones de soluto serán, por lo tanto, bajas. De este modo, los plaguicidas organoclorados se acumularán en las fases del sistema donde Z sea grande (materia en suspensión, sedimentos y organismos).

1.4.-Isómero γ -HCH o lindano

El lindano encontrado en las aguas superficiales de Monfragüe se expresa en la siguiente tabla:

lindano	tajo 1	tajo 2	tajo 3	tiétar 1	tiétar 2
Sep-96	9,48	8,54	10,45	8,32	6,31
Oct-96	5,45	8,21	8,69	8,27	39,24
Nov-96	8,68	8,50	9,38	12,70	13,70
Dic-96	6,17	9,42	9,63	8,39	7,34
Ene-97	6,66	15,37	15,57	10,06	22,67
Feb-97	11,00	13,07	11,21	10,43	11,54
Mar-97	10,34	8,78	17,45	8,67	6,37
Abr-97	12,26	9,61	10,85	7,68	8,19
May-97	14,67	13,80	12,34	10,48	14,43
Jun-97	7,34	6,70	12,03	18,58	11,09
Jul-97	7,90	5,65	7,59	7,04	28,28
Ago-97	19,75	3,78	8,33	3,58	4,47
Media±des.est.	9,98±4,08	9,29±3,37	11,13±2,93	9,52±3,62	14,47±10,51
Tabla 70. Niveles de lindano expresados en ng/L (ppt) en aguas superficiales					

Como se puede apreciar en la tabla, el lindano aparece durante todo el año, es pues el más frecuente (100% de las muestras analizadas).

La concentración media de lindano es muy similar entre cada uno de los puntos de muestreo. El punto Tiétar 2 sobresale en su valor medio de concentración, pero posee una desviación estándar mayor, lo que hace que los valores encontrados en este punto a lo largo del año sean más dispersos. De hecho, los valores máximos se encuentran en este punto de muestreo, concretamente en los meses de octubre de 1996 (39,24 ppt) y en julio de 1997 (28,28 ppt), al igual que ocurrió con la concentración de α -HCH. El resto de los valores se mantienen en un rango de concentración pequeña y más o menos constante.

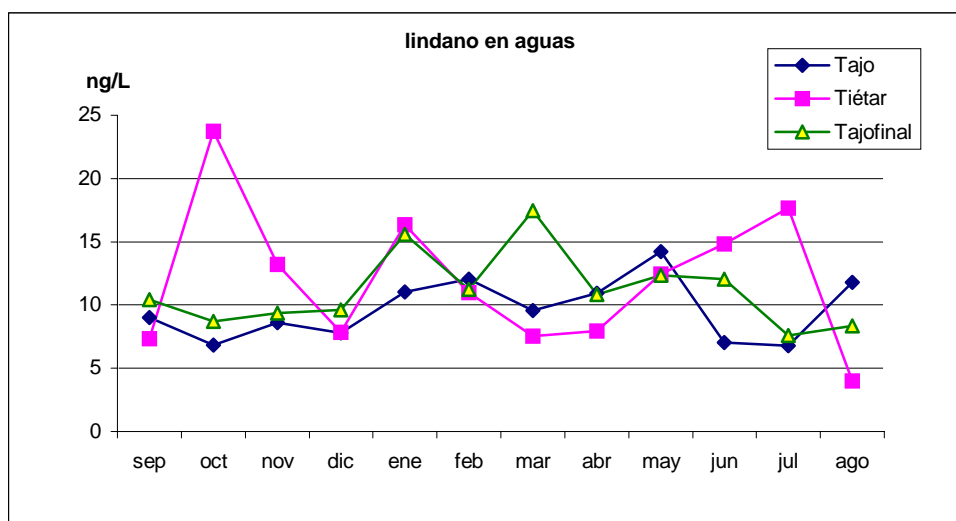


Figura 26. Niveles de lindano agrupados por ríos a lo largo del año en el P. N. de Monfragüe.

En España, Hernández *et al.* (1976) recogieron muestras de agua de 11 puntos en el trascurso del río Guadalquivir y encontraron en todos ellos lindano y su concentración media fue de 49 ± 61 ng/L.

Simal *et al.* (1984) al analizar plaguicidas organoclorados en 58 puntos a lo largo de las diferentes ciudades de Galicia también encontraron que el lindano fue el plaguicida más frecuente (67,24%) de todos los organoclorados aparecidos.

Rico *et al.* (1989) encontraron lindano en el 96% de las muestras de agua del Parque Nacional de Doñana analizadas y niveles entre 2-92 ppt durante el periodo de muestreo que fue desde 1982-1986.

La Junta de Andalucía, a través de la Consejería de la Salud, realizó un estudio de contaminación por residuos fitosanitarios en 131 aguas en diciembre de 1987. Los niveles de lindano encontrados en agua continental bruta estuvieron comprendidos entre 6-91 ng/L y en aguas potables estuvieron comprendidos entre 2-87 ng/L (Valverde y González, 1992).

García y Repetto (1997), al analizar muestras de agua de red potable, también encontraron que el lindano era el plaguicida más frecuentemente encontrado (100%) y en concentraciones superiores a las halladas en nuestro estudio:

	1991	1992	1993	1994
Promedio	65,5	62	48	31

Tabla 71. Niveles de lindano (ppt) en agua potable de Sevilla durante varios años.

Los autores atribuyen el hecho de encontrar lindano de forma frecuente en aguas al uso del mismo con fines agrícolas, porque desde que se prohibió legalmente el uso del DDT en España, el lindano ha llegado a ser el sustituto más importante.

Marc Chevreuil *et al.* (1996) realizaron un estudio temporal de los niveles de lindano en el río Sena en los alrededores de París. Los niveles a lo largo del muestreo mostraron un patrón de evolución hacia un aumento aparente y oscilaron entre 4 y 19 ng/L, con una concentración media de 12 ng/L, valor muy parecido a los encontrados en nuestro trabajo.

En 1997, Lehotay *et al.* (1998) analizaron los niveles de plaguicidas en diversos ríos que desembocan en la bahía de Chesapeake (Maryland, USA) registrando una media de $0,6 \pm 0,5$ ng/L de lindano.

Dua *et al.* (1998) realizaron un estudio de los niveles de lindano en 5 lagos de la India con poca incidencia antropogénica. Cabría esperar bajas concentraciones, sin embargo las concentraciones medias fueron de 1,25 µg/L (0,05-4,08), pero según estos autores, los niveles de lindano no excedían los límites máximos permisibles en su país de 4 µg/L de lindano.

Niveles tan bajos como $0,41 \pm 0,14$ ng/L se encontraron en varios puntos de aguas del Océano Ártico donde la contaminación por fuentes antropogénicas es bastante improbable (Jantunen y Bidleman, 1998).

Abbassy (2000) realizó muestreos mensuales en lagos de Egipto que drenan en el mar Mediterráneo y pudo encontrar niveles constantes entre 300 y 400 ppt de lindano a lo largo del año.

Dong *et al.* (2000) encontraron niveles medios de lindano de 2,1 ng/L en aguas del río Yangtse (China) considerando que estos niveles eran bajos y que las aguas eran seguras para el suministro en humana.

Para poder comparar si existen diferencias entre la concentración de lindano en ambos ríos, agrupamos -resultado de la media aritmética- las tomas de Tajo1 y Tajo2 en una sola que es Tajo. Las tomas de Tiétar1 y Tiétar 2 se agrupan en Tiétar y el punto de muestreo Tajo3 es el Tajofinal.

Así los niveles medios de lindano en cada uno de los ríos viene expresado en la tabla siguiente.

	Tajo	Tiétar	Tajo final
promedio	9,89	12,72	11,13
Desv. Est.	3,54	8,07	2,93
rango	5,45 – 19,75	6,31 – 39,24	7,49 – 17,45

Tabla 72.Valores medios de lindano (ng/L) en los ríos muestreados

Estos valores están muy por debajo de los valores que establece la legislación española como niveles máximos autorizados en aguas potables(100 ppt), cuando sólo aparece un plaguicida.

Al analizar las muestras estadísticamente, pudimos comprobar que no existieron diferencias significativas de los niveles de lindano en cada río (Tajo y Tiétar)

Rangos

	Río	N	Rango promedio	Suma de rangos
Lindano	Tajo	23	21,26	489,00
	Tiétar	22	24,82	546,00
	Total	45		

Estadísticos de contraste

	LINDANO
U de Mann-Whitney	213,000
W de Wilcoxon	489,000
Z	-,908
Sig. asintót. (bilateral)	,364

a Variable de agrupación: RIO

1.5.-Hexaclorociclohexanos

En orden a comparar los resultados de nuestro estudio con el realizado por otros autores, puede ser más útil expresar los resultados como sumatorio de todos los hexaclorociclohexanos (Σ HCH), aunque signifique lo mismo que los niveles de lindano, ya que los otros isómeros aparecen de forma puntual.

Σ HCH	tajo 1	tajo 2	tajo 3	tiétar 1	tiétar 2
Sep-96	18,49	10,91	17,47	8,32	9,54
Oct-96	11,51	17,67	13,23	17,10	84,10
Nov-96	14,58	13,99	15,66	17,92	22,48
Dic-96	6,17	9,42	12,89	8,39	11,11
Ene-97	6,66	15,37	15,57	10,06	22,67
Feb-97	11,00	13,07	11,21	15,32	11,54
Mar-97	10,34	11,42	17,45	16,99	6,37
Abr-97	12,26	18,11	17,93	7,68	8,19
May-97	29,51	34,38	22,65	16,14	24,79
Jun-97	7,34	12,57	22,62	59,60	11,09
Jul-97	16,42	5,65	7,59	13,48	57,98
Ago-97	51,62	9,69	32,89	14,55	10,81
Promedio	16,33 \pm 12,82	14,36 \pm 7,23	17,26 \pm 6,56	17,13 \pm 13,89	23,39 \pm 23,74

Tabla 73. Valores de Σ HCH (ppt) en diferentes puntos a lo largo del periodo de muestreo

Como se puede apreciar, los niveles se mantienen más o menos constantes a lo largo del año, si bien existe a partir de mayo un incremento no solo de las cantidades de lindano, sino que aparecen los otros isómeros que contribuyen a aumentar la concentración del total de Σ HCH.

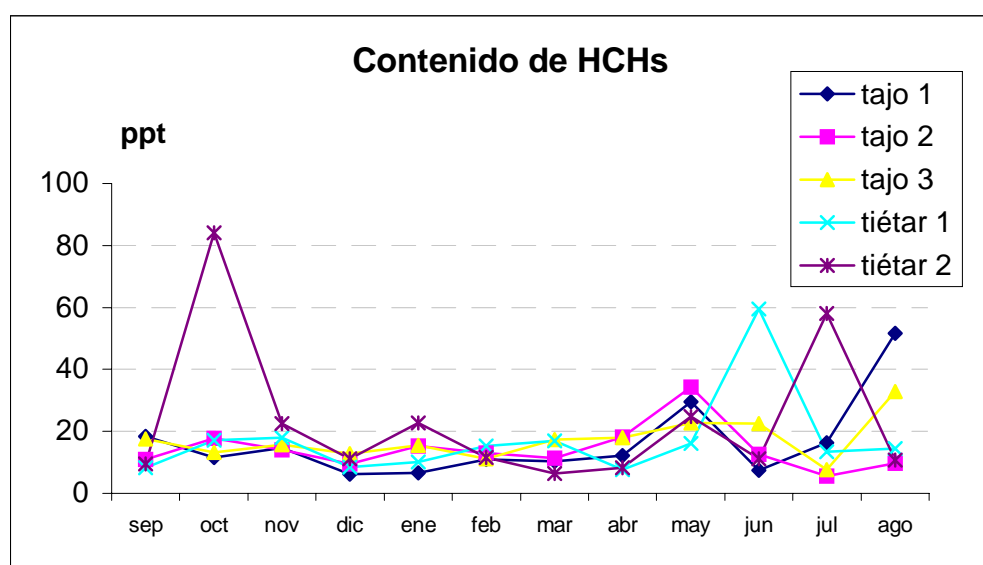


Figura 27. Niveles de Σ HCH en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe.

Carrasco *et al.* (1972) detectaron 390 ppt de Σ HCH en aguas de la Albufera de Valencia.

Alonso (1976) examinó 211 muestras de agua de río y 40 muestras de agua de estuario, en la provincia de La Coruña, durante el periodo de marzo de 1973 a junio de 1974. Sólo 24 muestras de agua se encontraron contaminadas con plaguicidas organoclorados. De estas, la concentración media de Σ HCH fue de 0,560 $\mu\text{g/L}$ y 210 $\mu\text{g/L}$ en las aguas de río y en las aguas de estuario respectivamente.

Hernández *et al.* (1976) recogieron muestras de agua de 11 puntos en el trascurso del río Guadalquivir y encontraron que la concentración media del Σ HCH (alfa+lindano) fue de 83 ± 91 ng/L.

Baluja *et al.* (1985) encontraron niveles medios de Σ HCH de 30 ± 30 ng/L en aguas del Parque Nacional de Doñana.

La Junta de Andalucía, a través de la Consejería de la Salud, realizó un estudio de contaminación por residuos fitosanitarios en aguas en diciembre de 1987. Los residuos y sus niveles se encuentran reflejados en la siguiente tabla, extraída de Valverde y González (1992):

Producto	Agua continental bruta	Agua potable
HCH (alfa + beta)	1-64	5-71

Tabla 73 . Concentración de Σ HCH (ppt) encontradas en aguas de Andalucía.

García y Repetto (1997) analizaron los plaguicidas en agua potable y encontraron niveles medios de Σ HCH de 81 ppt (1991), 62 ppt (1992); 48 ppt (1993) y 31 ppt (1994), concluyendo además, que el suministro de agua potable podía considerarse libre de contaminación significativa de plaguicidas.

En nuestro caso, ninguna media de cualquier punto supera las 25 ppt, salvo casos puntuales en las tomas.

Nicholson (1969) estimaba que el nivel máximo de Σ HCH en aguas de utilidad pública destinadas al uso como aguas potables debía ser 56 ppt, niveles que no se superan, salvo en casos muy puntuales, en los muestreos realizados.

Dua *et al.* (1998) detectaron niveles, muy superiores a los nuestros, de 3.650 ppt de concentración media de los Σ HCH en lagos de la India, sometidos a una actividad antropogénica escasa o incluso nula.

1.6.-Heptacloro

Los niveles de heptacloro encontrados en las aguas superficiales de Monfragüe se reflejan en la siguiente tabla:

	tajo 1	tajo 2	tajo 3	tiétar 1	tiétar 2
Abr-97			55,23		
May-97	76,44	78,79	162,91	110,66	104,00
Jun-97	18,05	30,31	52,47		25,33
Jul-97	17,66	22,72		59,48	

Tabla 74. Niveles de heptacloro (ng/L) detectados en el estudio anual de aguas superficiales.

Como se puede ver en la tabla, el heptacloro es un plaguicida que comenzó a aparecer en abril en el punto de muestreo de Tajo 3, pero la presencia mayoritaria fue en todos los puntos de muestreo del mes de mayo. En junio y julio aparece en casi todos los puntos y en agosto ya no se midieron niveles de heptacloro en agua.

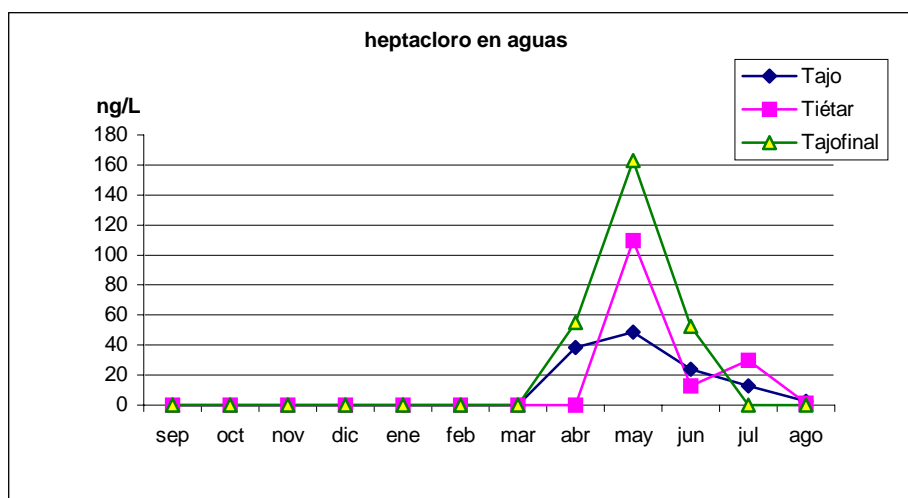


Figura 28. Niveles de heptacloro agrupados por ríos a lo largo del año en el P. N. de Monfragüe.

Los niveles de heptacloro son mayores en las aguas del río Tiétar que en el río Tajo, como está ocurriendo con la mayoría de los plaguicidas objeto de este estudio.

Simal *et al.* (1984) encuentran el heptacloro con una frecuencia de tan solo un 10,34% en las muestras de agua potable tomadas de Galicia. En nuestro estudio apareció con una frecuencia del 21,6%.

La frecuencia de aparición del heptacloro en aguas del Parque Nacional de Doñana fue escasa (20%) y la concentración estuvo entre nd-6 ng/L (Rico *et al.*, 1989).

La Junta de Andalucía, a través de la Consejería de la Salud, en un estudio de contaminación por residuos fitosanitarios en 131 aguas en diciembre de 1987, encontró entre 1-82 ng/L y entre 1-20 ng/L de heptacloro y su epóxido en aguas continentales brutas y aguas potables respectivamente (Valverde y González, 1992)

Los niveles de heptacloro epóxido, principal producto de degradación del heptacloro, en aguas superficiales del océano Ártico variaron entre 4,7-19,6 pg/L (Jantunen y Bitleman, 1998). Concentraciones muy bajas, teniendo en cuenta la escasa posibilidad de contaminación antropogénica.

Los trabajos recogidos en la revisión bibliográfica detectan niveles muy bajos de heptacloro o incluso no lo detectan. Este plaguicida es uno de los plaguicidas que más rápidamente se degrada en los sistemas acuáticos, pasando al cabo de dos semanas a epóxido de heptacloro y al cabo de 3 semanas se ha degradado por completo, por lo que cuando se deja de aplicar es muy poco probable encontrar residuos en agua.

1.7.-Endosulfán

En mayo, el endosulfán aparece en todos los puntos de muestreo. El río Tiétar arrastra mayor concentración de plaguicida en comparación con el río Tajo, pero en el caso del Tajofinal, al recibir las aguas del Tiétar, la concentración se eleva (162,91 ppt).

	tajo 1	tajo 2	tajo 3	tiétar 1	tiétar 2
May-97	76,44	78,79	162,91	110,66	108,35
Jun-97			115,53		
Jul-97					

Tabla 75. Niveles de endosulfan (ng/L) detectados en aguas de Monfragüe.

En el mes de agosto también se detectan picos de endosulfán, pero la cantidad está por debajo de los límites de detección considerados en este experimento.

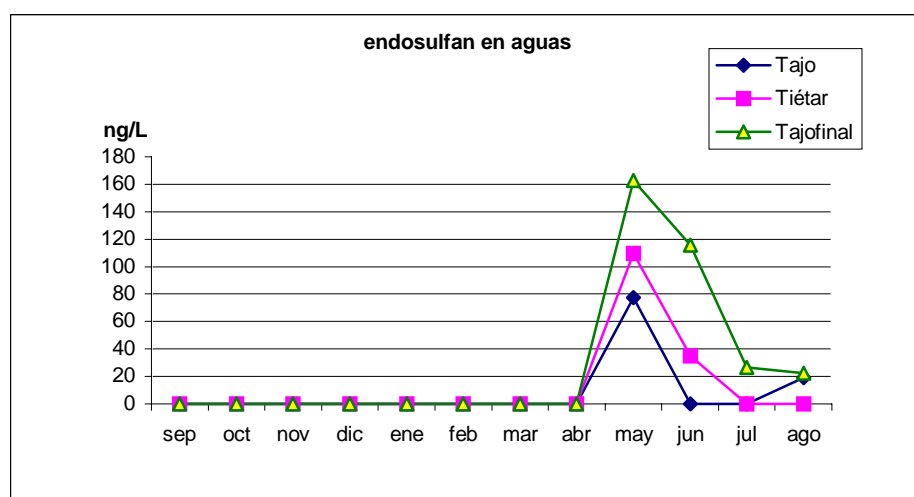


Figura 29. Niveles de endosulfan agrupados por ríos a lo largo del año en el P. N. de Monfragüe.

El endosulfán alcohol fue el metabolito que encontraron Simal *et al.* (1984) en aguas potables de Galicia, con una frecuencia escasa (22,4%). En los demás estudios realizados en España, no se miden niveles de endosulfán o los niveles están por debajo de los umbrales de detección.

Hasta 280 ppt de endosulfán se midieron en aguas superficiales del lago Okeechobee en el Sur de Florida (USA), rodeado de una zona agrícola importante (Miles y Pfeuffer, 1997). Incluso Scott *et al.* (1990) encontraron hasta 685 ppt en aguas del río North Edisto en el sur de Carolina (USA) atribuidas a la descarga de zonas agrícolas cercanas.

En 1997, Lehotay *et al.* (1998) analizaron los niveles de plaguicidas en diversos ríos que desembocan en la bahía de Chesapeake (Maryland, USA) registrando una media de $1,8 \pm 0,5$ ng/L de endosulfán.

Muestras de aguas superficiales del Océano Ártico contenían <10 pg/L de endosulfan tipo I y II (Jantunen y Bidleman, 1998).

El endosulfan es uno de los plaguicidas que, una vez aplicado, desaparece en agua de río al cabo de 4 semanas y lo más probable es que aparezca el producto de degradación sulfato de endosulfán (Carvalho *et al.*, 1999). Por esta razón, si el endosulfán se ha aplicado puntualmente y en el mes de mayo ha sido detectado el producto, es fácil comprender que no aparezca en sucesivos meses.

1.8.-DDT

Los niveles detectados de DDT se reflejan en la siguiente tabla:

DDT	tajo 1	tajo 2	tajo 3	tiétar 1	tiétar 2
May-97	119,17	421,23	375,72	374,42	248,89
Jun-97	390,1	369,02	402,05	625,23	269,40
Jul-97	150,59	185,37		166,97	

Tabla 76. Niveles de DDT (ng/L) detectados en aguas del P. N. de Monfragüe

Los niveles de DDT comenzaron a aparecer en concentraciones detectables en el mes de mayo de 1997. En el mes de junio, la concentración de DDT es mayor incluso que en el mes de mayo, en el mes de julio decrecen los niveles detectados y en el mes de agosto aparecen en cantidades por debajo del límite de detección.

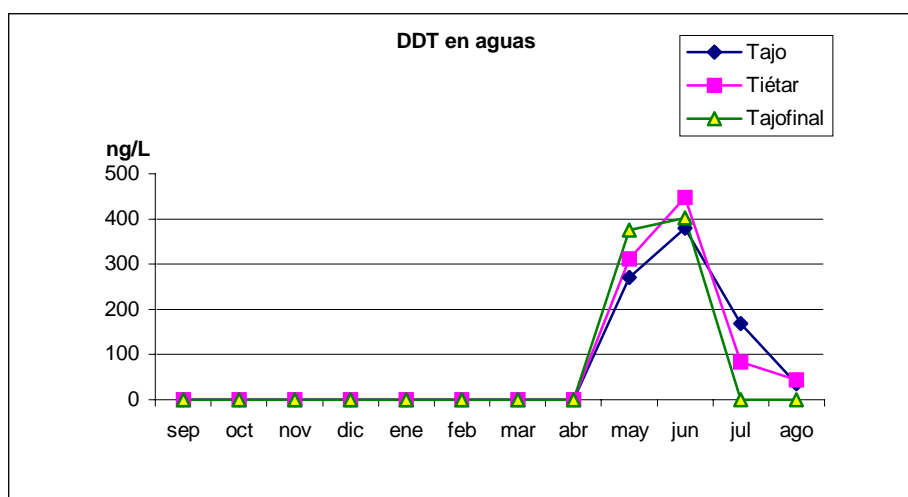


Figura 29. Niveles de DDT agrupados por ríos a lo largo del año en el P. N. de Monfragüe.

En los meses en los que se detectaron niveles de DDT, en el río Tíetar se detectó la concentración máxima de DDT (625,23 ng/L) en el mes de junio, y la concentración mínima (119,17 ng/L) en el punto Tajo 1 en el mes de mayo.

La Junta de Andalucía, a través de la Consejería de la Salud, realizó un estudio de contaminación por residuos fitosanitarios en aguas en diciembre de 1987, encontrando valores de DDT (p,p' y o,p'-DDT) de 20-99 y 1-30 ng/L en aguas continentales brutas y aguas potables (Valverde y González, 1992).

Hernández *et al.* (1976) recogieron muestras de agua de 11 puntos en el trascurso del río Guadalquivir y encontraron en todos ellos DDT y su concentración media fue de $4,55 \pm 3,93$ µg/L.

Simal *et al.* (1984) encontraron el DDT de forma escasa (24,14%) en agua potable de Galicia. En nuestro estudio, la frecuencia de aparición fue del 21,6%.

El DDT se detectó en casi todas las muestras de agua (98%) del Parque Nacional de Doñana, pero la concentración fue muy baja (nd-351 ng/L), según el estudio realizado por Rico *et al.* (1989).

En el estudio realizado por García y Repetto (1997) sobre los niveles de plaguicidas organoclorados en agua potable de Sevilla, encontraron una tendencia a la disminución de los niveles de DDT en el agua. En el año 1991 los niveles fueron de 33 ng/L, en el año 1992 y 1993 fueron de 11 ng/L y en año 1994 no se detectaron niveles de p,p'-DDT.

Ayas *et al.* (1997) encontraron 24 ppb de p,p'-DDT un estudio sobre los niveles de OC en aguas del delta de Göksu (Turquía).

Abbassy (2000) realizó muestreos mensuales en lagos que drenan en el mar Mediterráneo en Egipto y pudo encontrar niveles constantes entre 10 y 20 ppt de p,p'-DDT a lo largo del año.

Dong *et al.* (2000) determinaron los niveles de DDT en el río Yangtse. La concentración media de DDT fue de 0,9 ng/L.

Al comparar la concentración de DDT en aguas de Monfragüe, obtenida en este estudio, con las concentraciones obtenidas por otros autores, podemos decir que nosotros encontramos niveles superiores a los encontrados en la bibliografía, pero de forma más puntual.

1.9.-DDE

El DDE es un metabolito del DDT, que también apareció puntualmente a partir de mayo. Los valores quedan reflejados en la tabla.

DDE	tajo 1	tajo 2	tajo 3	tiétar 1	tiétar 2
May-97	37,27	105,21	61,03	107,13	52,87
Jun-97	82,48	51,61	27,75	44,13	
Jul-97	37,66	36,47	39,84	33,69	

Tabla 77. Niveles de DDE (ng/L) detectados en el estudio anual de aguas del P.N. Monfragüe.

Al igual que ocurre con heptacloro, endosulfán y otros plaguicidas, el DDE comienza a aparecer a niveles detectables en mayo de 1997. En junio y julio aún se detectan residuos de plaguicidas en agua, pero la concentración va descendiendo, hasta que en agosto ya no aparecen.

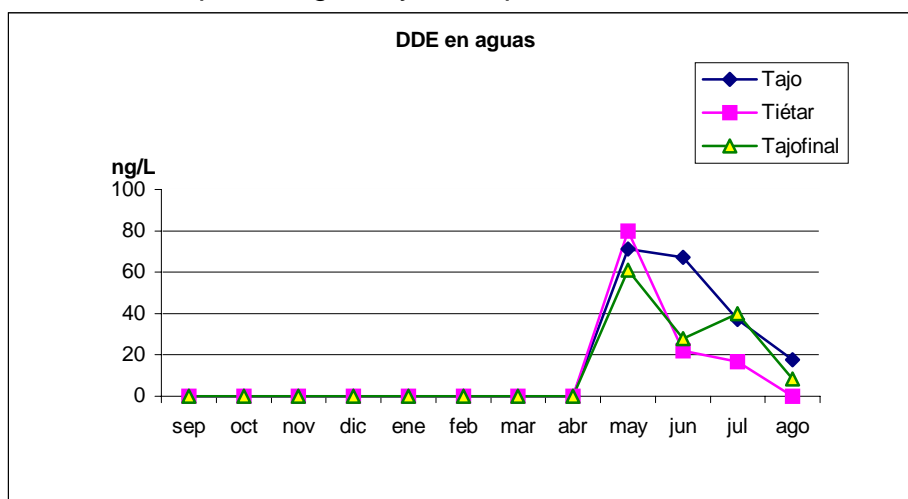


Figura 30. Niveles de DDE agrupados por ríos a lo largo del año en el P.N. de Monfragüe.

En el río Tajo, la frecuencia de aparición y las concentraciones de DDE son mayores que en el río Tiétar.

En nuestro país, García y Repetto (1997) detectó niveles medios de p,p'-DDE de 38 ng/L en 1991, 30 ng/L en 1992, 15 ng/L en 1993 y 10 ng/L en 1994, lo que mostró una tendencia general a la disminución de este plaguicida en las muestras de agua potable de Sevilla.

Los niveles de DDE encontrados en las aguas del Parque Nacional de Doñana fueron niveles medios (13 y 349 ng/L) y en el 100% de las muestras del estudio realizado entre los años 1982-1986 (Rico *et al.*, 1989).

Hernández *et al.* (1976) recogieron muestras de agua de 11 puntos en el trascurso del río Guadalquivir y encontraron en todos ellos DDE y su concentración media fue de 111 ± 128 ng/L.

En Africa, Norrgren *et al.* (2000) examinaron las aguas del río Kafue, el mayor afluente del río Zambeze (Zambia). La concentración del p,p'-DDE estuvo comprendida entre 3-27 ng/L y fue el principal plaguicida encontrado.

Ayas *et al.* (1997) encontraron 25 ppb de p,p'-DDE en un estudio sobre los niveles de OC en aguas del delta de Göksu (Turquía).

Los valores de p,p'-DDE en aguas de las marismas del Parque Nacional de Keoladeo (India) mostraron niveles de 140 ppt en 1989 y 80 ppt en 1990, representando el mayor metabolito del Σ DDT (Muralidharan, 2000). También en la India, Dua *et al.* (1998) detectaron niveles de 2,71 ppb se encontraron en aguas de lagos de la India.

Chevreuil *et al.* (1996) realizaron varios muestreos de aguas superficiales del río Sena, a su paso por París en el año 1992 y encontraron < de 1 ng/L de p,p'-DDE.

Abbassy (2000) realizó muestreos mensuales en lagos que drenan en el mar Mediterráneo en Egipto y pudo encontrar niveles constantes entre 30 y 50 ppt de p,p'-DDE a lo largo del año.

En 1997, Lehotay *et al.* (1998) analizaron los niveles de plaguicidas en diversos ríos que desembocan en la bahía de Chesapeake (Maryland, USA) registrando una media de $1,6 \pm 0,4$ ng/L de DDE.

1.10.-DDD

Otro metabolito derivado del DDT es el DDD, cuya presencia se asemeja a los demás plaguicidas pero con una frecuencia y concentración menores.

DDD	tajo 1	tajo 2	tajo 3	tiétar 1	tiétar 2
May-97		193,25			84,54
Jun-97	238,62	60,1	72,38	62,41	
Jul-97			126,85		

Tabla 78. Niveles de DDD (ng/L) detectados en el estudio anual de aguas del P.N.Monfragüe.

Como se puede observar, los niveles de DDD comienzan a aparecer en mayo, pero se hacen más patentes en el mes de junio. El DDD es un metabolito derivado de la degradación del DDT y es razonable que los picos máximos de

concentración aparezcan un tiempo más tarde que los picos máximos de donde procede, es decir del DDT.

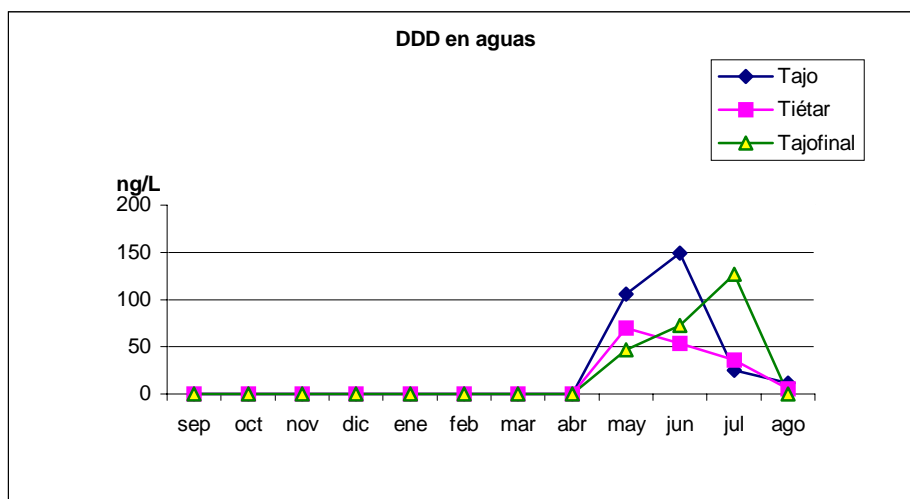


Figura 31. Niveles de DDD agrupados por ríos a lo largo del año en el P. N. de Monfragüe.

Los niveles entre los dos ríos es irregular, si bien en el río Tajo la concentración es mayor. La medición puntual de la cantidad de este metabolito es interesante ya que refleja que existe una cierta degradación, pero recordemos que los valores pueden estar modificados por numerosos factores en cada uno de los ríos que no se han analizado con austeridad en este trabajo por no ser el propósito.

Los niveles hallados en este trabajo, aunque más bien puntuales, resultan un poco elevados con respecto a los encontrados por otros autores.

En España, Hernández *et al.* (1976) recogieron muestras de agua de 11 puntos en el trascurso del río Guadalquivir y encontraron en todos ellos DDD y su concentración media fue de 85 ± 99 ng/L.

Simal *et al.* (1984) detectaron DDD de forma muy escasa (10,34%) en muestras de agua potable de La Coruña, lo cual concuerda con la frecuencia hallada en nuestro estudio (11,6%).

El DDD se encontró con una frecuencia del 56%, y en cantidades muy bajas (nd-39 ng/L) en aguas del Parque Natural de Doñana durante la toma de muestras realizada entre los años 1982-1986 (Rico *et al.*, 1989).

García y Repetto (1997) detectaron niveles muy bajos de DDD en aguas potables que suministraban a la ciudad de Sevilla. Así en el año 1991 no se detectaron niveles, en 1992 los niveles medios fueron de 17 ng/L, 6,2 ng/L en el año 1993 y no detectable en el año 1994.

Abbassy (2000) realizó muestreos mensuales en lagos que drenan en el mar Mediterráneo en Egipto y pudo encontrar niveles constantes entre 10 y 20 ppt de p,p'-DDD a lo largo del año.

No obstante otros autores han detectado niveles más parecidos a los encontrados en este estudio, así niveles medios de 0,4 µg/L se encontraron en el río Yantsé (China) y aseguran los autores que son niveles muy bajos (Dong *et al.*, 2000).

Dua *et al.* (1998) detectaron niveles medios de 2,67 ppb fueron en aguas de lagos de la India, que, según los autores, estaban poco contaminados.

1.11.-ΣDDT

Con el objeto de comparar con más estudios, la suma de todos los metabolitos del DDT puede arrojar cifras más significativas.

ΣDDT	tajo 1	tajo 2	tajo 3	tiétar 1	tiétar 2
May-97	156,44	719,69	436,76	481,56	386,30
Jun-97	711,20	480,73	502,18	731,77	269,40
Jul-97	188,25	221,85	166,69	200,66	

Tabla 79. Niveles de ΣDDT (ng/L) detectados en aguas del P. N. de Monfragüe

Los niveles no se detectan a lo largo del año, excepto a partir de mayo que comienzan a aparecer residuos de los distintos metabolitos de DDT. La concentración máxima de los meses corresponde al mes de junio, a partir del cual comienzan a disminuir hasta casi desaparecer en agosto.

Si analizamos las concentraciones medias aparecidas, no se observan grandes diferencias entre los niveles de ambos ríos.

Carrasco *et al.* (1972) detectaron concentraciones medias de 490 ppt de ΣDDT en aguas de la Albufera de Valencia.

Alonso (1976) examinó 211 muestras de agua de río y 40 muestras de agua de estuario, en la provincia de La Coruña, durante el periodo de marzo de 1973 a junio de 1974. Sólo 24 muestras de agua se encontraron contaminadas con plaguicidas organoclorados. De estas, la concentración media de ΣDDT fue de 0,775 µg/L y de 0,255 µg/L en las aguas de río y en las aguas de estuario respectivamente, por lo que parece que la evolución es hacia el descenso de los niveles de ΣDDT.

Hernández *et al.* (1976) estudiaron la contaminación por productos organoclorados en la cuenca del río Guadalquivir, con el fin de conocer la

incidencia de esta contaminación residual sobre el medio ecológico. La concentración del Σ DDT estuvo comprendida entre 0,876 y 13,77 ppb.

Rico *et al.* (1983) midieron diclorodifeniletanos en aguas del Parque Nacional de Doñana en varios puntos de muestreo y durante los años 1981-83 y los niveles son aproximadamente la mitad de los detectados en este muestreo, salvo casos puntuales. Además en el estudio de los niveles a lo largo del año coinciden en que los máximos de Σ DDT se presentaron en abril, mayo y junio de 1982.

Baluja *et al.* (1983) encontraron niveles medios de Σ DDT de 210 ± 110 ng/L en aguas del Parque Nacional de Doñana.

Rico *et al.* (1989) analizaron la contaminación por OC de aguas del Parque Natural de Doñana durante los años 1982-1986. Los niveles de Σ DDT oscilaron entre 0,02 y 0,737 ppb. Sin embargo, no se observaron variaciones significativas de los niveles de OC entre los puntos muestreados ni durante el periodo de muestreo.

Hernández *et al.*, (1992) estudiaron los niveles de organoclorados en agua del río Guadalquivir. Los niveles de Σ DDT hallados en agua en 1992 (7 ng/L) representaron un descenso considerable con respecto a un estudio similar llevado a cabo en el año 1975 (5.130 ng/L).

García y Repetto (1997) analizaron el contenido de los metabolitos de DDT en agua de bebida durante los años 1991-1994 arrojando valores medios de 71, 63, 37 y 10 ppt en cada año respectivamente, con lo que se mantiene la tendencia hacia la disminución de la contaminación ambiental por Σ DDT.

Los niveles encontrados en estudios realizados en España no difieren en gran medida a los hallados en nuestro estudio.

Nicholson (1969) estimó que los máximos permisibles de diclorodifeniletanos en aguas potables son de 0,042 ppb ó 42 ppt. Durante los meses de mayo-junio y julio de 1997 en todos los muestreos realizados, los valores encontrados superan estas concentraciones permitidas en aguas potables.

Cáceres *et al.* (1985) encontraron valores entre 207-760 ng/L en aguas de lago de Sao Paulo (Brasil). Muralidharan (2000) registró medias del Σ DDT de 500 ppt en 1989 y de 3,86 ppb en 1990 en aguas de las marismas del Parque Nacional de Keoladeo.

Dua *et al.* (1998) realizaron un estudio de los niveles del Σ DDT en 5 lagos de la India con poca incidencia antropogénica. Cabría esperar bajas concentraciones, sin embargo las concentraciones medias fueron de 5,84 μ g/L (0,28 – 18,79), valores que superan en mucho los obtenidos en este estudio, aún tratándose de

zonas con poca influencia de contaminación antropogénica. Según los autores antes citados, los niveles de DDT de su estudio superan con mucho los límites máximos permitidos para el DDT (1 µg/L) establecidos por la WHO (1984).

Si desglosamos la frecuencia de aparición en los meses de mayo, junio, julio y agosto de cada uno de los plaguicidas del ΣDDT de los diferentes muestreos se ve claramente que el DDT es el plaguicida que aparece con mayor frecuencia de todos. El siguiente es el DDD y por último es el DDE.

Plaguicida	tajo 1	tajo 2	tajo 3	tiétar 1	tiétar 2
DDE	10,27	12,48	8,07	12,02	13,33
DDD	46,69	24,54	18,75	12,17	21,32
DDT	43,04	62,99	73,18	75,81	65,35

Tabla 80. Porcentaje de aparición (%) del DDT y metabolitos en aguas del P. N. de Monfragüe

Elevadas proporciones de DDT sobre los otros metabolitos indican una contaminación reciente del medio (Bakre *et al.*, 1990). Hecho que colabora en la comprensión de porqué se encuentran los plaguicidas en esta época y no el resto del año.

En estudios de niveles de ΣDDT en aguas, donde el DDT fue prohibido hace años, suele aparecer una concentración mayor del metabolito p,p'-DDE (García y Repetto, 1997; Abassy, 2000; Lehotay, 1998; Chevreuil *et al.*, 1996; Pereira *et al.*, 1996), sin embargo, en países donde no ha sido prohibido el DDT para el control de plagas, el compuesto más abundante es el p,p'-DDT (Muralidharan, 2000; Dua *et al.*, 1998).

1.12.-Metoxicloro

El metoxicloro es otro plaguicida que también comienza a aparecer en agua en el mes de mayo y del que se obtiene el nivel puntual más elevado de todos los compuestos organoclorados analizados. La concentración oscila entre los 435 ng/L en el Tajo 1 en mayo hasta los 1.418,66 ng/L en el Tajo 3 de mayo también.

Metoxicloro	tajo 1	tajo 2	tajo 3	tiétar 1	tiétar 2
May-97	435,84	1.188,14	1418,66	524,24	780,82
Jun-97		890,78	777,30	754,73	958,03
Jul-97				576,71	

Tabla 81. Niveles de metoxicloro (ng/L) en aguas del P. N. de Monfragüe

Parece que los niveles en agua siguen una evolución similar entre ambos ríos. Así, en el río Tajo, el nivel máximo aparece en el mes de mayo y en junio va disminuyendo, aunque en el río Tiétar los niveles aparecen en mayo y los máximos se encuentran en el mes de junio.

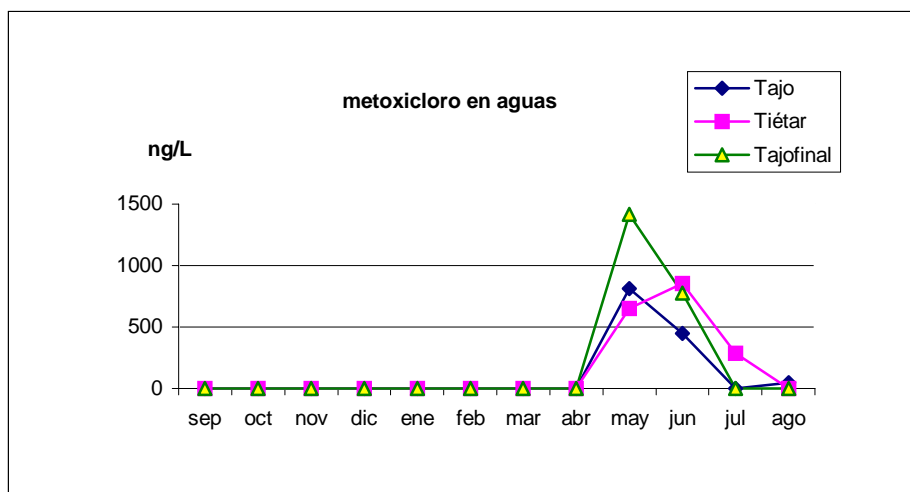


Figura 32. Niveles de metoxicloro agrupados por ríos a lo largo del año en el P. N. de Monfragüe.

Simal *et al.* (1984) encontraron el metoxicloro de forma muy escasa (5,17%) en agua potable de Galicia, que concuerda más o menos con la frecuencia escasa de este plaguicida en nuestro estudio (16,6%).

En el resto de la bibliografía consultada, el metoxicloro es un plaguicida muy poco frecuente, por lo que no suelen referir resultados.

Los valores de K_{oc} medidos en sedimentos varían desde 23.000 a 93.000, lo que indican que el metoxicloro se va a absorber a partículas sólidas y sedimentos. En un experimento laboratorio, se añadió metoxicloro a sistemas acuáticos compuestos de agua, sedimentos y arena y se comprobó que entre el 92,1-98,6% del metoxicloro añadido se retuvo en sedimentos (Krickhoff, 1979).

Los hallazgos encontrados en los niveles de plaguicidas en nuestro estudio son comparativamente menores a los encontrados en otros estudios, aunque los estudios consultados son de años anteriores al nuestro.

La contaminación por los isómeros de HCH es baja en los ríos Tajo y Tiétar no existiendo una diferencia entre los niveles de ambos ríos. De todos los isómeros, el lindano es el plaguicida predominante en el muestreo realizado en agua, hecho que no resulta extraño, porque el lindano es el único plaguicida autorizado del grupo.

Comparativamente, los niveles tanto de lindano, como del Σ HCH están por debajo de los hallados en otros estudios realizados en España y en otros países.

Con respecto a la legislación, el REAL DECRETO 1138/1990, de 14 de septiembre, sobre el control de la calidad de las aguas destinadas al consumo limita el contenido máximo de cada plaguicida en 100 ng/L, que en el caso del ΣHCH no se supera en ningún momento del año, ya que los niveles medios anuales se sitúan en torno a los 25 ng/L.

El grupo de plaguicidas del ΣDDT aparecen de forma esporádica a partir del mes de mayo de 1997 y desaparecen en el mes de agosto de 1997. Este hecho refleja que son plaguicidas utilizados puntualmente, hecho constatado además por que de todos los plaguicidas del grupo, el DDT es el más frecuente.

Si comparamos con los niveles que otros estudios reflejan en España, nuestros hallazgos son ligeramente más elevados en general, y con el matiz de que los demás estudios determinaron niveles en épocas recientes después de la prohibición del uso de estos plaguicidas.

Los niveles resultan elevados “puntualmente” y sobrepasan los límites tolerados para el uso de estas aguas como agua potable. No obstante, la toxicidad aguda estudiada por varios autores oscila entre 1,5 y 12 µg/L, y los niveles máximos puntualmente encontrados (731,37 ng/L) en nuestro estudio son bastante más bajos, por lo que la fauna acuícola no está expuesta de manera que resulten tóxicos.

Los niveles de heptacloro, endosulfan y metoxicloro también representan elevaciones puntuales a partir del mes de mayo hasta agosto de 1997. Al comparar con los niveles de otros estudios resultan un poco más elevados, pero siguen siendo niveles bajos que no representan una amenaza toxicológica seria.

Lo que más llama la atención en todo el estudio es la aparición durante los meses de abril a agosto de la carga de todos los plaguicidas. El hecho de la aparición de lindano todo el año es algo que supuestamente es normal, debido a que el lindano se usa con fines agrícolas y ganaderos, y se ha demostrado su elevada persistencia. Caso parecido puede deducirse del endosulfan y el metoxicloro, que aunque no estaban prohibidos, su persistencia es mucho menor por lo que es habitual no encontrarlos el resto del año. En el caso de los plaguicidas prohibidos como el DDT y sus metabolitos, su aparición puntual y a elevadas concentraciones llama nuestra atención y lo más probable es que se esté utilizando.

En el año 1976, el uso del DDT fue prohibido en España. En numerosos estudios realizados en España, se detectan niveles de DDE en aguas y su presencia se fundamenta en que el DDT es un plaguicida muy persistente en el medioambiente y se degrada lentamente hacia DDE, pero ese no es nuestro caso en el que predominan el DDT sobre sus metabolitos.

Otro hecho constatable que reafirma lo anteriormente discutido es el hecho de que en el músculo de peces recogidos aparecen de igual forma todos los plaguicidas en la recogida del mes de agosto, mientras que en el resto de las recogidas (julio de 1996 y abril de 1997) tan solo aparece de forma apreciable el DDE.

2.- NIVELES DE PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS EN PECES DEL P. N. DE MONFRAGÜE.

Los plaguicidas organoclorados se absorben y después se redistribuyen a los tejidos con elevado carácter lipofílico. Pero de todos los tejidos del pez, la medición de los plaguicidas en el músculo reviste mayor importancia porque, por un lado son indicativos de contaminación y por otro lado, nos aporta información sobre la medida en la que se prevee que afecte a los consumidores (salud pública).

De hecho, en la bibliografía consultada, la mayoría de los estudios sobre contaminación del medio acuático determinan la concentración de plaguicidas en músculo.

Para poder estudiar con detalle los resultados recordaremos que se midieron la cantidad de plaguicidas en el músculo de peces capturados en dos ríos diferentes, pero que confluyen en el interior del P. N. de Monfragüe.

También hemos de recordar que, en cada uno de los ríos, se realizaron 3 tomas, una en julio de 1996, otra en abril de 1997 y la última en agosto de 1997.

2.1 Frecuencia de aparición de los diferentes plaguicidas

En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de aparición de los diferentes plaguicidas en el músculo de los peces capturados en los dos ríos, separándose los lotes según las tres capturas realizadas.

Compuesto	Río Tajo			Río Tiétar		
	jul-96	abr-97	ago-97	jul-96	abr-97	ago-97
α -HCH	0	0	35,71	0	0	78,57
β -HCH	0	0	0	0	0	0
δ -HCH	0	0	30	0	0	75
lindano	0	0	60	0	0	91,66
Heptacloro	0	0	70	0	0	100
Endosulfan	0	0	30	0	0	100
DDD	0	0	50	0	0	100
DDE	75	75	100	85,71	66,66	100
DDT	0	0	20	0	0	100
Metoxicloro	0	0	10	0	0	75

Tabla 82. Frecuencia de aparición (%) de plaguicidas en músculo de peces de los diferentes muestreos

Lo más evidente es que de todos los plaguicidas muestreados, el p,p'-DDE aparece de una forma constante, es decir en los 3 muestreos y en casi todos los peces.

En los muestreos realizados en julio y abril no aparecen la mayoría de los plaguicidas, exceptuando el DDE que, como metabolito del DDT, permanece más estable en los tejidos de los peces. Sin embargo, en el muestreo realizado en agosto de 1997 aparecen casi todos los plaguicidas, salvo el beta-HCH.

La frecuencia de aparición es mucho mayor (siempre más del 75%) en los peces capturados en el río Tiétar que en el río Tajo, donde las frecuencias de aparición, excepto el DDE y heptacloro están por debajo del 60% .

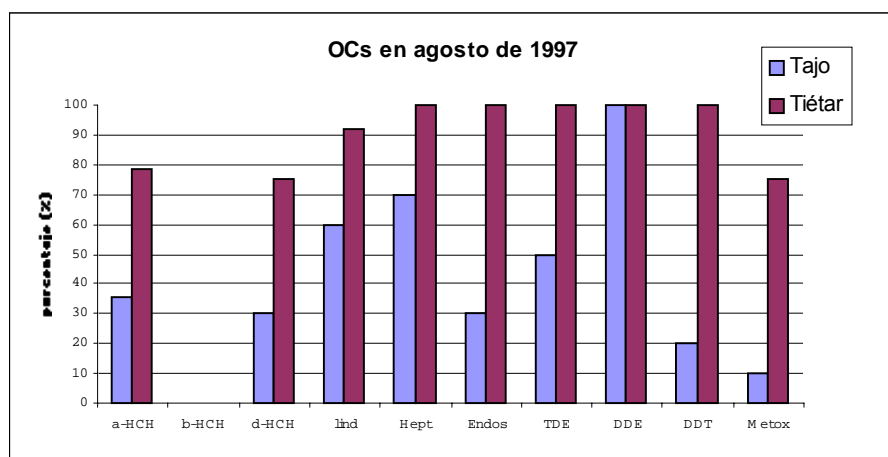


Figura 33. Frecuencia de aparición de plaguicidas organoclorados en músculo de peces muestreados en agosto de 1997.

Cuantitativamente, los niveles de plaguicidas organoclorados detectados en músculo de los peces recogidos en agosto de 1997 en el río Tajo se muestran en esta tabla:

MUESTRA	α -HCH	Lindano	δ -HCH	heptacloro	endosulfán
Pez 49	0,30	0,69	0,56	1,40	1,08
Pez 50	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Pez 51	Nd	Nd	Nd	0,80	Nd
Pez 52	0,15	0,36	Nd	1,01	Nd
Pez 53	0,23	0,44	Nd	1,02	Nd
Pez 54	0,55	0,83	0,99	1,25	1,57
Pez 55	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Pez 56	0,17	0,47	0,17	1,06	0,88
Pez 57	Nd	0,77	Nd	1,44	Nd
Pez 58	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Medi±Desv.Est.	0,15±0,19	0,39±0,33	0,19±0,35	0,89±0,50	0,39±0,61
MUESTRA	DDE	DDD	DDT	Metoxicloro	
Pez 49	8,29	2,59	2,14	Nd	
Pez 50	24,07	Nd	Nd	Nd	
Pez 51	11,03	Nd	Nd	Nd	
Pez 52	7,18	1,84	Nd	Nd	
Pez 53	22,87	4,61	Nd	Nd	
Pez 54	5,28	2,70	2,35	1,68	
Pez 55	10,51	Nd	Nd	Nd	
Pez 56	5,31	1,71	Nd	Nd	
Pez 57	6,37	Nd	Nd	Nd	
Pez 58	25,53	Nd	Nd	Nd	
Medi±Desv.Est.	11,21±7,25	1,49±1,64	0,50±0,99	0,19±0,46	

Tabla 83. Organoclorados (ng/g tejido fresco) en peces del río Tajo. Muestreo de agosto 1997.

* Nd= valores por debajo del nivel de detección

La concentración de plaguicidas organoclorados en músculo de los barbos recogidos en el muestreo de agosto de 1997 en el río Tiétar están reflejados en la siguiente tabla:

MUESTRA	α -HCH	Lindano	δ -HCH	heptacloro	endosulfán
Pez 59	2,85	4,37	3,19	6,25	9,37
Pez 60	3,39	5,25	3,67	8,13	1,01
Pez 61	0,41	0,30	1,37	0,20	1,91
Pez 62	Nd	0,10	0,52	0,62	0,91
Pez 63	0,36	Nd	1,41	1,15	1,68
Pez 64	0,81	1,72	1,57	2,20	3,22
Pez 65	0,56	1,18	0,72	1,29	1,87
Pez 66	0,55	1,49	1,04	1,31	1,80
Pez 67	0,49	1,29	1,61	1,57	2,29
Pez 68	0,10	0,19	Nd	0,58	0,81
Pez 69	0,19	0,63	Nd	0,95	0,52
Pez 70	0,20	1,03	0,00	1,12	0,76
Media \pm Desv.Est.	0,83 \pm 1,10	1,46 \pm 1,67	1,26 \pm 1,18	2,11 \pm 2,46	2,18 \pm 2,39
MUESTRA	DDE	DDD	DDT	Metoxicloro	
Pez 59	18,45	1,83	1,66	1,14	
Pez 60	19,55	1,82	1,52	1,12	
Pez 61	0,70	3,10	2,03	1,34	
Pez 62	5,23	2,16	1,53	0,81	
Pez 63	3,28	4,13	2,83	2,57	
Pez 64	4,63	1,05	7,06	5,36	
Pez 65	4,62	7,55	4,85	2,92	
Pez 66	12,98	6,71	4,81	3,12	
Pez 67	10,18	6,90	5,39	5,15	
Pez 68	3,49	1,90	1,60	Nd	
Pez 69	14,79	3,34	1,48	Nd	
Pez 70	13,48	3,84	3,03	Nd	
Media \pm Desv.Est.	9,28 \pm 6,43	3,69 \pm 2,23	3,15 \pm 1,91	1,96 \pm 1,88	
Tabla 84. Organoclorados (ng/g tejido fresco) en peces del río Tiétar. Muestreo de agosto 1997.					

- Nd= valores por debajo del límite de detección

Si comparamos los resultados de los plaguicidas hallados en ambos ríos podemos comprobar que existen diferencias. Los niveles de plaguicidas hallados en los peces de río Tajo son menores que los niveles de plaguicidas de peces del río Tiétar.

Niveles medios de plaguicidas (ng/g) en peces del río Tajo				
α -HCH	lindano	δ -HCH	Heptacloro	Endosulfan
0,15±0,19	0,39±0,33	0,19±0,35	0,89±0,54	0,39±0,61
DDE	DDD	DDT	Metoxicloro	
11,21±7,25	1,49±1,64	0,50±0,99	0,19±0,56	
Niveles medios de plaguicidas (ng/g) en peces del río Tiétar				
α -HCH	lindano	δ -HCH	Heptacloro	Endosulfan
0,83±1,10	1,46±1,67	1,26±1,19	2,11±2,46	2,18±2,39
DDE	DDD	DDT	Metoxicloro	
9,28±6,43	3,69±2,23	3,15±1,91	1,96±1,88	

Tabla 85. Niveles medios de plaguicidas organoclorados hallados en musculatura de peces capturados en el muestreo de agosto de 1997.

Al aplicar el test no paramétrico de la U de Mann-Whitney, los valores entre ríos son diferentes estadísticamente.

Rangos

	RIO	N	Rango promedio	Suma de rangos
α -HCH	TAJO	10	7,65	76,50
	TIETAR	12	14,71	176,50
	Total	22		
δ -HCH	TAJO	10	7,75	77,50
	TIETAR	12	14,63	175,50
	Total	22		
LINDANO	TAJO	10	8,40	84,00
	TIETAR	12	14,08	169,00
	Total	22		
HEPTACLORO	TAJO	10	9,20	92,00
	TIETAR	12	13,42	161,00
	Total	22		
ENSODULFAN	TAJO	10	6,80	68,00
	TIETAR	12	15,42	185,00
	Total	22		
DDT	TAJO	10	6,70	67,00
	TIETAR	12	15,50	186,00
	Total	22		
DDE	TAJO	10	13,50	135,00
	TIETAR	12	9,83	118,00
	Total	22		
DDD	TAJO	10	7,80	78,00
	TIETAR	12	14,58	175,00
	Total	22		
METOXICLORO	TAJO	10	7,55	75,50
	TIETAR	12	14,79	177,50
	Total	22		

Estadísticos de contraste									
	α -HCH	δ -HCH	LINDANO	HEPTACL.	ENDOS.	DDT	DDE	DDD	METOX.
U de Mann-Whitney	21,500	22,500	29,000	37,000	13,000	12,000	40,000	23,000	20,500
W de Wilcoxon	76,500	77,500	84,000	92,000	68,000	67,000	118,000	78,000	75,500
Z	-2,564	-2,597	-2,056	-1,518	-3,149	-3,243	-1,319	-2,454	-2,844
Sig. asintót. (bilateral)	,010	,009	,040	,129	,002	,001	,187	,014	,004
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,009	,011	,043	,140	,001	,001	,203	,014	,007

Tabla 86. Análisis estadístico de los valores de plaguicidas organoclorados en músculo de peces capturados en agosto de 1997.

a No corregidos para los empates.

b Variable de agrupación: RIO

En el estudio estadístico se observa que tan solo el heptacloro y el DDE son los únicos plaguicidas cuyas concentraciones no son diferentes estadísticamente entre los peces de ambos ríos. Los demás muestran una diferencia significativa de valores entre ríos.

A continuación comentaremos los resultados de cada uno de los plaguicidas encontrados en este muestreo de agosto de 1997.

2.1.1.- α -HCH

Este plaguicida no aparece en el músculo de los peces muestreados en julio de 1996 y abril de 1997, sin embargo aparece en peces muestreados en agosto de 1997.

Dentro de los valores del muestreo realizado en agosto, el α -HCH aparece de forma distinta en peces del río Tajo y Tiétar. La frecuencia de aparición en peces fue de 35,71% en los capturados en Tajo y del 78,57% en los del Tiétar. La concentración osciló entre nd-0,55 ng/L en el músculo de los peces del río Tajo y entre nd-3,39 ng/L en músculo de peces del río Tiétar. Por lo que la concentración media es lógico que sea menor en peces del río Tajo ($0,15 \pm 0,19$ ng/L) que en peces del río Tiétar ($0,83 \pm 1,10$ ng/L).

Baluja *et al.* (1977) realizaron un amplio estudio de la contaminación de organoclorados en especies faunísticas del litoral sur y sudeste español. Resultado de dicho estudio, en la siguiente tabla se detallan los niveles del α -HCH.

Localización	Especie	α -HCH
Golfo Cádiz, mayo de 1972	Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)	0,004
Golfo de Cádiz, marzo de 1973	Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)	0,003
Málaga, marzo de 1973	Chanquete (<i>Aphia minuta</i>)	0,001
	Boquerones (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	0,006
Almería, marzo de 1973	Chanquete (<i>Aphia minuta</i>)	0,002
Cartagena, marzo de 1973	Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)	0,003

Tabla 87. Concentración de α -HCH (μ /g) en pescados del litoral sur y sudeste de España.

Entre 0,001-0,009 μ /g y entre nd-0,011 μ /g se detectaron en carpas y anguilas, respectivamente, recogidas de varios puntos del Parque Natural de Doñana (Fernández-Aceytuno *et al.*, 1984).

López *et al.* (1995) detectaron niveles medios de 0,001 μ /g (nd-0,027) en músculo de peces capturados en ríos de Cataluña.

Aunque se trate de especies distintas, los valores se asemejan a los que hemos encontrado en la musculatura de los barbos capturados en este estudio.

Eisenberg y Topping (1985) realizaron un estudio temporal de los niveles de α -HCH en tejido muscular de peces de estuario (*Morone saxatilis*, *Anguilla rostrata*, *Sebastes marinus*) de la Bahía de Chesapeake, en Maryland (USA) durante el periodo de tiempo comprendido entre 1976 y 1980, observando un incremento paulatino con el registro de los siguientes niveles medios:

Plaguicida	1976	1977	1978	1979	1980
α -HCH	Nd	Nd	0,001	0,002	0,002

Tabla 88. Evolución del contenido de α -HCH (μ /g) tejido fresco en peces capturados en ríos de la Bahía de Chesapeake.

Giouranovits *et al.* (1994) midieron entre 0,1-0,4 ng/g en el pez *Mullus barbatus* recogidos en las costas griegas, valores que se acercan a los recogidos en este estudio.

Kidd *et al.* (1998) realizaron un estudio de niveles de organoclorados en peces del lago Peter (Canadá), encontrando los siguientes niveles en músculo de peces:

Pez	α -HCH
<i>Salvelinus namaycush</i>	1,72 \pm 3,6
<i>Salvelinus alpinus</i>	1 \pm 0,46
<i>Prosopium cylindraceum</i>	1,21 \pm 1,53

Tabla 89. Niveles de α -HCH en músculo de peces del lago Peter (Canadá).

Klavins *et al.* (1998) detectaron niveles medios de 0,016 ng/g en lucios de varios lagos de Lavia.

Menone *et al.* (2000) midieron niveles de 0,22 \pm 0,25 ng/g de α -HCH en el músculo del pez pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) capturados de lagos de la costa del Mar Chiquita (Argentina).

No hemos hallado estudios referidos a niveles de α -HCH en barbos, pero los descritos en la bibliografía consultada se acercan bastante a los niveles detectados por nosotros.

2.1.2.- β -HCH

Este plaguicida no ha aparecido en las muestras de músculo de peces ni del río Tajo ni del río Tiétar. Es de destacar que no apareció en las muestras de agua tampoco.

López *et al.* (1995) detectaron niveles medios de 0,002 μ g/g (nd-0,059) en músculo de peces capturados en ríos de Cataluña.

Ford y Hill (1991) encontraron β -HCH en *Cyprinus carpio* (0,02 μ g/g) y *Lepisosteus oculatus* (0,01 μ g/g), pero no en *Gambusia affinis* y el *Ictiobus bubolus*.

Ahmed e Ismail (1991), tras analizar los residuos de plaguicidas organoclorados en el músculo de la tilapia (*Tilapia zillii*) de un lago próximo al Canal de Suez (Egipto), encontraron que el compuesto dominante en todas las muestras era el beta-HCH.

En la mayoría de los estudios consultados, no se reflejan los valores de β -HCH porque simplemente no detectan, como es nuestro caso (Baluja *et al.*, 1977; López *et al.*, 1995; Sahagún *et al.*, 1998; Guitart *et al.*, 2001, Giouranovits *et al.*, 1994; Gerstenberger *et al.*, 1997; Menone *et al.*, 2000).

2.1.3.- δ -HCH

El δ -HCH solo apareció en el muestreo realizado en agosto de 1997. La concentración de este plaguicida fue mayor en los peces del Tiétar ($1,26 \pm 1,19$ ng/g), al igual que su frecuencia de aparición (75%), con respecto a los peces capturados en el río Tajo, cuya media fue de $0,19 \pm 0,35$ ng/g y la frecuencia de aparición del 30%.

En la bibliografía consultada no aparecen datos sobre hallazgos de este plaguicida en músculo de peces. No obstante, podemos decir que los niveles encontrados en este estudio son bajos y no representan un estado de contaminación considerable.

2.1.4.- Lindano

El lindano fue otro de los plaguicidas que sólo aparece en el muestreo realizado en agosto de 1997. Los niveles detectados vuelven a ser mayores y más frecuentes en peces del río Tiétar que en los del río Tajo. Así, la concentración media en el músculo de peces del Tiétar fue de $1,46 \pm 1,47$ ng/g (91,6% aparición) y los del río Tajo se midieron niveles medios de $0,39 \pm 0,33$ ng/g, con una frecuencia de aparición del 60%.

Si comparamos los niveles hallados con los encontrados por otros autores, se puede apreciar que son muy parecidos o incluso superiores los valores que describen otros autores.

Los niveles de lindano medidos por Baluja *et al.* (1977) en especies faunísticas del litoral sur y sudeste español fueron superiores a los que hemos encontrado nosotros:

Localización	Especie	Lindano
Golfo Cádiz, mayo de 1972	Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)	0,007
Golfo de Cádiz, marzo de 1973	Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)	0,008
Málaga, marzo de 1973	Chanquete (<i>Aphia minuta</i>)	0,003
	Boquerones (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	0,01
Almería, marzo de 1973	Chanquete (<i>Aphia minuta</i>)	0,007
Cartagena, marzo de 1973	Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>)	0,007

Tabla 90. Concentración de lindano (μ /g) en pescados del litoral sur y sudeste de España.

Menone *et al.* (2000) realizaron un estudio de los niveles de lindano del pez pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) capturados de lagos de la costa del Mar Chiquita (Argentina), encontrando una concentración en músculo de $3,42 \pm 4,12$ ng/g.

En Italia, Amodio-Cocchieri y Arnese (1988) analizaron el contenido de lindano en tejido muscular de varios peces de diferentes ríos del sur de Italia:

Pez	Lindano
Carpa	Nd-6
Tenca	Nd-8
Anguila	5-16
Pez gato	5-13

Tabla 91. Niveles de lindano (ng/g de peso fresco) en peces de ríos del sur de Italia

Aunque existieron niveles de lindano en las aguas del río Tajo y Tiétar durante todo el año a una concentración constante, no se detectó lindano en el músculo de los peces durante los muestreos de julio de 1996 y abril de 1997. Sin embargo, los niveles de lindano en aguas aumentaron desde el mes de abril hasta julio, por lo que fue posible detectar niveles, aunque muy bajos en los peces de la recogida de agosto.

Una explicación a este fenómeno es que el lindano es un plaguicida organoclorado con bajos factores de bioconcentración si lo comparamos con el resto de plaguicidas organoclorados. En algún estudio se ha determinado el factor de bioconcentración del lindano llegándose a la conclusión que suele ser bajo. Peces *Lagodon rhombides* expuestos a 18-91 µg/L y *Cyprinodon variegatus* expuestos a 42-109 µg/L durante 96 h exhibieron un factor de bioacumulación de entre 167-554 y 337-727, respectivamente (Verschueren, 1996), lo que sugieren una bioconcentración baja. Si tenemos en cuenta que la concentración a la que estuvieron expuestos los anteriores peces fue de 50.000 a 100.000 veces mayor que la concentración de exposición de los barbos en este estudio, podremos entender que el lindano se encuentra en aguas a unos niveles que no representan cargas contaminantes para que se biomagnifiquen.

2.1.5.- ΣHCH

En la bibliografía consultada, se estudia de forma práctica la contaminación por todos los isómeros del hexaclorociclohexano. De esta forma, nos permite comparar las concentraciones halladas en los peces de este estudio con las halladas por otros autores.

El ΣHCH, en nuestro caso, representa la concentración de α-HCH + δ-HCH + lindano. En músculo de barbos del río Tiétar la media fue de $4,83 \pm 5,18$ ng/g y apareció en el 100% de las muestras y en músculo de los barbos del río Tajo la media fue de $1,33 \pm 1,12$ ng/g y apareció en el 60% de las muestras. La tendencia es genérica para todos los plaguicidas, en el sentido que aparece de forma más frecuente y en mayor concentración en músculo de peces del río Tiétar.

Carrasco *et al.* (1972) encontraron niveles de ΣHCH (alfa+lindano) superiores a los encontrados en este estudio:

Especie	ΣHCH
<i>Cyprinus carpio</i>	16,9
<i>Anguilla anguilla</i>	83
<i>Micropterus salmoides</i>	11,8

Tabla 92. Niveles de ΣHCH (ng/g) de peces de la Albufera de Valencia.

Baluja *et al.* (1973) determinaron los niveles de ΣHCH (alfa+lindano) en peces de zonas costeras del Mediterráneo y Atlántico (España), durante los años 1968-1970:

Lugar	Especie	ΣHCH (alfa+lindano)
Mediterráneo	Sardina	0,009-0,027
	mielga	Nd-0,01
Atlántico	Sardina	0,004-0,029
	mielga	0,005-0,009

Tabla 93. Niveles de ΣHCH (µg/g peso fresco) detectados

López *et al.* (1995) analizaron muestras de varias especies piscícolas (*Cyprinus carpio*, *Ictalurus melas*, *Micropterus salmoides*, *Salmo trutta*, *Anguilla anguilla*, *Gobio gobio*) en diversos ríos de Cataluña, encontrando niveles de 0,021 (0-0,171) µg/g del ΣHCH, siendo el lindano el más abundante de los derivados del HCH, con una concentración media de 0,017 (0-0,168) µg/g.

En otros países, otros autores muestran niveles de ΣHCH similares también a los encontrados en este estudio.

Kidd *et al.* (1998) evaluaron la contaminación en peces del lago Peter (Canadá), encontrando los siguientes niveles del Σ HCH en músculo de peces:

Pez	Σ -HCH
<i>Salvelinus namaycush</i>	2,16±4,3
<i>Salvelinus alpinus</i>	1,68±0,8
<i>Prosopium cylindraceum</i>	1,36±1,62

Tabla 94. Niveles de Σ HCH (ng/g) en peces del lago Peter (Canadá)

Dogheim *et al.* (1990) encontraron que las muestras de tejido muscular de los peces tilapia (*Tilapia noltica*) y pez gato (*Clarus lazero*) capturados en dos comunidades de Egipto estaban contaminadas con niveles relativamente bajos de los 15 plaguicidas analizados. El total de isómeros del HCH fue de 0,42 y 0,25 ppm en las comunidades de Beni-Suef y Fayoum respectivamente.

Menone *et al.* (2000) realizaron un estudio de los niveles del Σ -HCH en el pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) capturados de lagos de la costa del Mar Chiquita (Argentina), encontrando una concentración media de 4,23±4,07 ng/g tejido fresco.

Eichner (1973), determinó la concentración del Σ -HCH en músculo de varias especies de peces (bagre blanco, *Ameiurus catus*; la perca, *Perca flacescens* y la anguila, *Anguilla anguilla*) recogidos en el lago Constance, y de algunos afluentes del río Rin (Alemania). Los peces recogidos en el lago Constance contenían 0,02-0,52 μ g/g de Σ HCH. La concentración en músculo del pez rutilo (*Rutilus rutilus*) y la trucha (*Salmo gairdneri*) capturados en los afluentes del Rin fue de 0,03-0,32 μ g/g de Σ HCH, valores superiores a los encontrados en este estudio.

2.1.6.- Heptacloro

Como el resto de los plaguicidas, excepto el DDE, su presencia en el músculo de los barbos fue evidente sólo en el muestreo realizado en agosto de 1997.

La concentración media fue de 2,11±2,46 y de 0,89±0,54 ng/g en músculo de los peces capturados en el río Tiétar y Tajo, respectivamente. La proporción en la que se encontró fue del 70% en los peces del Tajo y del 100% en los del Tiétar.

Un estudio realizado por Sahagún *et al.* (1998) de los niveles de nueve plaguicidas organoclorados en músculo de trucha arco iris (*Salmo gairdneri*) recogidas en cuatro piscifactorías de la provincia de León desveló que el epóxido de heptacloro fue el segundo plaguicida más frecuente (55%), pero se encontró en mayor concentración (43 ng/g).

Menone *et al.* (2000) midieron niveles de $0,06\pm 0,03$ ng/g en el pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) capturados de lagos de la costa del Mar Chiquita (Argentina).

Amodio-Cocchieri y Arnese (1988) detectaron niveles entre nd-5 ng/g en músculo de la carpa común (*Cyprinus carpio*) y la Tenca (*Tinca tinca*), capturadas en ríos del sur de Italia.

2.1.7.- Endosulfan

La concentración media fue de $2,18\pm 2,39$ y de $0,39\pm 0,61$ ng/g en músculo de los peces capturados en el río Tiétar y Tajo, respectivamente. La proporción en la que se encontró fue del 30% en los peces del Tajo y del 100% en los del Tiétar.

Menone *et al.* (2000) midieron niveles de $1,02\pm 0,27$ ng/g en el pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) capturados de lagos de la costa del Mar Chiquita (Argentina).

Amodio-Cocchieri y Arnese (1988) detectaron niveles entre nd-5 ng/g en músculo de la carpa común (*Cyprinus carpio*) y la Tenca (*Tinca tinca*), capturadas en ríos del sur de Italia.

2.1.8.- DDT

El DDT se detectó en la musculatura de los peces únicamente en el muestreo realizado en agosto de 1997 de nuevo. La concentración media fue de $3,15\pm 1,91$ y de $0,5\pm 0,99$ ng/g en los peces del río Tiétar y Tajo, respectivamente. La concentración en los barbos capturados en el Tiétar sigue siendo mayor que en los del río Tajo, así como la frecuencia, ya que en el río Tajo se detectó en el 20% de los peces capturados, mientras que en el Tiétar se detectó en el 100%.

Baluja *et al.* (1973) determinaron la acumulación del DDT en la mielga (*Squalus acanthias* y *S. blainwilleí*) en zonas costeras del Mediterráneo ($0,3 \mu\text{g/g}$) y Atlántico ($<0,05-0,05$). La concentración fue bastante más alta que la hallada en nuestro estudio.

Eisenberg y Topping (1985) realizaron un estudio de los niveles de DDT en tejido muscular de peces de estuario (*Morone saxatilis*, *Anguilla rostrata*, *Sebastes marinus*) durante el periodo de tiempo comprendido entre 1976 y 1980, con el objeto de monitorizar los contaminantes que llegaban a la Bahía de Chesapeake, en Maryland (USA). Los niveles medios quedan reflejados en la siguiente tabla en la que se observa que la evolución del DDT es hacia un descenso de las concentraciones medidas:

Plaguicida	1976	1977	1978	1979	1980
DDT	0,01	0,004	0,001	Nd	0,001

Tabla 95. Evolución del contenido de DDT (ng/g) en peces capturados en ríos de la Bahía de Chesapeake (Maryland).

Ford y Hill (1991) estudiaron los niveles de DDT a través de una cadena trófica de peces en el Parque Nacional de Yazoo (Mississippi). Como consumidores secundarios se escogió al *Gambusia affinis* y *Cyprinus carpio*, mientras que como consumidores terciarios se escogió el el *Lepisosteus oculatus*. Los niveles de DDT encontrados demostraron biomagnificación:

Especie	p,p'-DDT (µg/g)
<i>Gambusia affinis</i>	0,04
<i>Cyprinus carpio</i>	0,28
<i>Lepisosteus oculatus</i>	0,63

Tabla 96. Concentración de DDT encontrados en el Parque Nacional de Yazoo (Mississippi)

El estudio de la concentración de organoclorados en la lobina de Dolomeu (*Micropterus dolomieu*) del lago Fumee, en la península de Michigan (USA), evidenció la presencia de niveles entre 138-210 ng/g tejido fresco de p,p'-DDT para los peces de talla entre 0-20 cm, entre 297-411 ng/g de p,p'-DDT para peces de talla comprendida entre 20-30 cm y de 410-587 ng/g de p,p'-DDT para peces de talla más grandes de 30 cm, lo que supuso, por un lado, que la entrada principal de estos contaminantes fuera la aérea debido a que el lago se encuentra alejado de cualquier fuente de contaminación y además, que existió una correlación positiva entre los niveles de p,p'-DDT y el tamaño del pez (Henry *et al.*, 1998).

Eaton y Lydy (2000) detectaron entre 0-1,59 ng/g de p,p'-DDT en músculo de la carpa común (*Cyprinus carpio*) capturadas en el río Arkansas, en el estado de Kansas (USA), valores que se asemanan a los hallados en este estudio.

Abdallah *et al.* (1990) analizaron un centenar de muestras de 34 especies de peces de consumo en Egipto, encontrando que los niveles máximos p,p'-DDT fueron de 57,19 ng/g, respectivamente.

Menone *et al.* (2000) midieron niveles de DDT de 0,68±0,54 ng/g en ejemplares de pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) capturados de lagos de la costa del Mar Chiquita (Argentina).

Shailaja y Singbal (1994) realizaron un estudio de los niveles de DDT en músculo de peces de la Bahía de Bengal (India) en la que desembocan ríos que arrastran contaminantes de zonas agrícolas y zonas de control de malaria. Los niveles medios de DDT fueron de 0,33 ng/g en el pez *Upeneus spp* y de 11,92 ng/g en el

pez *Nemipterus japonicus*. En todo caso, la concentración de DDT superó la de sus metabolitos, por lo que los autores concluyeron que se trataba de exposiciones recientes a los plaguicidas.

Se ha comprobado por varios estudios que la asimilación del DDT depende de muchos factores, uno de ellos, el tamaño del pez, como se vio en el anterior estudio (Henry *et al.*, 1998), el tipo de alimentación de los peces, así como la posición que ocupa en la cadena trófica (Shailaja y Singbal, 1994). De esta forma se pueden encontrar ejemplares con elevadas cargas de DDT, junto a otras especies que poseen cargas inferiores, aún cuando en el entorno acuático exista la misma concentración de plaguicida.

Klavins *et al* (1998) midieron concentraciones comprendidas entre 0,96-12,24 ng/g de DDT en músculo de la perca (*Perca fluviatilis*) y el lucio (*Esox lucius*) capturados en varios lagos de Latvia, en los que se supone una baja contaminación antropogénica.

2.1.9.- DDE

El DDE fue el plaguicida que se detectó en todos los muestreos de peces realizados. A continuación expresamos los valores de cada uno de los peces y en cada uno de los muestreos realizados en ambos ríos:

23 julio 96	DDE	29 abril 97	DDE	22 agosto 97	DDE
Pez 1	nd	Pez 31	12,59	Pez 49	8,29
Pez 2	19,38	Pez 32	11,68	Pez 50	24,07
Pez 3	15,78	Pez 33	3,58	Pez 51	11,03
Pez 4	11,67	Pez 34	2,49	Pez 52	7,18
Pez 5	3,94	Pez 35	10,72	Pez 53	22,87
Pez 6	3,81	Pez 36	10,06	Pez 54	5,28
Pez 7	4,44	Pez 37	31,35	Pez 55	10,51
Pez 8	3,50	Pez 38	25,39	Pez 56	5,31
Pez 9	2,94	Pez 39	8,94	Pez 57	6,37
Pez 10	11,76	Pez 40	nd	Pez 58	25,53
Pez 11	11,16	Pez 41	nd		
Pez 12	7,47	Pez 42	nd		
Pez 13	8,84				
Pez 14	nd				
Pez 15	nd				
Pez 16	nd				
Julio de 1996		Abril de 1997		Agosto de 1997	
Promedio	Coef. Variación	Promedio	Coef. Variación	Promedio	Coef. Variación
6,54 ± 6,02	91,98 %	9,73 ± 10	102,77 %	12,70 ± 8,14	64,14 %
Río Tajo					
Promedio		Coef. Variación			
9,17 ± 8,18		89,27 %			
Tabla 97. Niveles de DDE (ng/g) encontrados en músculo de barbos muestreados en el río Tajo.					

- nd = valores por debajo del límite de detección.

Los niveles de concentración de DDE encontrado en músculo varían de unos peces a otros y la tendencia en el tiempo (diferentes muestreos) es hacia el aumento del valor de la media de concentración de DDE, que se hace a consecuencia del porcentaje de presencia detectable, ya que en el muestreo de julio-96 hay 4 peces cuya concentración de DDE está por debajo del límite de detección, mientras que en agosto-97 todas los peces tenían concentraciones superiores al límite de detección.

Aunque los valores no son exageradamente diferentes entre unos peces y otros, existe una diferencia de hasta 6 veces, lo que indica elevados coeficientes de variación (CV). El rango de los valores encontrados en el primer muestreo está comprendido entre nd-19,38 ng/g, lo que representa una variación sustancial (CV=91,98%). El valor medio en este grupo fue de $6,54 \pm 6,02$ ng/g de tejido fresco.

Igual variación sufre el resto de los dos muestreos, solo que la media va aumentando. Así en el segundo muestreo, la media de grupo fue de $9,73 \pm 10,0$ ng/g, pero la variación del grupo es mayor (CV=102,77%), probablemente por el tamaño de grupo tan bajo y en el muestreo de agosto de 1997 la media de la concentración de DDE fue de $12,70 \pm 8,14$ ng/g, disminuyendo la variabilidad (CV=64,14%), ya que se detectó DDE en el 100% de los peces.

Moriarty (1972) apuntó que la distribución de los valores de contaminantes no se suele distribuir alrededor de la media, es decir, no suelen seguir una distribución normal y en el caso de los organoclorados, la mayor variación entre los valores se observa entre las muestras de diferentes individuos de la población. Este mismo autor comenta que es muy común que estudios con individuos de la misma talla, peso y sexo, recogidos en la misma época del año muestren desviaciones estándar entre el 30 y 40% de la media (Ketchum *et al.*, 1976).

El contenido medio de DDE de todos los barbos muestreados en el periodo de un año en el río Tajo da un valor de $9,17 \pm 8,18$ ng/g de tejido fresco.

En el río Tiétar se realizaron, al igual que en el río Tajo, 3 capturas en las mismas fechas, de la que se extrae la tabla de siguientes datos:

23 julio 96	DDE	29 abril 97	DDE	22 agosto 97	DDE
Pez 17	14,91	Pez 43	1,92	Pez 59	18,45
Pez 18	12,48	Pez 44	3,81	Pez 60	19,55
Pez 19	5,32	Pez 45	8,90	Pez 61	0,70
Pez 20	7,45	Pez 46	4,70	Pez 62	5,23
Pez 21	11,56	Pez 47	nd	Pez 63	3,28
Pez 22	nd	Pez 48	nd	Pez 64	4,63
Pez 23	nd			Pez 65	4,62
Pez 24	4,73			Pez 66	12,98
Pez 25	8,49			Pez 67	10,18
Pez 26	2,86			Pez 68	3,49
Pez 27	7,01			Pez 69	14,79
Pez 28	3,81			Pez 70	13,48
Pez 29	5,09				
Pez 30	3,69				
Julio de 1996		Abril de 1997		Agosto de 1997	
Promedio	Coef. Variación	Promedio	Coef. Variación	Promedio	Coef. Variación
6,24 ± 4,43	71,05 %	3,22 ± 3,38	105,07 %	9,28 ± 6,43	69,3 %
Río Tiétar					
Promedio		Coef. Variación			
6,82 ± 5,46		80,06 %			

Tabla 98. Niveles de DDE (ng/g) encontrados en músculo de barbos muestreados en el río Tiétar.

Los niveles de DDE en el músculo de peces del río Tiétar muestran también, al igual que en el río Tajo, una variabilidad entre unos y otros. Los rangos son amplios, pero no existen valores que se disparen de la media grupal.

Como se puede observar, el valor medio de DDE no parece que tienda a subir a medida que pasa el tiempo, como ocurría en el caso de los peces del Tajo, sin embargo en la última recogida de agosto de 1997 en el río Tiétar, los valores de DDE fueron más altos que en muestreos anteriores y apareció en el 100% de los peces, como ocurrió en el río Tajo.

La variabilidad es una característica también constante en los niveles de DDE muscular de los barbos el río Tiétar. La concentración media del primer muestreo fue de 6,24 ± 4,43 ng/g, con un coeficiente de variación del 71,05 %. El valor medio de DDE de los peces recogidos en abril fue de 3,22 ± 3,38, mostrando una variabilidad mayor (CV=105,07 %), debido al menor número de ejemplares capturados y a que dos de ellos tenían concentraciones inferiores al límite de

detección . El muestreo realizado en agosto mostró una variabilidad mucho menor (CV=69,3 %), dando unos valores medios de DDE en músculo de $9,28 \pm 6,43$ ng/g de tejido fresco.

2.1.9.1- Comparación con los valores encontrados por otros autores

El DDE es el metabolito encontrado con más frecuencia cuando se estudian niveles de organoclorados en peces (Baluja *et al.*, 1977; Fernández-Aceytuno *et al.*, 1984; Rico *et al.*, 1987; López *et al.*, 1995; Guitart *et al.*, 2001; Eisenberg y Topping, 1985; Ford y Hill, 1991).

Casi todos los estudios indican que el DDT, DDE y el DDD se absorben a través del agua por los peces, son pobremente metabolizados y que el DDT se convierte en su mayoría a DDE. La conversión de DDT a DDE también es lenta, aunque ya depende más de las especies (Murty, 2000). Asumiendo una cinética de primer orden, Addison *et al.* (1976) estimaron que la vida media del DDT en el salmón atlántico (*Salmo salar*) fue de 60 días y en la trucha arco iris (*Salmo gairdneri*) estuvo entre 255-408 días.

En España los valores que encuentran otros autores en otros peces son muy similares o incluso mayores a los encontrados en nuestro estudio.

Baluja *et al.* (1973) determinaron la concentración de DDE en la mielga (*Squalus acanthias* y *S. blainwillei*) en zonas costeras del Mediterráneo (0,32 µg/g) y Atlántico (0,0-0,005 µg/g).

López *et al.* (1995) realizaron un estudio de los niveles de plaguicidas organoclorados en varias especies de peces en diversos ríos de Cataluña. Encontraron trazas de HCHs, epóxido de heptacloro y DDT y sus metabolitos. De todos ellos, el DDE se encontró con mayor frecuencia (100% de las muestras) y en mayor concentración (46 ng/g de tejido fresco).

Para estos autores, estos niveles no superan los niveles máximos recomendados en el consumo humano, establecidos por la FAO (1983). También comentan que los niveles detectados están claramente por debajo de niveles que puedan inducir patologías o disfunciones en peces según lo estimado por Samiullah (1990).

En el Parque Nacional de Doñana se han realizado varios estudios de contaminación de organoclorados en peces.

Fernández-Aceytuno *et al.* (1984) realizaron un estudio en dos años para ver la evolución de algunos plaguicidas, como el DDE, reflejándose los datos en la siguiente tabla:

Especie	p,p'-DDE	Año de estudio
Carpa (<i>Cyprinus carpio</i>)	0,045 (0,032-0,057)	1980
	0,131 (0,036-0,273)	1982
Anguila (<i>Anguilla anguilla</i>)	0,162 (0,096-0,228)	1980
	0,354 (0,07-0,722)	1982
Lisa (<i>Mugil spp</i>)	0,085 (0,063-0,107)	1980
	0,085 (0,033-0,155)	1982

Tabla 99. Niveles de DDE ($\mu\text{g/g}$) en peces del Parque Nacional de Doñana

Como se puede apreciar, la carpa y la anguila acumularon más DDE en el año 1982, mientras que en la lisa, los valores se mantuvieron más o menos constantes.

Según los autores, los hábitos tróficos de las especies condicionan los niveles de compuestos organoclorados, lo que se pone claramente de manifiesto al constatar que especies caracterizadas por sus hábitos carnívoros -como la anguila- presentan concentraciones superiores de DDE que las especies omnívoras, como la carpa o la lisa.

Rico *et al.* (1987) midieron la concentración de organoclorados en varias especies de peces durante los años 1983-186, encontrando los siguientes resultados para el DDE:

Pez	1983	1984	1985	1986
Carpa (<i>Cyprinus carpio</i>)	0,07 (0,05-0,1)	0,08 (0,08-0,09)	0,07 (0,02-0,11)	0,07 (0,02-0,05)
Morraquete (<i>Mugil capito</i>)	0,06 (0,02-0,1)	0,08	0,08 (0,02-0,14)	0,06 (0,05-0,07)
Barbo (<i>Barbus barbus</i>)	-	0,22	0,06	-
Anguila (<i>Anguilla anguilla</i>)	0,1 (0,05-0,16)	0,24 (nd-0,6)	0,22 (0,06-0,26)	0,15 (0,08-0,22)

Tabla 100. Niveles de DDE ($\mu\text{g/g}$) en peces del Parque Nacional de Doñana

Los niveles de DDE (aparte de otros organoclorados estudiados) encontrados en este estudio son superiores en la anguila que en otros peces, que según los autores, es fácilmente justificable por el método nutricional diferente de las especies de este estudio.

Los residuos de DDE se encontraron en todos los peces analizados, pero en ningún caso se encontraron niveles superiores a $1 \mu\text{g/g}$, que según Hider *et al.* (1982) podrían representar daño potencial para aquellos carnívoros que se alimentan de peces.

En los barbos analizados en este estudio, las concentraciones de DDE encontradas son muy inferiores a las encontradas en los barbos analizados en el Parque Natural de Doñana, por lo que podemos decir que el riesgo es aún menor.

Guitart *et al.* (2001), midieron la contaminación por organoclorados en peces (trucha de lago, piscardo y anguila) de dos ríos de Cantabria (Asón y Nansa). Se hallaron varios plaguicidas, pero en concentraciones muy bajas, siendo el p,p'-DDE el compuesto que se halló en mayor concentración (25,08 ng/g peso seco).

Eisenberg y Topping (1985) realizaron un estudio de los niveles de DDE en tejido muscular de peces de estuario (*Morone saxatilis*, *Anguilla rostrata*, *Sebastes marinus*) de la bahía de Chesapeake durante el periodo de tiempo comprendido entre 1976 y 1980. El plaguicida encontrado en mayor concentración y con mayor frecuencia fue el DDE, que no sufrió cambios importantes en ese periodo de tiempo, permaneciendo sus concentraciones entre 0,04-0,08 ng/g.

Abdallah *et al.* (1990) analizaron un centenar de muestras de 34 especies de peces de consumo en Egipto, encontrando niveles máximos de p,p'-DDE de 234,40 ng/g.

Ahmed e Ismail (1991), tras analizar los residuos de plaguicidas organoclorados en el músculo de la tilapia (*Tilapia zillii*) de un lago próximo al Canal de Suez (Egipto), encontraron que el compuesto dominante en todas las muestras era el beta-HCH, seguido por el p,p'-DDE.

Ford y Hill (1991) estudiaron la biomagnificación de plaguicidas organoclorados a través de una cadena trófica de peces en el Parque Nacional de Yazoo (Mississippi). Como consumidores secundarios se escogió al *Gambusia affinis* y *Cyprinus carpio*, mientras que como consumidores terciarios se escogió el *Lepisosteus oculatus*. Los niveles de DDE fueron mucho mayores que el resto de los plaguicidas y se encontró con mucha más frecuencia:

Espece	p,p'-DDE
<i>Gambusia affinis</i>	0,52
<i>Cyprinus carpio</i>	6
<i>Lepisosteus oculatus</i>	8,78

Tabla 101. Niveles de DDE (µg/g) encontrados en el Parque Nacional de Yazoo (Mississippi)

Shailaja y Singbal (1994) detectaron concentraciones de 0,94 ng/g en el pez *Upeneus spp* y de 3,93 ng/g en el pez *Nemipterus japonicus*.

Giouranovits *et al.* (1994) encontraron que el DDE era el plaguicida organoclorado más encontrado y en mayor concentración en el pez *Mullus*

barbatus recogidos en las costas de Grecia. El período de estudio fue desde 1988 a 1991 y la concentración media de DDE encontrado fue de 14,1 ng/g peso fresco y rango entre 9–18 ng/g tejido fresco. Valores que se asemejan a los encontrados en nuestro estudio.

Brevik *et al.* (1996) examinaron los niveles del DDT y metabolitos en perca (*Perca fluviatilis*) y lucio (*Esox lucius*) del lago Orsjöen (Noruega). Coincidiendo con otros estudios, el DDE era el plaguicida más encontrado y en mayor concentración (2,56 ng/g en perca y 3,5 ng/g en lucio), aunque estos valores son inferiores a los encontrados por nosotros.

Kidd *et al.* (1998) realizaron un estudio de niveles de organoclorados en peces del lago Peter (Canadá), encontrando los siguientes niveles en músculo de peces:

Pez	p,p'-DDE
<i>Salvelinus namaycush</i>	34,9±96,6
<i>Salvelinus alpinus</i>	0,88±0,64
<i>Prosopium cylindraceum</i>	4,04±2,8
Tabla 102. Niveles de DDE (ng/g) en peces del lago Peter (Canadá)	

Según Hamilton (1989) los niveles encontrados en varias especies de peces del mar de Arabia (India) no alcanzaron los 5 µg/g aceptados como peligrosos para la salud humana, según la FDA (1978). La concentración de DDE (ng/g) en tejido muscular de las diferentes especies se encuentra reflejado en la siguiente tabla:

Pez	p,p'-DDE
<i>Sardinella longiceps</i>	19,7 ±1,5
<i>Apolectus Níger</i>	Nd
<i>Sardinella fimbriata</i>	30,5 ±5,1
<i>Pampus argenteus</i>	8,1±14
<i>Tylosurus spp</i>	41,4±12,5
<i>Coryphaena hippurus</i>	31,9±5,8
<i>Loligo spp</i>	Nd
Tabla 103. Niveles de DDE (ng/g) en peces del mar de Arabia (India).	

Eaton y Leady (2000) realizaron un estudio de los niveles de organoclorados en la carpa común (*Cyprinus carpio*) del río Arkansas, comparando descargas de zonas urbanas y de zonas agrícolas del estado de Kansas (USA). En los puntos muestreados, el p,p'-DDE fue el segundo plaguicida más encontrado (80%) y en mayor concentración (4,23 ± 7,49 ppb), siendo la concentración en la zona de río

de descargas urbanas mayor (5,84 ppb) que la de zona agrícola (1,6 ppb). Se detectaron valores tan altos como 22,23 ppb.

En nuestro estudio sucede algo parecido a lo observado por Eaton y Leady, ya que los niveles de DDE son mayores en barbos del río Tajo que en los del río Tiétar. El río Tajo recoge algunas descargas agrícolas, pero más importantes aún son las descargas industriales y de residuos urbanos recibidas de grandes ciudades, como Madrid, Toledo, Talavera de la Reina. El río Tiétar recibe básicamente descargas de cultivos agrícolas del Campo Arañuelo.

Menone *et al.* (2000) encontraron $0,78 \pm 0,15$ ng/g de DDE en ejemplares de pez pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) capturados de lagos de la costa del Mar Chiquita (Argentina).

Los datos extraídos de otros estudios en peces se parecen bastante o son ligeramente superiores a los datos que nosotros encontramos en el músculo de peces del P. N. de Monfragüe. Asimismo, coinciden en afirmar que estos niveles se encuentran en un rango de seguridad, de tal forma que no parece que vayan a producir patologías a los consumidores, entre ellos, el hombre.

2.1.9.2.- Relación entre los niveles de DDE encontrado en músculo con otros parámetros

A.- Relación entre los niveles DDE en barbos de los diferentes muestreos

Para poder apreciar la diferencia entre los niveles hallados en cada uno de los muestreos y en cada uno de los ríos la gráfica siguiente puede orientarnos:

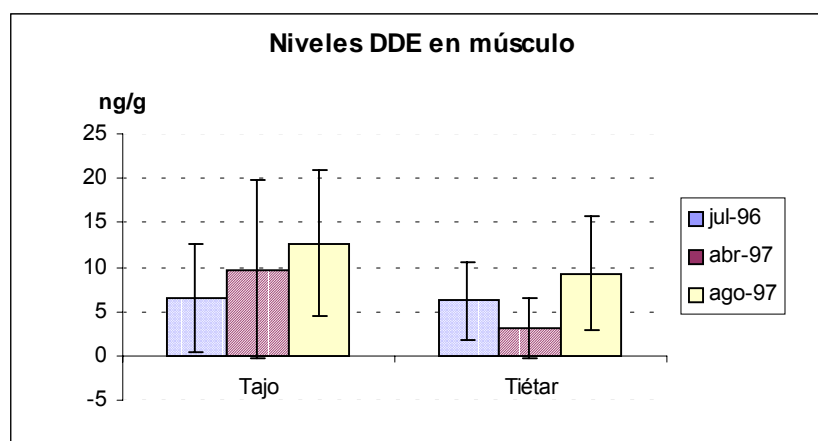


Figura 34. Niveles de DDE encontrados en músculo de peces en los diferentes muestreos realizados en el río Tajo y Tiétar.

	Tajo	Tiétar
jul-96	6,54 ± 6,02	6,24 ± 4,43
abr-97	9,73 ± 10	3,22 ± 3,38
ago-97	12,7 ± 8,14	9,28 ± 6,43

Tabla 104. Niveles promedio de DDE (ng/g) en músculo de peces capturados en Monfragüe.

En esta gráfica podemos apreciar cómo los valores de DDE en músculo de peces del río Tajo son siempre ligeramente superiores a los encontrados en músculo de peces del río Tiétar. Asimismo se ve claramente la tendencia hacia el aumento de concentración de este plaguicida a medida que pasa el tiempo.

Al comparar los datos de DDE en músculo de peces en el muestreo de julio de 1996, se observa que no existen diferencias significativas, al aplicar el test no paramétrico, entre los niveles hallados en los peces de diferentes ríos:

Rangos

	RIO	N	Rango promedio	Suma de rangos
DDE	TAJO	16	15,31	245,00
	TIETAR	14	15,71	220,00
	Total	30		

Estadísticos de contraste	
	DDE
U de Mann-Whitney	109,00 0
W de Wilcoxon	245,00 0
Z	-,125
Sig. asintót. (bilateral)	,900
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,918

a No corregidos para los empates.

b Variable de agrupación: RIO

Tabla 105. Estudio estadístico de los niveles de DDE en músculo de peces del río Tajo y Tiétar en el muestreo realizado en julio de 1996.

En el muestreo realizado en el mes de abril, ocurre lo mismo, es decir, no existen diferencias significativas entre los niveles de DDE en músculo de los peces capturados en diferentes ríos.

Rangos

	RIO	N	Rango promedio	Suma de rangos
DDE-MÚSCULO	TAJO	12	10,75	129,00
	TIETAR	6	7,00	42,00
	Total	18		

Estadísticos de contraste	
	DDE- MÚSCULO
U de Mann-Whitney	21,000
W de Wilcoxon	42,000
Z	-1,420
Sig. asintót. (bilateral)	,156
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,180

a No corregidos para los empates.

b Variable de agrupación: RIO

Tabla 106. Estudio estadístico de los niveles de DDE en músculo de peces del río Tajo y Tiétar en el muestreo realizado en abril de 1997.

Y por último, en el muestreo realizado en el mes de agosto tampoco existen diferencias significativas entre los niveles de DDE en músculo de los peces capturados en diferentes ríos.

Rangos

	RIO	N	Rango promedio	Suma de rangos
DDE-MÚSCULO	TAJO	10	13,50	135,00
	TIETAR	12	9,83	118,00
	Total	22		
Estadísticos de contraste				
	DDE-MÚSCULO			
U de Mann-Whitney	40,000			
W de Wilcoxon	118,000			
Z	-1,319			
Sig. asintót. (bilateral)	,187			
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,203			

a No corregidos para los empates.

b Variable de agrupación: RIO

Tabla 107. Estudio estadístico de los niveles de DDE en músculo de peces del río Tajo y Tiétar en el muestreo realizado en agosto de 1997.

B.- Relación entre los niveles DDE de los barbos de diferentes ríos

La concentración media encontrada en el músculo de peces del río Tiétar ($6,82 \pm 5,46$ ng/g) es algo menor que la encontrada en el río Tajo ($9,17 \pm 8,18$ ng/g), pero estadísticamente no es significativo:

Rangos

	RIO	N	Rango promedio	Suma de rangos
DDE-MÚSCULO	TAJO	38	37,50	1425,00
	TIETAR	32	33,13	1060,00
	Total	70		
Estadísticos de contraste				
	DDE-MÚSCULO			
U de Mann-Whitney	532,000			
W de Wilcoxon	1060,000			
Z	-,898			
Sig. asintót. (bilateral)	,369			

a Variable de agrupación: RIO

Tabla 108. Estudio estadístico de los niveles de DDE en músculo de peces del río Tajo y Tiétar.

C.- Relación entre los niveles de DDE y datos biométricos de los barbos

Existen estudios que defienden correlaciones positivas entre el tamaño del pez (longitud) y la concentración de plaguicidas (Reinert, 1970). Sin embargo, hay que advertir que en los estudios que hallan correlaciones se suelen comparar grupos (peces de 0-10 cm, peces de 10-20 cm) con niveles de plaguicidas (Monod y Keck, 1972).

Giouranovits *et al.* (1994) encontraron que la concentración de varios organoclorados (DDT, HCH, aldrín y dieldrin) tiende a incrementarse a medida que aumenta el tamaño de los peces, pero no encuentran una correlación consistente. Nosotros encontramos coeficientes de correlación positivos que indican que, efectivamente, la relación entre ambas variables es positiva, sin embargo, no encontramos una correlación significativa, en el sentido de poder afirmar que a medida que aumenta el tamaño del pez aumentará la concentración de plaguicidas encontrados.

Otros autores no encuentran relación alguna (Allison *et al.*, 1963; Kellogg y Bulkley, 1976). Mora *et al.* (2001) midieron concentraciones de DDE y las correlacionaron con el peso y longitud de las especies capturadas, no encontrando correlación ($r^2=0,55$ y $r^2=0,24$ para el peso y longitud respectivamente).

En nuestro caso, la relación entre la concentración de DDE y el tamaño del pez (longitud, anchura y peso) poseen coeficientes de regresión muy pobres, por lo que admitimos que no existe una correlación clara entre el tamaño del pez y la concentración del plaguicida en músculo.

Peces	DDE músculo
Peso	0.022
Longitud	0.037
Anchura	0.016

Tabla 109. Distribución de r^2 entre distintas variables

D.- Relación entre los niveles de DDE y el sexo de los barbos

En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de detección del DDE en ambos sexos de los peces en los que se encontraron residuos de DDE, pudiendo observarse que, en el conjunto de los ejemplares analizados de sexo macho, el compuesto que se presenta con mayor frecuencia es el lindano, heptacloro y DDE. En las hembras el heptacloro y DDE fueron los más frecuentes.

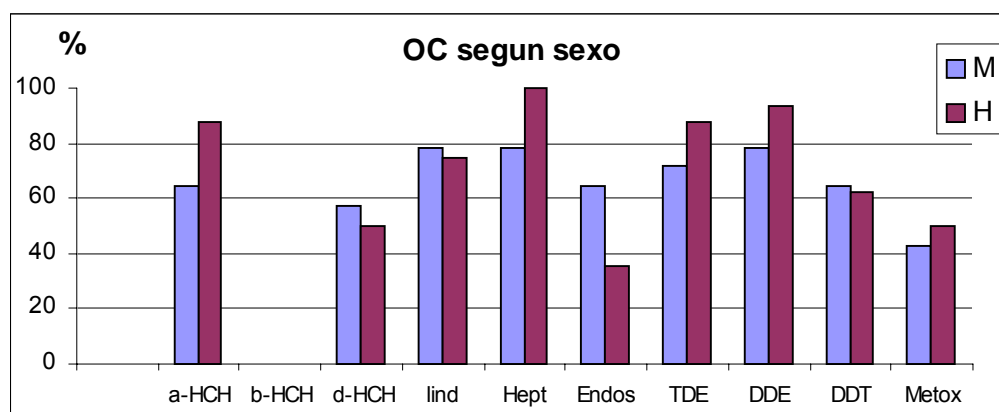


Figura 35. Porcentaje de aparición de los plaguicidas en machos y hembras de barbos capturados en agosto de 1997.

Compuesto	Machos (%)	Hembras (%)
α -HCH	64,29	87,5
β -HCH	0	0
δ -HCH	57,14	50
Lindano	78,57	75
Heptacloro	78,57	100
Endosulfan	64,29	35,71
DDD	71,43	87,5
DDE	75,68	93,93
DDT	64,29	62,5
Metoxicloro	42,86	50

Tabla 110. Porcentaje de aparición de plaguicidas organoclorados en machos y hembras de barbos muestreados en agosto de 1997.

En este estudio descriptivo, hemos reflejado sólo los niveles de DDE encontrados en músculo diferenciando los valores por sexo para ver si existen diferencias.

	DDE (ppb)	peso (g)	longitud (cm)	altura (cm)	n machos
Promedio	8,21	542,37	32,76	7,07	37
Desvest	6,04	208,14	5,10	1,20	
rango	nd-31,35				
	DDE (ppb)	peso (g)	longitud (cm)	altura (cm)	n hembras
Promedio	7,97	527,57	32,62	6,87	33
Desvest	8,05	150,75	3,80	1,05	
rango	nd-25,39				

Tabla 111. Estudio descriptivo de datos biométricos y niveles de DDE separados por sexo de todos los peces capturados en el ambos ríos.

Como no existieron diferencias significativas en los niveles de DDE muscular en peces de diferentes ríos, nosotros hemos agrupado todos los peces y le hemos aplicado un test no paramétrico para ver si existen diferencias significativas de los niveles de DDE muscular entre sexos de los barbos.

Rangos

DDE-MÚSCULO	SEXO	N	Rango promedio	Suma de rangos
	machos	37	33,81	1251,00
	hembras	33	37,39	1234,00
	Total	70		

Estadísticos de contraste	DDE-MÚSCULO
U de Mann-Whitney	548,000
W de Wilcoxon	1251,000
Z	-,737
Sig. asintót. (bilateral)	,461

a Variable de agrupación: SEXO

Tabla 112. Estudio estadístico de niveles de DDE entre diferentes sexos.

El test aplicado confirma que no existen diferencias significativas entre los niveles de DDE en el músculo de los barbos y el sexo de los mismos.

Si separamos los peces de cada uno de los ríos, para ver la diferencia que pueda existir de los niveles de DDE, con respecto al sexo, podemos apreciar que sigue sin haber diferencias significativas y las medias son muy parecidas.

TAJO machos, n = 18						
	peso (g)	longitud (cm)	altura (cm)	peso gónada (g)	IG	DDE (ppb)
Promedio	651,76	35,39	7,74	4,71	0,82	11,88
Desvest	161,80	4,23	0,80	2,92	0,76	8,30
TIETAR machos, n = 11						
	peso (g)	longitud (cm)	altura (cm)	peso gónada (g)	IG	DDE (ppb)
Promedio	373,03	28,80	6,04	0,84	0,26	8,12
Desvest	201,75	5,43	1,26	0,62	0,20	5,91
Tabla 113. Niveles de DDE en machos de barbos capturados en Tajo y Tiétar						

TAJO hembras, n = 13						
	peso (g)	longitud (cm)	altura (cm)	peso gónada (g)	IG	DDE (ppb)
Promedio	622,16	34,28	7,72	22,80	4,13	13,97
Desvest	156,72	3,97	0,85	25,79	4,62	13,49
TIETAR hembras, n = 17						
	peso (g)	longitud (cm)	altura (cm)	peso gónada (g)	IG	DDE (ppb)
Promedio	446,92	31,26	6,32	2,39	0,52	7,19
Desvest	105,78	3,20	0,79	2,73	0,46	4,78
Tabla 114. Niveles de DDE en hembras de barbos capturados en Tajo y Tiétar						

Generalmente, la variable sexo no se encuentra como una de las variables que puedan afectar significativamente la carga de organoclorados en peces, por lo que nuestro estudio está en la línea de lo encontrado de forma general.

E.- Relación entre los niveles de DDE en músculo de barbos y los hallados en agua

Existe una relación cualitativa entre los plaguicidas encontrados en agua y los encontrados en músculo de los peces.

Durante septiembre de 1996 hasta mayo de 1997, el único plaguicida encontrado en aguas fue el lindano. En la musculatura de peces, el único plaguicida encontrado fue el DDE en los muestreos de julio de 1996 y abril de 1997.

A partir de mayo de 1997, aparecen todos los plaguicidas estudiados en agua en concentraciones más o menos variables, pero se detecta su presencia. En el muestreo de peces realizado en agosto de 1997, empiezan a detectarse en mayor o menor medida cantidades del resto de plaguicidas organoclorados, al igual que sucedió en agua.

2.1.10.-DDD

El DDD es un metabolito del DDT, que tiene su presencia en el medio ambiente a causa de la degradación de este último.

En los peces, sólo se detectó en el muestreo realizado en agosto de 1997. La concentración en peces del río Tiétar fue mayor ($3,69 \pm 2,23$ ng/g) que en los del río Tajo ($1,49 \pm 1,64$ ng/g). La frecuencia de presentación fue también diferente, ya que en los barbos del río Tiétar se detectó en el 100% de las muestras, mientras que en los barbos del río Tajo se detectó tan solo en el 50%.

Baluja *et al.* (1973) determinaron los niveles de DDD en músculo de mielga (*Squalus acanthias* y *S. blainwillei*), midiendo concentraciones de $0,35$ µg/g en los ejemplares capturados en la zona costera del Mediterráneo y $0,01$ µg/g en la zona costera del Atlántico, evidenciando una contaminación mayor en la zona costera del Mediterráneo.

Eisenberg y Topping (1985) realizaron un estudio de los niveles de DDD en tejido muscular de peces de estuario (*Morone saxatilis*, *Anguilla rostrata*, *Sebastes marinus*) durante el periodo de tiempo comprendido entre 1976 y 1980, con el objeto de monitorizar los contaminantes que llegaban a la Bahía de Chesapeake, en Maryland (USA). Los niveles medios quedan reflejados en la siguiente tabla, de la que se deduce que la contaminación no parece que aumentó o disminuyó, si no que más bien permaneció constante:

Plaguicida	1976	1977	1978	1979	1980
DDD	0,04	0,02	0,06	0,02	0,03

Tabla 115. Evolución del contenido de DDD (ng/g) tejido fresco en peces capturados en ríos de la Bahía de Chesapeake.

Ford y Hill (1991) estudiaron la biomagnificación de plaguicidas organoclorados a través de una cadena trófica de peces en el Parque Nacional de Yazoo (Mississippi). Como consumidores secundarios se escogió al *Gambusia affinis* y *Cyprinus carpio*, mientras que como consumidores terciarios se escogió el *Lepisosteus oculatus*. Como se puede observar en la tabla, los organismos situados en niveles tróficos superiores biomagnifican el DDD, como ocurre con el DDT o DDE.

Especie	DDD
<i>Gambusia affinis</i>	0,17
<i>Cyprinus carpio</i>	1,52
<i>Lepisosteus oculatus</i>	3,15

Tabla 116. Niveles de DDD (µg/g) en peces del Parque Nacional de Yazoo (Mississippi).

Menone *et al.* (2000) encontraron niveles de DDD de $0,22\pm 0,04$ ng/g en el pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) capturados de lagos de la costa del Mar Chiquita (Argentina).

Shailaja y Singbal (1994) realizaron un estudio de los niveles de DDD contenidos en músculo de peces de la Bahía de Bengal (India) en la que desembocan ríos que arrastran contaminantes de zonas agrícolas y zonas de control de malaria. Los niveles medios fueron de 1,15 ng/g en el pez *Upeneus spp* y de 3,88 ng/g en el pez *Nemipterus japonicus*. Valores que son muy parecidos a los encontrados por nosotros en barbos del P. N. de Monfragüe.

Según Hamilton (1989) los niveles encontrados en varias especies de peces del mar de Arabia (India) no alcanzan los 5 $\mu\text{g/g}$ aceptados como peligrosos para la salud humana, según la FDA (1978). Así, la concentración de DDD en tejido muscular de las diferentes especies. Para *Sardinella longiceps*, *Tylosurus spp*, *Coryphaena hippurus*, *Loligo spp*, *Apolectus Níger* y *Pampus argenteus* no se detectaron niveles de DDD (nd), mientras que para *Sardinella fimbriata* se encontraron $23,9\pm 4,9$ ng/g.

2.1.11.-DDTS

La bibliografía consultada suele estudiar la contaminación del grupo del ΣDDT , entendido como la suma del p,p'-DDT, p,p'-DDD y p,p'-DDE, principalmente. Por esta razón nosotros también mostramos los niveles en orden a comparar con otros estudios realizados en España y otros países.

En nuestro estudio, sólo haremos mención al muestreo realizado en agosto de 1997, por ser el único muestreo en el que se encontraron residuos de DDD y de DDT en la musculatura de los peces.

La concentración media de ΣDDT fue de $14,69\pm 7,78$ ng/g en la musculatura de los peces muestreados y se encontró en el 95,65% de las muestras determinadas. Si desglosamos por ríos, el río Tajo presentó una concentración media de $11,88\pm 8,17$ ng/g y en el río Tiétar se detectaron concentraciones medias de $16,85\pm 6,86$ ng/g, ligeramente superiores a la concentración media detectada en peces del río Tajo.

Fernández *et al.* (1984) determinaron los niveles de organoclorados en diversas especies de peces capturados en el Parque Nacional de Doñana. El estudio llevado a cabo en el año 1980, mostraron niveles de ΣDDT en anguila de 0,128 y 0,391 $\mu\text{g/g}$ en dos localizaciones distintas y en la carpa común fueron de 0,066 y 0,130 $\mu\text{g/g}$, valores muy superiores a los encontrados por nosotros.

Carrasco *et al.* (1972) midieron concentraciones medias de ΣDDT de 6,6 ng/g en la carpa común (*Cyprinus carpio*) y 15,7 ng/g en el blackbass (*Micropterus salmoides*) en tejido muscular de peces de la Albufera de Valencia (España).

Baluja *et al.* (1973) determinaron la acumulación del DDT y sus metabolitos en músculo de la mielga (*Squalus acanthias* y *S. blainvillei*) y sardina (*Sardina pilchardus*), en zonas costeras del Mediterráneo y Atlántico (España) durante los años 1968-1970:

Lugar	Especie	Total DDT
Mediterráneo	Sardina	0,011-0,48
	mielga	0,76-1,01
Atlántico	Sardina	<0,005-0,084
	mielga	nd-0,095

Tabla 117. Niveles de Σ DDT ($\mu\text{g/g}$) en sardina y mielga de las costas del Mediterráneo y Atlántico.

Resultado de un estudio realizado por Fernández y Franco (1979) en peces capturados en las costas gallegas fue que los niveles de Σ DDT en el músculo del jurel (*Trachurus trachurus*) estuvieron comprendidos entre 12,7-141,6 ng/g, mientras que la bacaladilla (*Micromesistius poutassous*) contenía niveles entre nd-450 ng/g.

López *et al.* (1995) analizaron muestras de pez (*Cyprinus carpio*, *Ictalurus melas*, *Micropterus salmoides*, *Salmo trutta*, *Anguilla anguilla*, *Gobio gobio*) en diversos ríos de Cataluña. Estos autores encontraron niveles medios de 0,081(0,003-1) $\mu\text{g/g}$ de Σ DDT .

Saiki y Schmitt (1986) encontraron concentraciones de Σ DDT (p,p'-DDD + p,p'-DDE + p,p'-DDT) en *Cyprinus carpio* capturados en el río San Joaquín (California) entre 1,43 y 2,21 $\mu\text{g/g}$ de tejido fresco.

Devault *et al.* (1986) monitorizaron la contaminación por plaguicidas organoclorados en la trucha lacustre (*Salvelinus namaycush*) de los Grandes Lagos, encontrando que los niveles del Σ DDT disminuían de 19,19 $\mu\text{g/kg}$ en 1970 hasta 2,74 $\mu\text{g/kg}$ en 1982.

Dogheim *et al.* (1990) encontraron que las muestras de tejido muscular de los peces tilapia (*Tilapia noltica*) y pez gato (*Clarus lazaro*) capturados en dos comunidades de Egipto estaban contaminadas con niveles relativamente bajos de 15 plaguicidas analizados. El Σ DDT fue de 0,38 y de 0,40 ppm en las comunidades de Beni-Suef y Fayoum respectivamente.

Menone *et al.* (2000) midieron concentraciones de $1,67 \pm 0,61$ ng/g de Σ DDT en el pez pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) capturados de lagos de la costa del Mar Chiquita (Argentina).

Shailaja y Singbal (1994) realizaron un estudio de los niveles de DDT y derivados contenidos en músculo de peces de la Bahía de Bengal (India) en la que desembocan ríos que arrastran contaminantes de zonas agrícolas y zonas de control de malaria. Los niveles medios fueron de 2,43 ng/g de Σ -DDT en el pez *Upeneus spp* y de 19,9 ng/g en el pez *Nemipterus japonicus*.

Según Hamilton (1989) los niveles encontrados en varias especies de peces del mar de Arabia (India) no alcanzan los 5 μ g/g aceptados como peligrosos para la salud humana, según la FDA (1978). Así, la concentración de Σ DDT en tejido muscular de las diferentes especies se encuentra reflejado en la siguiente tabla:

Pez	Σ DDT
<i>Sardinella longiceps</i>	19,7
<i>Apolectus Níger</i>	Nd
<i>Sardinella fimbriata</i>	54,3
<i>Pampus argenteus</i>	8,1
<i>Tylosurus spp</i>	41,4
<i>Coryphaena hippurus</i>	32
<i>Loligo spp</i>	Nd

Tabla 118. Niveles de Σ DDT (ng/g) detectados en peces del mar de Arabia (India)

Eichner (1973), determinó la concentración de varios plaguicidas organoclorados en músculo de varias especies de peces (bagre blanco, *Ameiurus catus*; la perca, *Perca flacescens* y la anguila, *Anguilla anguilla*) recogidos en el lago Constance, y de algunos afluentes del río Rhin (Alemania). Los peces recogidos en el lago Constance contenían 0,06-0,59 μ g/g de Σ DDT. La concentración en músculo del pez rutilo (*Rutilus rutilus*) y la trucha (*Salmo gairdneri*) capturados en los afluentes del Rhin fue de 0,03-0,48 μ g/g de Σ DDT.

Särkka *et al.* (1978) encontraron un contenido medio del Σ DDT (DDE+DDD+DDT) en peces del lago Páijánne (Finlandia) de 7-42 ng/g. Existían claras diferencias entre las distintas especies y su contenido en el Σ DDT, siendo éste superior en el pez coregano.

La concentración media de Σ DDT varió entre 11,9 y 22,3 ng/g en el salmonete (*Mullus barbatus*) en varios puntos de la costa griega (Giouranovits-Psyllidou *et al.*, 1994).

Brevik *et al.* (1996) analizaron los niveles de Σ DDT en tejido muscular de la perca (*Perca fluviatilis*) y lucio (*Esox lucius*) del lago Orsjöen (Noruega). Los niveles de Σ DDT fueron de 1,15 ng/g en la perca y 7,3 ng/g en el lucio.

Amodio-Cocchieri y Arnese (1988) analizaron el contenido de varios organoclorados en tejido muscular de varios peces de diferentes ríos del sur de Italia. La carpa común (*Cyprinus carpio*) y la Tenca (*Tinca tinca*) fueron los que menos acumularon residuos de organoclorados, como se puede observar en la siguiente tabla:

Pez	ΣDDT
Carpa	18-51
Tenca	17-42
Anguila	84-136
Pez gato	50-113

Tabla 119. Niveles de ΣDDT (ng/g) en peces de ríos del sur de Italia

Los valores encontrados en nuestro estudio están en sintonía con los valores que se citan en la bibliografía, si bien, comparativamente hablando, nosotros detectamos concentraciones más bajas.

2.1.12.-Metoxicloro

El metoxicloro solo apareció en el muestreo realizado en agosto de 1997, como el resto de los plaguicidas, excepto el DDE. Sucede de nuevo, que la concentración media muscular en peces del Tiétar es mayor ($1,96 \pm 1,98$ ng/g) que en la encontrada en peces del Tajo ($0,19 \pm 0,56$ ng/g).

Así mismo el metoxicloro se detectó en mayor frecuencia (75%) en los peces del Tiétar que en los del Tajo (10%).

En la bibliografía no hemos encontrado autores que midan niveles de metoxicloro en músculo de peces. La mayoría de los autores miden una batería de plaguicidas organoclorados, pero ninguno detecta niveles de metoxicloro, por lo que no podemos comparar. Un estudio de los niveles de metoxicloro realizado sobre 750 especies de peces recogidos en 11 lagos importantes y varios ríos de Alberta (Canadá) mostraron que el metoxicloro sí era habitual en el pez *Hiodon alosoides* del río North Saskatchewan pero no se detectó en ningún otro pez muestreado (Chovelon et al., 1984).

El factor de bioconcentración del metoxicloro en las carpitas cabezonas (*Pimephales promelas*) fue de 12.000, en almeja fue de 5.000 y en el molusco *Physa integra* fue de 8.750, lo que hace que el metoxicloro sea un plaguicida con elevado poder de bioconcentración en el medio acuático (Veith et al., 1979).

En el caso de acumular niveles de metoxicloro, la mayoría de los estudios coinciden en afirmar que el metabolismo del metoxicloro es rápido y desaparece

pronto a través de las heces y orina, por lo que no es fácil encontrarlo acumulado en tejidos grasos.

3.-NIVELES DE METALES PESADOS DISUELTOS EN AGUAS DEL P. N. DE MONFRAGÜE.

3.1.-Niveles de Zn

En la siguiente tabla se muestran los valores de Zn disuelto en los cinco puntos de muestreo realizados en el periodo que comprende este estudio:

	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	ago
Tajo 1	8,21	9,87	2,06	3,09	8,64	5,91	3,34	4,72	6,92	3,35	5,72	*
Tajo 2	8,84	6,5	2,71	2,34	6,68	3,88	3,03	4,24	5,38	3,92	2,82	8,56
Tiétar 1	7,7	14,18	3,44	4,4	8,08	2,84	5,16	3,72	12	4,05	3,73	*
Tiétar 2	10,83	12,34	4,15	6,31	5,76	4,19	2,71	5,15	5,53	3,03	9,46	2,19
Tajo 3	11,24	9,88	3,6	3,89	8,76	4,31	3,68	3,9	4,26	6,47	7,38	*

Tabla 122 . Niveles de Zn disuelto ($\mu\text{g/L}$) en agua superficial de los ríos Tajo y Tiétar

* valores no determinados.

Como se puede apreciar, los niveles de Zn disuelto son relativamente bajos y más o menos constantes a lo largo del año. El valor máximo se obtuvo en el Tiétar 1, en octubre de 1996 y el valor mínimo se produjo en noviembre de 1996, en el punto Tajo 1.

Las concentraciones medias (a lo largo del año de estudio) de Zn en cada punto de muestreo fueron las que se expresan en la siguiente tabla:

	Tajo1	Tajo2	Tiétar 1	Tiétar 2	Tajo3
Promedio	5,62 \pm 2,57	4,91 \pm 2,27	6,30 \pm 3,78	5,97 \pm 3,27	6,12 \pm 2,79

Tabla 123. Niveles medios de Zn ($\mu\text{g/L}$) en cada uno de los puntos de muestreo

Prácticamente no existen diferencias entre los valores medios encontrados en cada punto de muestreo y es comprensible afirmar, por consiguiente, que no existen diferencias en los niveles de Zn entre cada río. Así la concentración media de Zn en las aguas de los ríos Tajo y Tiétar, a su curso por el P. N. de Monfragüe fue de:

	Tajo	Tiétar	Tajo final
Promedio	5,25 \pm 2,39	6,13 \pm 3,45	6,12 \pm 2,79

Tabla 124. Promedio de Zn ($\mu\text{g/L}$) disuelto en aguas de los ríos del P. N. de Monfragüe

Evolución temporal

De forma gráfica, la evolución temporal de los niveles de Zn en cada uno de los puntos fue la siguiente:

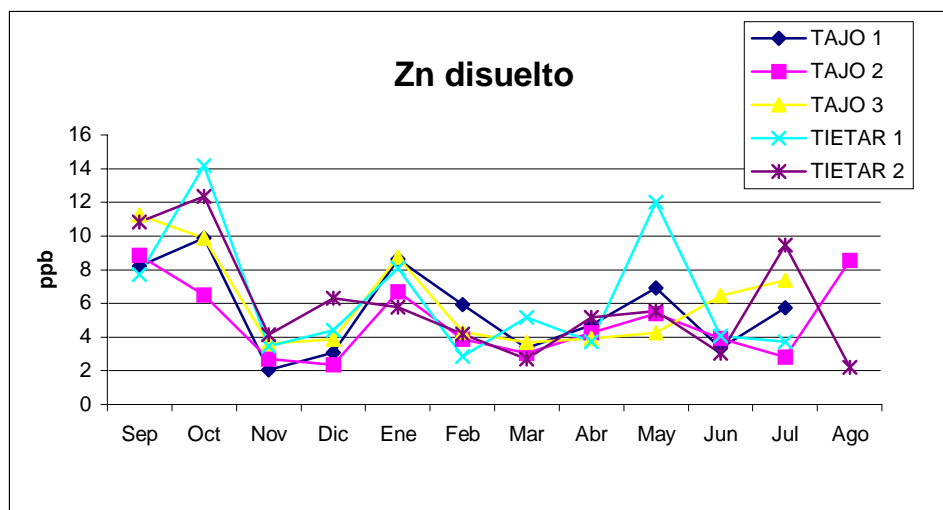


Figura 36. Evolución temporal de los niveles de Zn disuelto en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe.

En este gráfico podemos observar cómo los niveles se mantienen más o menos constantes, pero existen 3 picos de aumento de niveles, situados en meses como septiembre-octubre, enero y en mayo, mientras que los niveles más bajos están en noviembre-diciembre y en marzo-abril. No obstante las desviaciones con respecto a los valores medios son mínimas.

La concentración media de Zn disuelto en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe fue de $5,77 \pm 2,91$ $\mu\text{g/L}$.

3.2.-Niveles de Cd

Los niveles de Cd disuelto en agua son menores que los niveles de Zn, pero mucho más variables:

	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	ago
Tajo1	8,94	63,64	10,57	40,68	62,91	12,50	51,60	29,97	16,27	24,08	11,50	21,46
Tajo2	94,78	41,60	13,58	52,88	12,97	16,50	4,96	18,41	43,38	36,94	15,10	26,83
Tiétar1	24,88	37,49	25,05	13,65	45,85	10,67	44,44	46,89	209,52	7,13	15,21	13,68
Tiétar2	82,41	110,03	13,12	52,86	70,27	16,81	44,37	29,30	51,06	3,03	19,95	34,68
Tajo3	42,97	9,02	14,82	21,19	52,29	26,03	50,15	140,51	51,13	28,98	25,45	33,07

Tabla 125 . Niveles de Cd disuelto (ng/L) en agua superficial de los ríos Tajo y Tiétar.

Ninguno de los puntos de muestreo coincidió en sus niveles máximos o mínimos. En el punto de muestreo del Tajo 1 el valor máximo se midió en octubre, en Tajo 2 en septiembre, en Tiétar 1 en mayo de 1997, en Tiétar 2 ocurrió en octubre de 1996 y en Tajo 3 fue en abril de 1997. Tampoco ocurrió lo mismo con los valores mínimos, por lo que la medición de los valores de Cd en agua está sometida a muchas variables, que al no ser objeto de este estudio, no entraremos a valorar.

Aunque los valores fueron fluctuantes, lo que más llama la atención es el aumento importante que se produjo en mayo de 1997 en el punto Tiétar 1 y su posterior disminución en junio de 1997. Otras subidas destacables se produjeron en Tiétar 2, en octubre de 1996 y en Tajo 3 en abril de 1997.

La concentración media de los niveles de Cd disuelto en cada uno de los puntos de muestreo está reflejado en la siguiente tabla:

	Tajo 1	Tajo 2	Tiétar 1	Tiétar 2	Tajo 3
Promedio	29,51±20,36	31,49±24,84	41,2±54,95	43,99±31,49	41,3±34,37

Tabla 126. Niveles medios de Cd (ng/L) en cada uno de los puntos de muestreo

Evolución temporal

El siguiente gráfico nos muestra la evolución de los niveles de Cd en cada uno de los puntos:

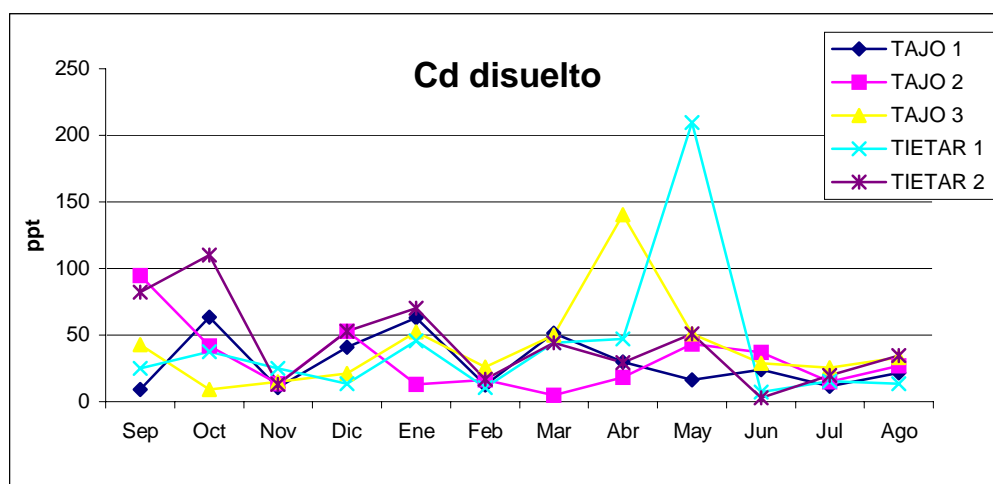


Figura 37. Evolución de los niveles de Cd en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe.

En este gráfico podemos observar cómo los niveles mayores están en meses como septiembre-octubre, enero y en mayo, mientras que los niveles más bajos están en noviembre, febrero y en los meses estivales. Esta evolución es similar a los niveles de Zn a lo largo del año en aguas superficiales, por lo que hace pensar que los niveles parecen estar influenciados de la misma forma que el Zn.

Las cifras globales muestran cómo los niveles en los puntos de muestreo son muy parecidos, no encontrándose diferencias significativas.

	Tajo	Tiétar	Tajo final
Promedio	30,5 ± 22,24	42,6 ± 43,82	41,3 ± 34,37

Tabla 127. Promedio de Cd (ng/L) disuelto en aguas de los ríos del P. N. de Monfragüe.

Viendo esta tabla, podemos afirmar que la carga de Cd en agua superficial del río Tiétar es algo mayor que la del Tajo, que al recibir las aguas del Tiétar se ve enriquecido.

La concentración media de Cd disuelto en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe fue de **37,5 ± 34,57 ng/L**.

3.3.-Niveles de Pb

Los niveles de Pb disuelto fueron superiores a los niveles de Cd, pero inferiores a los niveles de Zn. La concentración en agua fue más o menos constante y no fluctuó de forma ostensible:

	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	ago
Tajo 1	0,94	1,17	0,79	3,34	2,26	1,65	1,00	0,90	0,92	1,71	2,11	2,61
Tajo 2	1,12	1,14	1,02	1,63	3,54	1,50	0,85	1,72	1,74	1,74	2,65	2,12
Tiétar 1	1,34	1,86	1,84	2,36	2,88	1,03	1,16	1,50	6,40	3,04	3,82	2,78
Tiétar 2	0,98	1,13	3,63	2,21	2,98	1,27	1,23	1,03	1,69	3,76	2,91	2,60
Tajo 3	1,55	1,00	2,18	2,00	2,50	1,97	0,98	1,41	2,46	4,83	1,38	2,72

Tabla 128. Niveles de Pb disuelto (µg/L) en agua superficial de los ríos Tajo y Tiétar

Como se puede apreciar en la tabla, los valores fueron más o menos parecidos en diferentes meses y en los distintos puntos de muestreo y la diferencia entre valores máximos y mínimos no son exageradas.

El valor máximo se midió en el punto Tiétar 1, en mayo de 1997 y el valor mínimo se midió en el Tajo 1, en noviembre de 1996.

Lo más destacable de los valores de Pb fue el incremento que se produjo en mayo en el punto Tiétar 1, que si lo comparamos con el resto de valores, resultó ser una subida muy alta.

La concentración media de Pb disuelto en cada uno de los puntos fue:

	Tajo 1	Tajo 2	Tiétar 1	Tiétar 2	Tajo 3
Promedio	1,61 ± 0,82	1,73 ± 0,76	2,50 ± 1,50	2,12 ± 1,03	2,08 ± 1,04

Tabla 129. Niveles medios de Pb (µg/L) en cada uno de los puntos de muestreo

Evolución temporal

El gráfico nos muestra la evolución temporal de los niveles de Pb en cada uno de los puntos:

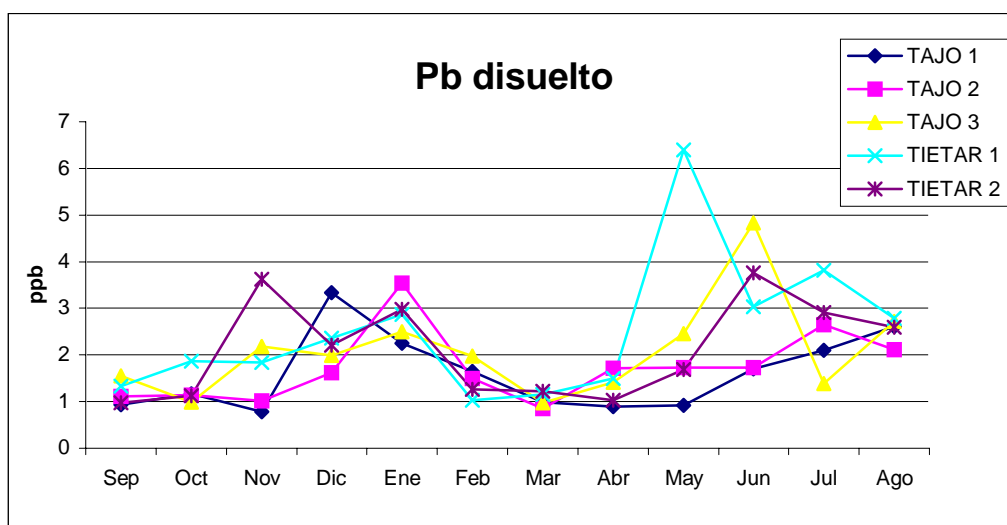


Figura 38. Evolución temporal de los niveles de Pb disuelto en aguas del P. N. de Monfragüe.

En este gráfico podemos observar cómo los niveles mayores ocurrieron en meses como diciembre, enero y en mayo-junio, mientras que los niveles más bajos se midieron en septiembre y febrero-abril.

Las cifras globales muestran que los niveles en ambos ríos son muy parecidos, si bien el Tiétar parece que posee niveles algo mayores, pero las diferencias siguen siendo no significativas.

	Tajo	Tiétar	Tajo final
Promedio	1,67 ± 0,77	2,08 ± 1,04	2,31 ± 1,27

Tabla 130. Niveles medios de Pb ($\mu\text{g/L}$) disuelto en aguas de los ríos del P. N. de Monfragüe.

La concentración media de Pb disuelto en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe fue de **2,01 ± 1,07** $\mu\text{g/L}$.

3.4.-Niveles de Cu

Los niveles de Cu, al igual que ocurrió con el Pb y el Zn se mantuvieron en una constancia, no existiendo gran diversidad en los datos ni diferencias exageradas entre máximos y mínimos. En la siguiente tabla están reflejados estos valores:

	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	ago
Tajo 1	2,17	1,01	2,01	2,23	3,89	2,08	1,64	1,01	2,53	2,86	1,03	0,88
Tajo 2	1,14	0,77	1,46	1,78	2,52	1,59	1,62	1,05	0,79	1,16	1,19	1,04
Tiétar 1	2,55	1,30	2,70	1,39	3,44	0,88	1,47	1,33	2,80	1,77	1,78	2,79
Tiétar 2	1,48	0,94	1,26	2,32	2,36	2,38	1,24	1,23	0,95	1,42	0,36	1,10
Tajo 3	0,85	0,36	1,35	8,29	2,13	1,97	1,65	1,39	1,79	1,24	2,02	1,42

Tabla 131. Niveles de Cu disuelto ($\mu\text{g/L}$) en agua superficial de los ríos Tajo y Tiétar

La concentración máxima se midió en el punto Tajo 3, en diciembre de 1996 y la concentración mínima se midió en el Tajo 3 también, en octubre de 1996. Lo más destacable de los valores fue también la subida de la concentración de Cu que se produjo en diciembre de 1996.

La concentración media de Cu disuelto en cada uno de los puntos de muestreo muestra que no existen grandes diferencias entre los puntos de la toma de muestras:

	Tajo1	Tajo2	Tiétar 1	Tiétar 2	Tajo3
Promedio	1,94 ± 0,90	1,34 ± 0,49	2,02 ± 0,80	1,42 ± 0,63	2,04 ± 2,03

Tabla 132. Niveles medios de Pb ($\mu\text{g/L}$) en cada uno de los puntos de muestreo

Evolución temporal

El siguiente gráfico nos muestra la evolución temporal de los niveles de Cu en cada uno de los puntos:

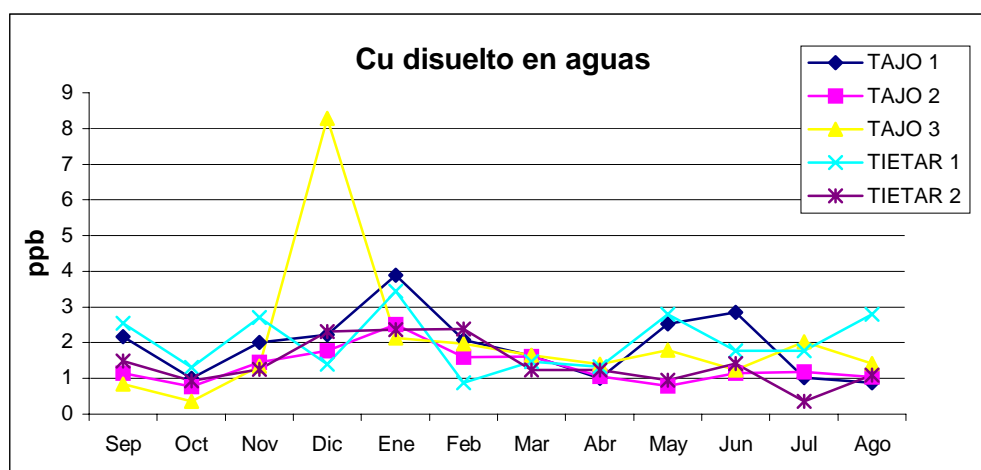


Figura 39. Niveles temporales de Cu disuelto en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe.

En este gráfico podemos observar cómo los niveles mayores están en meses como enero y en mayo-junio, mientras que los niveles más bajos están en octubre y en los meses estivales. Destaca también la subida que se produjo en diciembre de 1996 en el punto de muestreo Tajo 3.

Las cifras globales son muy parecidas entre los distintos puntos de muestreo.

	Tajo	Tiétar	Tajo final
Promedio	1,64 ± 0,77	1,72 ± 0,77	2,04 ± 2,03

Tabla 133. Niveles medios de Cu ($\mu\text{g/L}$) disuelto en ríos del P. N. de Monfragüe

La concentración media de Cu disuelto en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe fue de $1,75 \pm 1,12 \mu\text{g/L}$.

4.-NIVELES DE METALES PESADOS TOTALES EN AGUAS DEL P. N. DE MONFRAGÜE.

Los metales pesados totales se definen como la cantidad de metales pesados que existen disueltos y adsorbidos en la materia en suspensión en el agua superficial.

Esta distribución de los metales pesados también tienen su importancia ya que pueden ser biodisponibles para los peces en su proceso de respiración branquial. Existe un estudio científico en el que se concluye que aquellas partículas <63 µm que llevan incorporadas cantidades de metales pesados también pueden ser absorbidas por las branquias vehiculando así los metales pesados (Deacon y Driver, 1999).

Esto nos llevó a la posibilidad de determinar metales pesados totales, que nos aportan idea de cuál es la cantidad de metales pesados que existe en el ambiente que rodea al pez, en las aguas superficiales.

Los puntos de muestreo fueron exactamente los mismos que en caso de aguas superficiales y los valores se van a reflejar en las diferentes tablas.

4.1.-Niveles de Zn

Los valores de Zn son superiores a los hallados en agua filtrada. Sin embargo, la concentración media sigue siendo un valor bajo de concentración de Zn. Las variaciones entre los valores hallados son más notables que en el caso de Zn disuelto. Los valores oscilaron entre el mínimo en marzo de 1997 (6,37 ppb) y el máximo en agosto (55,0 ppb).

	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	ago
Tajo 1	13,07	24,83	38,06	16,47	18,53	27,51	14,20	13,30	16,28	12,96	14,19	48,42
Tajo 2	15,42	29,57	10,97	8,15	14,46	25,83	31,83	10,4	29,95	10,98	11,83	12,12
Tiétar 1	23,05	26,95	27,02	26,25	15,94	16,18	20,93	40,22	43,60	23,50	12,08	*
Tiétar 2	18,95	*	8,7	9,98	34,83	23,93	6,37	13,35	16,85	11,18	10,54	13,9
Tajo 3	54,18	30,87	21,09	9,42	16,25	16,18	9,92	21,10	11,64	53,11	14,60	55,00

Tabla 134. Niveles de Zn total (µg/L) en aguas de los ríos Tajo y Tiétar.

* Valor no determinado

La variabilidad en los datos de concentración de Zn total fue característico. Por ejemplo, en Tajo 1, los valores oscilaron entre 12,92 hasta 48,42 ppb, en Tajo 2 variaron desde 8,15 hasta 29,95 ppb, por lo que en cada muestreo podemos ver incrementos de hasta 4 veces superiores entre sí.

La concentración media de Zn total en cada uno de los puntos fue muy parecida. En la entrada al Parque Natural, es decir, los puntos de Tajo 1 y Tiétar 1 los

valores de Zn fueron mayores, mientras que disminuyeron en los puntos de muestreo en el centro del Parque Natural (Tajo 2 y Tiétar 2).

	Tajo 1	Tajo 2	Tiétar 1	Tiétar 2	Tajo 3
Promedio	21,48±1,38	17,63±8,91	25,07±9,68	15,33±8,18	26,11± 17,84

Tabla 135. Niveles medios de Zn total ($\mu\text{g/L}$) en cada uno de los puntos de muestreo

Niveles temporales

Los valores se mantuvieron oscilantes, excepto algunas elevaciones puntuales que no coinciden entre ríos.

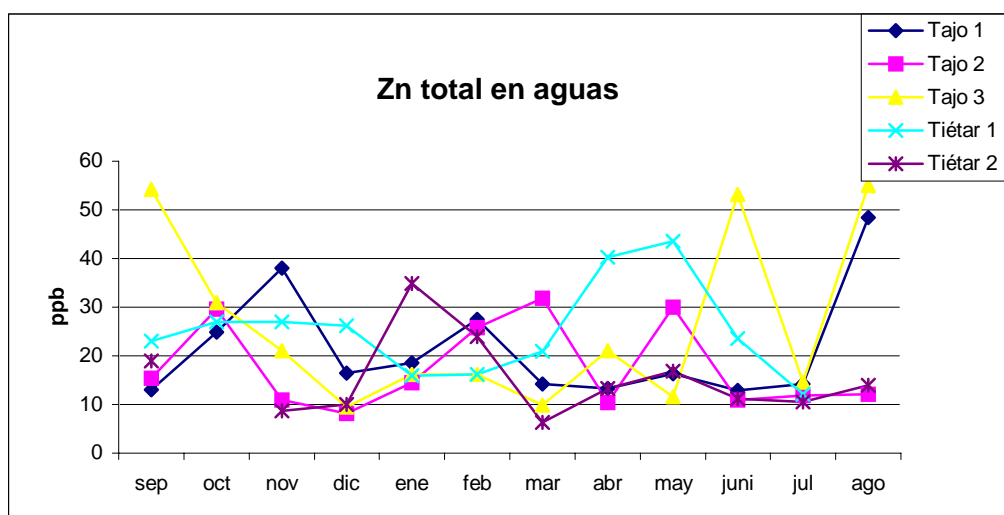


Figura 40. Evolución de los niveles de Zn total en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe.

En el caso de Tajo 1 los valores más bajos se midieron en la primavera y en agosto se produjo una subida importante. Al contrario sucedió con Tiétar 1 en el que a partir de marzo de 1997 ascendieron los niveles, siendo los valores más elevados en primavera y a partir de junio disminuyeron de nuevo. Los valores de Zn total en Tajo 2 y Tiétar 2 se mantuvieron más o menos parecidos, oscilantes y sin ningún aumento importante. En el caso de Tajo 3 los niveles disminuyeron en invierno y primavera y aumentaron a partir de mayo, aunque en julio volvió a disminuir drásticamente.

A la vista de esta evolución, no parece que exista un comportamiento predecible de la concentración de Zn total y estará sujeta a muchos factores que influyen de forma distinta.

Si hacemos el promedio de los dos puntos de muestreo en el río Tajo y Tiétar a lo largo del estudio, los niveles de Zn fueron:

	Río Tajo	Río Tiétar	Tajo final
Media	19,56 ± 10,19	20,20 ± 10,06	26,11 ± 17,84

Tabla 136. Niveles medios de Zn total (µg/L) en ríos del P. N. de Monfragüe

Los niveles entre el río Tajo y el río Tiétar son muy parecidos. El Tajo, cuando ya ha recibido las aguas del río Tiétar, aumenta los niveles medios que traía, pero con valores muy próximos entre sí.

La concentración media de Zn total en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe fue de **21,16 ± 12,14** µg/L.

4.2.-Niveles de Cd

Los niveles de Cd total siguieron con la tendencia hacia una variabilidad importante. Los valores fueron mayores que los encontrados en Cd disuelto, como era de esperar.

	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	ago
Tajo1	125,62	200,34	237,63	192,90	235,25	649,50	156,76	383,66	336,68	234,41	364,10	156,79
Tajo2	298,62	95,65	261,98	102,71	223,98	605,36	411,45	261,17	161,40	279,14	194,86	168,65
Tiétar1	229,52	138,72	154,14	192,34	154,28	*	187,74	262,84	391,84	174,91	186,90	*
Tiétar2	365,24	211,18	235,70	292,95	264,71	214,21	207,95	344,18	324,79	167,28	210,19	608,68
Tajo 3	173,99	179,13	173,17	242,42	207,36	*	282,40	636,67	207,38	226,39	268,26	37,34

Tabla 137. Niveles de Cd total (ng/L) en aguas de los ríos Tajo y Tiétar.

* Valores no determinados

La concentración mínima ocurrió en agosto de 1997, en el Tajo 3 y la máxima en febrero de 1997, en el Tajo 1. A pesar de existir valores muy diferentes, la concentración media en cada uno de los puntos de muestreo fue muy parecida, aunque con elevada desviación estándar:

	Tajo1	Tajo2	Tiétar 1	Tiétar 2	Tajo3
Promedio	272,80±144,90	255,41±141,16	207,32±74,57	287,25±118,7	239,50±146,92

Tabla 138. Niveles medios de Cd total (ng/L) en cada uno de los puntos de muestreo

Niveles temporales

Los valores se mantienen más o menos uniformes, excepto algunas elevaciones puntuales que no coinciden entre ríos:

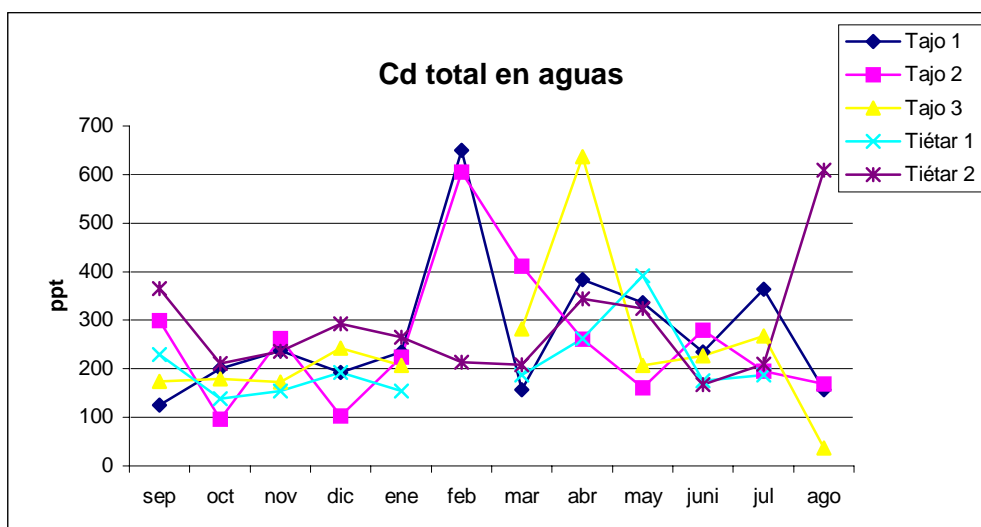


Figura 41. Niveles de Cd total en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe.

En el punto Tajo 1 y Tajo 2 coincidieron sus valores máximos, que fueron en febrero de 1997. En Tiétar 2 ocurrió en agosto y en Tajo 3 en abril.

Si hacemos el promedio de los dos puntos de muestreo en el río Tajo y Tiétar a lo largo del estudio, los niveles de Cd son parecidos entre los dos ríos:

	Río Tajo	Río Tiétar	Tajo final
Media	264,11 ± 140,18	250,92 ± 106,88	239,50 ± 146,92

Tabla 139. Niveles medios de Cd total (ng/L) en ríos del P. N. de Monfragüe

La concentración media de Cd total en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe fue de **254,27 ± 127,66** ng/L.

4.3.-Niveles de Pb

Los niveles de Pb total en aguas del P. N. de Monfragüe están reflejados en la siguiente tabla:

	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	ago
Tajo 1	4,24	3,82	6,01	2,97	5,67	*	5,52	9,23	6,31	5,74	7,03	4,30
Tajo 2	6,67	4,86	7,21	2,40	6,08	6,74	*	3,41	6,56	4,95	3,06	3,42
Tiétar1	6,14	5,13	6,38	3,04	4,34	6,74	4,11	8,03	*	5,58	4,66	*
Tiétar2	7,33	4,70	4,88	5,16	8,57	4,21	3,72	7,66	6,88	5,27	3,96	6,79
Tajo 3	6,96	3,05	6,05	5,97	6,45	6,74	*	7,52	5,49	6,08	7,55	6,11

Tabla 140. Niveles de Pb total ($\mu\text{g/L}$) en aguas de los ríos Tajo y Tiétar.

* Valores no determinados

Los valores de concentración superaron los encontrados en agua filtrada, como Pb soluble. Los valores oscilaron entre el mínimo encontrado en diciembre de 1996 (2,4 ppb) en el Tajo 2 hasta las 9,23 ppb encontradas en abril de 1997 en el Tajo 1, lo que representó un amplio rango y mantuvieron la variabilidad característica de la concentración de metales pesados.

Las concentraciones media en cada punto de muestreo se asemejaron bastante, como ocurrió con el resto de los metales:

	Tajo1	Tajo2	Tiétar 1	Tiétar 2	Tajo3
Promedio	5,53 \pm 1,72	5,03 \pm 1,73	5,41 \pm 1,46	5,76 \pm 1,61	6,18 \pm 1,23

Tabla 141. Niveles medios de Pb total ($\mu\text{g/L}$) en cada uno de los puntos de muestreo

Niveles temporales

Los valores se mantuvieron más o menos uniformes, dentro de unas oscilaciones que parece que ocurrieron en todos los puntos de muestreo.

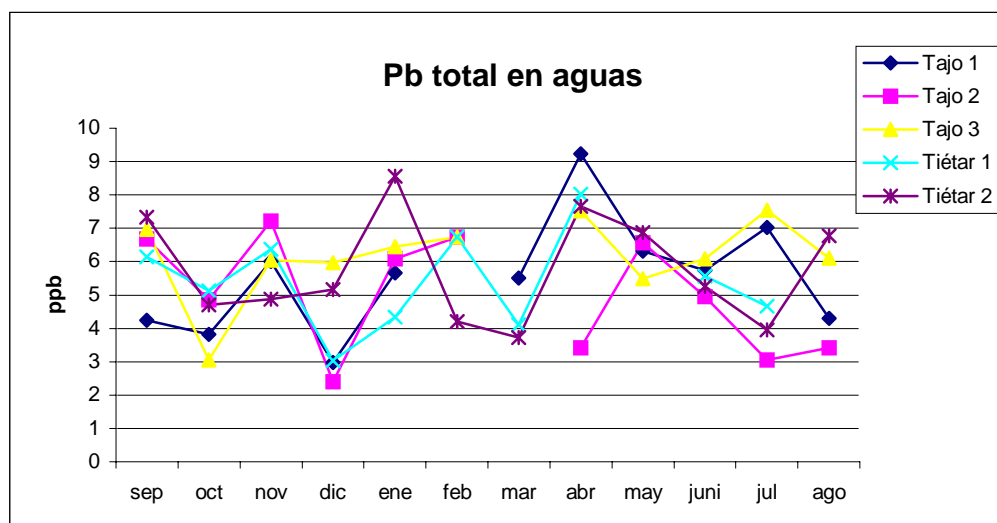


Figura 42. Niveles temporales de Pb total en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe.

El valor medio de la concentración de Pb total en cada río fue muy parecido, como se muestra en la siguiente tabla:

	Río Tajo	Río Tiétar	Tajo final
Media	5,28 ± 1,7	5,60 ± 1,52	6,18 ± 1,23

Tabla 142. Niveles medios de Pb total (µg/L) en ríos del P. N. de Monfragüe

La concentración media de Pb total en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe fue de **5,59 ± 1,55 µg/L**.

4.4.-Niveles de Cu

Los valores de Cu total medido en aguas de Monfragüe fueron ligeramente superiores a los hallados en forma disuelta:

	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	ago
Tajo 1	3,32	1,92	2,12	2,73	2,70	3,48	3,30	3,27	3,98	4,68	3,54	2,74
Tajo 2	2,34	2,32	2,02	1,79	2,54	2,61	2,86	2,20	3,77	2,59	2,31	3,02
Tiétar1	3,10	4,05	3,00	2,14	2,77	2,68	4,57	5,05	8,02	3,00	3,40	*
Tiétar2	1,86	5,42	2,17	2,66	5,12	3,24	3,60	3,54	4,77	3,10	*	2,57
Tajo 3	8,68	1,94	2,55	2,47	3,09	2,68	3,25	3,98	2,49	2,79	2,39	3,73

Tabla 143 . Niveles de Cu total (µg/L) en aguas de los ríos Tajo y Tiétar.

- Valores no determinados

Como se puede observar, los valores fueron muy parecidos entre las distintas tomas. El valor máximo de 8,68 ppb se presentó en septiembre de 1996, en el punto Tajo 3 y el valor mínimo fue de 1,79 ppb en diciembre de 1996, en el punto de Tajo 2. De nuevo, observamos un amplio rango de valores, pero las concentraciones medias en cada uno de los puntos de muestreo no divergen casi nada:

	Tajo1	Tajo2	Tiétar 1	Tiétar 2	Tajo3
Promedio	3,15 ± 0,77	2,53 ± 0,52	3,80 ± 1,65	3,46 ± 1,19	3,34 ± 1,78

Tabla 144. Niveles medios de Cu total ($\mu\text{g/L}$) en cada uno de los puntos de muestreo

Niveles temporales

Los valores se mantienen más o menos uniformes. Este elemento es el que presenta menos oscilaciones en sus valores, y a la vez menos variabilidad. Eso hace que las gráficas de evolución sean parecidas entre unos puntos y otros.

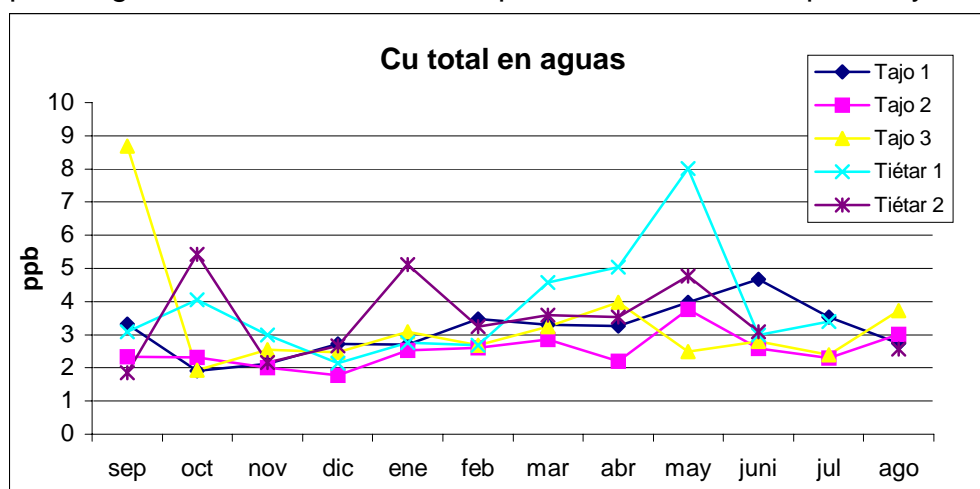


Figura 43. Niveles temporales de Cu total en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe.

Destacan las elevaciones que ocurren en septiembre de 1996 en el Tajo 3 la que se produjo en Tiétar 1 en mayo, así como dos elevaciones ocurridas en Tiétar 2 en octubre de 1996 y enero de 1997.

Si hacemos el promedio de los puntos de muestreo en el río Tajo y Tiétar a lo largo del estudio, los niveles de Cu total fueron:

	Río Tajo	Río Tiétar	Tajo final
Media	2,84 ± 0,71	3,63 ± 1,41	3,34 ± 1,78

Tabla 145. Niveles medios de Cu total ($\mu\text{g/L}$) en ríos del P. N. de Monfragüe

De lo que se deduce que los niveles entre el río Tajo y el río Tiétar son muy parecidos. El Tajo, cuando ya ha recibido las aguas del río Tiétar, aumenta los niveles medios que traía, pero con valores muy próximos entre sí.

La concentración media de Cu total en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe fue de $3,24 \pm 1,3$ $\mu\text{g/L}$.

DISCUSIÓN

La concentración media de Zn disuelto en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe fue de $5,77 \pm 2,91$ $\mu\text{g/L}$ y la de Zn total fue de $21,16 \pm 12,14$ $\mu\text{g/L}$.

En varios estudios consultados, los niveles de Zn fueron:

Zn disuelto ($\mu\text{g/L}$)	Río	Autores
4,4-13,4	Adige (Italia)	Benfenali <i>et al.</i> , 1992
14	14 ríos de Québec (Canadá)	Cuthbert y Kalf, 1993
1-4,7	Afluentes del lago Michigan (USA)	Hurley <i>et al.</i> , 1996
110	Mukuvisi (Zimbabue)	Zaranyka y Ndapwadza, 1995
130	Mányame (Zimbabue)	Zaranyka y Ndapwadza, 1995
4-156	Lagos del río Black (Ontario)	Miller <i>et al.</i> , 1992
7,08	Lago Erie (USA)	Manny <i>et al.</i> , 1991
40-140	Tigris (India)	Gümgüm <i>et al.</i> , 1994
10-174	Indus (Pakistán)	Tariq <i>et al.</i> , 1996
162-862	Aguas potables de Arabia Saudí	Mustafá <i>et al.</i> , 1988
Tabla 146. Niveles de Zn disuelto en agua encontrados por diversos autores		

Como se puede apreciar, existen diferencias entre los distintos países. En los estudios realizados en el hemisferio norte, los niveles de Zn se sitúan por debajo o parecidos a los encontrados en nuestro estudio, mientras que los estudios realizados en Asia o África, los niveles fueron mucho mayores a los encontrados en nuestro estudio.

En España también se han realizado estudios de monitorización de metales pesados en aguas. González *et al.* (1984) midieron concentraciones de Zn en aguas de las marismas del río Guadalquivir, pero en diferentes zonas. Así, las aguas cercanas a zonas mineras poseían una concentración de Zn entre 112-3.925 $\mu\text{g/L}$, el agua de las marismas poseía concentraciones entre 7,45-895 $\mu\text{g/L}$ y la concentración de Zn disuelto en agua de zonas arenosas estuvo entre 9,63-23,76 $\mu\text{g/L}$. Con estos valores se vio claramente que las zonas mineras descargaron cantidades importantes de Zn, y zonas más alejadas no tienen apenas contaminación exógena. Esto mismo sucede en las aguas de Monfragüe, que al estar poco expuestas a zonas mineras, la concentración de Zn, tanto disuelto como total, es muy baja.

En el Parque Nacional de Doñana también se han realizado estudios de contaminación metálica en aguas. Baluja *et al.* (1983) midieron concentraciones medias de Zn disuelto de 62 µg/L (13-134). Baluja *et al.* (1985) detectaron concentraciones parecidas de Zn disuelto (61 ± 20 µg/L), no encontrando diferencias entre varios muestreos que realizaron, por lo que concluían que el Zn se distribuía homogéneamente en el medio acuático. En nuestro caso, sucede más o menos lo mismo, en el sentido que la distribución de Zn es más o menos homogénea, pero los valores hallados en este estudio estuvieron por debajo de los encontrados por Baluja *et al.* (1983, 1985).

El trabajo realizado por Linde *et al.* (1998) en el que se midieron entre 0,46-1 ppb de Zn disuelto en el río Ferreiras (Asturias) mostró niveles inferiores a los encontrados en este trabajo.

Pardo *et al.*, 1989 midieron entre nd-55,7 ppb de Zn disuelto y una concentración media de 106 ppb de Zn total en aguas de la provincia de Valladolid, valores situados muy por encima de los que hemos detectado en este estudio.

La mayoría de los autores no se pronuncian sobre los niveles de Zn en sus estudios. Según González *et al.* (1984), hasta 20 ppb de Zn se consideran niveles de riesgo mínimo en cauces naturales de ríos de España. En ninguno de los puntos muestreados se superan las 10 ppb, por lo que se puede considerar zona exenta de contaminación por Zn. La Directiva del Consejo de 18 de julio de 1978, relativa a la calidad de las aguas continentales que requieren protección o mejora para ser aptas para la vida de los peces (78/659/CEE) del Consejo de las Comunidades Europeas, establece que la concentración máxima de Zn total para aguas ciprinícolas, como es este caso, no exceda de 1mg/L de Zn total, valor que no se supera en absoluto.

Además, el REAL DECRETO 1138/1990, de 14 de septiembre (BOE 20/9/90), por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables de consumo público, establece que la cantidad guía (orientativa) de Zn sea de 100 µg/L (100 ppb), valor 7 veces mayor que lo que se encuentra en esta agua.

Los niveles de Zn se mantienen a lo largo del año en unos niveles muy bajos y constantes. No parece que exista una entrada en el curso fluvial de cantidades importantes de este metal, por lo que los aumentos o disminuciones parecen más bien obra de factores climatológicos, como sequía en meses de verano, que hacen que aumente la concentración o que disminuya en épocas de más lluvia provocando un factor de dilución.

La concentración media de Cd disuelto en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe fue de $37,5 \pm 34,57$ ng/L y la de Cd total fue de $254,27 \pm 127,66$ ng/L.

En otros estudios consultados, la concentración de Cd osciló según las zonas:

Cd disuelto ($\mu\text{g/L}$)	Río	Autores
4	Mukuvisi (Zimbabwe)	Zaranyka y Ndapwadza, 1995
12-22	Mányame (Zimbabwe)	Zaranyka y Ndapwadza, 1995
0,06	Lago Erie (USA)	Manny <i>et al.</i> , 1991
1-26	Aguas potables de Arabia Saudí	Mustafá <i>et al.</i> , 1988
2-22	Indus (Pakistán)	Tariq <i>et al.</i> , 1996
3-20	Lagos del área de Sudbury (USA)	Hutchinson y Stokes, 1975
Tabla 147. Niveles de Cd disuelto en agua encontrados por diversos autores		

En España los estudios realizados superan los niveles de Cd encontrados por nosotros en aguas del P. N. de Monfragüe.

González *et al.* (1984) midieron cantidades entre 0,61-690 $\mu\text{g/L}$ en agua cercanas a zonas mineras, entre 0,09-2,84 $\mu\text{g/L}$ en aguas de zonas de marisma y entre 0,14-0,78 $\mu\text{g/L}$ en aguas de zonas asentadas con fondos arenosos, indicando claramente la influencia de las descargas mineras de Cd.

En un estudio de los niveles de Cd en aguas del Parque Nacional de Doñana, los niveles detectados por Baluja *et al.* (1983) fueron de 1 $\mu\text{g/L}$, con un rango entre 0,3 y 2,3 $\mu\text{g/L}$. Más tarde, estos mismos autores en 1985 observaron que la concentración fue de $1 \pm 0,5$ $\mu\text{g/L}$, muy parecida al anterior estudio realizado en 1983 (Baluja *et al.*, 1985). Rico *et al.* (1989) realizaron un seguimiento de los metales pesados en aguas del río Guadimar y sus afluentes en el Parque Nacional de Doñana encontrando el Cd en muy baja concentración, con medias comprendidas entre 0,1-4,2 $\mu\text{g/L}$.

Linde *et al.* (1998) midieron $\leq 0,1$ ppb de Cd disuelto en el río Ferreiras (Asturias) demostrando que realmente estaba impoluto, y en todo caso niveles muy inferiores a los detectados en este estudio.

Por último, Pardo *et al.* (1989) detectaron entre nd-6,5 $\mu\text{g/L}$ de cadmio disuelto y una media de 1,2 $\mu\text{g/L}$ de Cd total en aguas naturales de la provincia de Valladolid.

La concentración media de Pb disuelto en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe fue de $2,01 \pm 1,07$ $\mu\text{g/L}$ y la de Pb total fue de $5,59 \pm 1,55$ $\mu\text{g/L}$.

En varios estudios consultados, los niveles de Pb fueron:

Pb disuelto ($\mu\text{g/L}$)	Río	Autores
90	Mukuvisi (Zimbabwe)	Zaranyka y Ndapwadza, 1995
160	Mányame (Zimbabwe)	Zaranyka y Ndapwadza, 1995
0,1	Lago Erie (USA)	Manny <i>et al.</i> , 1991
10-160	Indus (Pakistán)	Tariq <i>et al.</i> , 1996
200-500	Tigris (India)	Gümgüm <i>et al.</i> , 1994
100 mg/L	Aguas de Indiana contaminadas	Allen <i>et al.</i> , 1996
Tabla 148. Niveles de Pb disuelto en agua encontrados por diversos autores		

Como se puede apreciar, existen amplias diferencias entre los diversos países. No obstante, los valores hallados son mucho mayores que en los de nuestro estudio. Incluso, existen valores muy elevados que demuestran la influencia de descargas mineras, como en el caso del estudio realizado por Allen *et al.* (1996).

En España los estudios de monitorización de metales pesados en aguas nos muestran también valores superiores a los encontrados en nuestro estudio. El estudio realizado por González *et al.* (1984) en aguas de diferentes zonas de las marismas del río Guadalquivir, mostró que la influencia de descargas mineras era patente. Así la concentración de Pb disuelto varió entre 5,91-712,5 $\mu\text{g/L}$ en aguas cercanas a minas, el agua de las marismas poseía concentraciones entre 1,04-23,17 $\mu\text{g/L}$ y la concentración de Pb disuelto en agua de zonas arenosas estuvo entre 1,82-3,09 $\mu\text{g/L}$.

En el Parque Nacional de Doñana el estudio realizado por Baluja *et al.* (1983) midieron concentraciones medias de Pb disuelto de 11 $\mu\text{g/L}$ (7-17). Posteriormente, Baluja *et al.* (1985) detectaron niveles parecidos de Pb disuelto (11 \pm 0,2 $\mu\text{g/L}$) y Rico *et al.* (1989) midieron concentraciones medias entre 1,4-41,6 $\mu\text{g/L}$.

Pardo *et al.* (1989) midieron entre nd-17,6 ppb de Pb disuelto y una concentración media de 9,6 ppb de Pb total en aguas de la provincia de Valladolid, valores situados muy por encima de los que hemos detectado en este estudio.

El estudio de Linde *et al.* (1998) en aguas impolutas del río Ferreira mostró niveles tan bajos entre 0,09-0,2 ppb de Pb disuelto, que son inferiores a los detectados por nosotros en aguas del P. N. de Monfragüe.

Según Friedman (1995) la concentración típica de Pb disuelto en aguas es de aproximadamente 3 $\mu\text{g/L}$. En España, González *et al.* (1984) consideraban que 10 ppb de Pb son niveles de riesgo mínimo en cauces naturales de ríos de España. En cualquier caso, en ningún punto de muestreo de nuestro estudio se superan estos valores, por lo que se puede considerar zona exenta de contaminación por Pb. Incluso, según el REAL DECRETO 1138/1990, de 14 de

septiembre (BOE 20/9/90), por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables de consumo público, establece la concentración máxima de Pb en 50 µg/L (50 ppb), que frente a 2,31 ppb encontradas en este estudio, suponen niveles de metales pesados en las aguas del P. N. de Monfragüe muy aceptables.

La concentración media de Cu disuelto en aguas superficiales del P. N. de Monfragüe fue de $1,75 \pm 1,12$ µg/L y la de Cu total fue de $3,24 \pm 1,3$ µg/L.

En varios estudios consultados, los niveles de Cu fueron:

Cu disuelto (µg/L)	Río	Autores
29	Mukuvisi (Zimbabwe)	Zaranyka y Ndapwadza, 1995
3,2	Mányame (Zimbabwe)	Zaranyka y Ndapwadza, 1995
2-15	Lagos del río Black (Ontario)	Miller <i>et al.</i> , 1992
1,78	Lago Erie (USA)	Manny <i>et al.</i> , 1991
10-91	Indus (Pakistán)	Tariq <i>et al.</i> , 1996
10-40	Tigris (India)	Gümgüm <i>et al.</i> , 1994
Tabla 149. Niveles de Cu disuelto en agua encontrados por diversos autores		

Como se puede apreciar, existen diferencias entre los diferentes países, pero los niveles de algunos autores se parecen a los hallados en nuestro estudio.

En España, los estudios que se han realizado sobre niveles de Cu en aguas miden niveles superiores a los encontrados por nosotros. González *et al.* (1984) midieron entre 29,46-5.000 µg/L en las aguas cercanas a zonas mineras, entre 13,51-53,81 µg/L en aguas de las marismas y entre 7,96-17,2 µg/L en agua de zonas arenosas no contaminadas.

En el Parque Nacional de Doñana Baluja *et al.* (1983) midieron concentraciones medias de Cu disuelto de 27 µg/L (17-43) y posteriormente, en 1985 detectaron concentraciones parecidas de Cu disuelto (26 ± 7 µg/L), no encontrando diferencias entre varios muestreos que realizaron.

Linde *et al.* (1998) midieron entre 0,18 y 0,41 ppb de Cu en aguas impolutas del río Ferreiras demostrando realmente niveles bajos de Cu, inferiores a los hallados en nuestro estudio.

Pardo *et al.*, 1989 midieron entre nd-14,1 ppb de Cu disuelto y una concentración media de 13,2 ppb de Cu total en aguas de la provincia de Valladolid, valores situados muy por encima de los que hemos detectado en este estudio.

Según González *et al.* (1984) 10 ppb de Cu se consideran niveles de riesgo mínimo en cauces naturales de ríos de España. La Directiva del Consejo de 18

de julio de 1978, relativa a la calidad de las aguas continentales que requieren protección o mejora para ser aptas para la vida de los peces, establece que la concentración guía de Cu soluble en aguas ciprinícolas, como es este caso, no exceda de 40 µg/L (40 ppb), valor que no se supera en absoluto. Y según el REAL DECRETO 1138/1990, de 14 de septiembre (BOE 20/9/90), por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables de consumo público, establece la concentración guía de 100 µg/L (100 ppb), lo que hace que los valores de Cu encontrados en este estudio (2,04 ppb) sean valores realmente mínimos.

En general, los niveles de metales pesados disueltos y totales en las aguas del P. N. de Monfragüe no presentan niveles elevados. La evolución temporal de los niveles de los distintos metales pesados es muy parecida y aunque no coinciden exactamente los máximos y mínimos guardan una proximidad de tal forma que se puede hablar de concentraciones promedio en las aguas del P. N. de Monfragüe, al no existir prácticamente ninguna variación importante a lo largo del año.

Correlación entre los niveles de metales encontrados entre sí

Algunos autores han encontrado correlaciones significativas entre los diferentes niveles de metales pesados entre sí en aguas. Tal es el caso de González *et al.* (1985) que encontraron buenos coeficientes de correlación entre los distintos metales disueltos en agua:

	Cd	Pb	Cu
Zn	0,993	0,923	0,798
Cd		0,932	0,830
Pb			0,773

Sin embargo, nosotros al estudiar las correlaciones entre los distintos niveles de metales pesados disueltos y totales no hemos hallado ninguna correlación significativa entre ellos:

	ZN DI	CD DI	PB DI	CU DI	ZN TOT	CD TOT	PB TOT	CU TOT
ZN DI	1							
CD DI	0,422	1						
PB DI	0,088	0,222	1					
CU DI	-0,075	0,027	0,148	1				
ZN TOT	0,315	0,170	0,204	-0,148	1			
CD TOT	-0,135	0,221	-0,085	0,000	-0,082	1		
PB TOT	-0,035	0,186	-0,162	0,067	0,182	0,501	1	
CU TOT	0,372	0,486	0,209	-0,024	0,445	0,068	0,308	1

Tabla 150. Coeficientes de correlación (r^2) entre niveles de metales pesados disueltos (DI) y totales (TOT) en aguas del P. N. de Monfragüe.

Hecho que concuerda con numerosos autores que no encuentran relación entre los niveles de unos metales pesados con otros (Baluja *et al.*, 1983; Baluja *et al.*, 1985, Rico *et al.*, 1987; Fernández -Aceytuno *et al.*, 1984; Chevreuil *et al.*, 1996)

Ecotoxicidad de los niveles encontrados

La medida de la concentración de los metales pesados en agua, tanto disueltos, como totales nos aporta información sobre la contaminación del medio que puede o no originar trastornos en la fauna o al consumir el hombre directamente esta agua.

Otros estudios han realizado medidas de letalidad de los metales pesados. Aunque siempre se realizan en condiciones de laboratorio, que no son iguales a las condiciones naturales, siempre nos orientan sobre los valores de metales que pueden causar daño al ecosistema y más concretamente a la ictiofauna.

Estas concentraciones letales señaladas por diversos autores, que se pueden consultar en la revisión bibliográfica del capítulo de metales pesados de esta tesis doctoral (tablas 41-44), se muestran muy superiores a las encontradas en las aguas del Parque Natural de Doñana, por lo que la concentración de metales pesados encontrada en las aguas de los ríos del P. N. de Monfragüe no representan un riesgo serio para la salud de los peces.

5. RESULTADOS DE METALES PESADOS EN ORGANOS DE PECES

El estudio y discusión de los resultados de metales pesados en peces lo abordaremos comentando en primer lugar los niveles de los diferentes metales pesados en cada órgano y discutiremos los resultados hallados. Después discutiremos el patrón de acumulación de cada uno de los metales pesados, estableceremos relaciones entre la concentración de los metales hallados con datos biométricos de los peces, sexo y relacionaremos las diferentes concentraciones de metales entre sí. Por último contrastaremos los valores encontrados con los niveles permitidos por la legislación.

5.1.-NIVELES DE METALES PESADOS EN BRANQUIAS

Los niveles de metales pesados en branquias de los peces de los diferentes muestreos realizados en el río Tajo y Tiétar se detallan en la siguiente tabla:

<i>Muestreo: julio de 1996</i>					
Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)	sexo
Media	23,74	6,5	165,76	529,66	12M
Desv. est.	11,30	4,2	124,29	226,23	4H
Rango	3,22-44,74	0,57-13,05	54,99-459,73	126,2-1030	n=16
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)	sexo
Media	23,81	5,25	259,29	564,83	2M
Desv. est.	14,03	5,51	258,95	241,28	12H
Rango	10,39-54,89	0-18,93	29,68-716,01	101,66-898	n=14
<i>Muestreo: Abril de 1997</i>					
Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)	sexo
Media	17,61	5,46	182,98	505,59	6M
Desv. est.	6,58	1,76	112,36	166,72	6H
Rango	9,61-30,8	3,53-8,89	77,77-390,4	216-810	n=12
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)	sexo
Media	17,54	333,82	332,99	715,90	2M
Desv. est.	5,83	109,10	388,79	649,32	3H
Rango	10,59-24,26	258-495	38-545,9	100,3-1812,2	n=5
<i>Muestreo: Agosto de 1997</i>					
Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)	sexo
Media	19,31	2,45	169,01	848,77	6M
Desv. est.	15,32	2,05	220,92	296,82	4H
Rango	0,83-46,3	0,3-7,04	16,29-686,74	353-1309	n=10
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)	Sexo
Media	25,90	11,21	171,79	778,45	8M
Desv. est.	16,01	12,79	139,82	217,17	4H
Rango	4,97-57,64	1,73-46,75	17,8-525,72	528,7-1145,8	n=12
Tabla 151. Niveles de metales pesados en branquias de peces del P. N. de Monfragüe.					

En las diferentes tomas de ambos ríos, lo más destacable es la variabilidad que existe entre los valores determinados, lo que se confirma con su elevada desviación estándar y el rango tan amplio de valores.

Esta variabilidad se ha encontrado en numerosos estudios y en varias especies de peces. La causa principal se encuentra en que existe una gran cantidad de variables que afectan los niveles de los metales pesados, como se ha referido en la revisión bibliográfica (sexo, edad, tamaño, especie, régimen alimenticio, lugar de recogida, etc...).

El **zinc** es el metal que más se acumuló en branquias, seguido del Cu, Pb y Cd. Esto concuerda con otros estudios consultados sobre acumulación de Zn en tejidos de peces, en los que la branquia acumuló sobre todo Zn (Anadon *et al.*, 1984; Amundsen *et al.*, 1997; Köck y Bucher, 1997).

Generalmente, cuando la fuente principal de Zn se encuentra en el agua, las branquias son la primera barrera a penetrar por los metales y en el momento que cesa la exposición, el metal se redistribuye por los diferentes órganos.

Los resultados de metales pesados en aguas mostraron que el Zn se detectó en mayor cantidad a lo largo del periodo de estudio que el resto de metales. En este caso, es evidente que habiendo Zn en el agua y siendo este elemento biodisponible, las branquias estarán expuestas continuamente, por lo que se ingiere y se acumula de forma más o menos constantes.

La concentración media de Zn hallada en los diferentes muestreos de los dos ríos se expresa en la siguiente tabla:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	23,74	11,30		julio-96	23,81	14,04
abril 97	17,61	6,58		abril 97	17,54	5,83
agosto 97	19,32	15,32		agosto 97	25,90	16,02
Promedio	20,80	11,19		Promedio	23,42	13,72

Tabla 152. Niveles medios de Zn ($\mu\text{g/g}$) en branquias de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

La concentración de Zn en branquias de peces varió ligeramente de un muestreo a otro. En el muestreo de julio de 1996, los valores hallados en peces del Tajo fueron muy similares a los del Tiétar, como ocurrió en el muestreo de abril de 1997, pero con valores ligeramente inferiores. En el muestreo de agosto de 1997, los valores hallados en peces del río Tiétar fueron ya superiores a los valores encontrados en peces del río Tajo.

Esta diferencia con respecto a los otros muestreos, se puede apreciar mejor si representamos gráficamente los valores de Zn hallados en branquias de peces en los diferentes muestreos de ambos ríos:

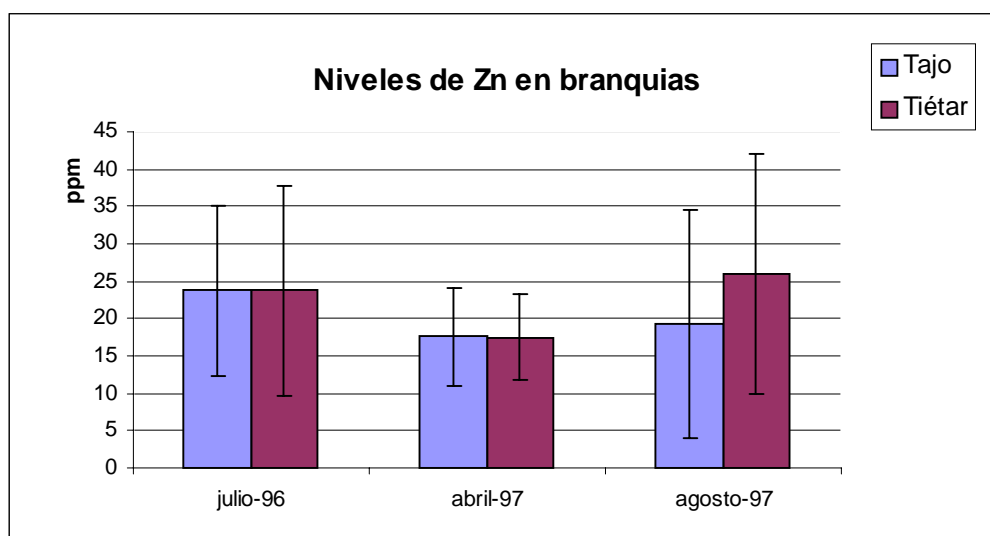


Figura 44. Representación gráfica de los niveles de Zn ($\mu\text{g/g}$) en branquia de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

El estudio estadístico no mostró diferencias significativas entre los niveles de Zn en branquias de peces de diferentes muestreos, ni entre los niveles de Zn en branquias de peces de los dos ríos objeto de estudio.

De esta forma, la concentración media de Zn en branquias de peces que habitan en el P. N. de Monfragüe fue $22,05 \pm 12,44 \mu\text{g/g}$.

El **cadmio** se acumuló en muy poca cantidad en la branquia y aunque es un metal pesado que se absorbe fácilmente por branquias, en este estudio fue el metal pesado que menos se acumuló en este órgano.

La concentración media de los valores de Cd hallados en branquias de los peces de diferentes muestreos en el río Tajo y Tiétar se halla reflejado en estas dos tablas:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	6,5	4,2		julio-96	5,25	5,51
abril 97	5,46	1,76		abril 97	333,82	109,10
agosto 97	2,45	2,05		agosto 97	11,21	12,79
Promedio	5,23	3,51		Promedio	56,35	123,94

Tabla 153. Niveles medios de Cd (ng/g) en branquias de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

Sigue existiendo una gran variabilidad entre los datos (hasta 114% en el caso del Cd detectado en peces del Tiétar en el muestreo de agosto de 1997). No obstante, los valores tienen una gran homogeneidad entre sí, excepto los 333,82 ppb hallados en los peces del Tiétar del mes de abril de 1997, sin embargo, este incremento puntual tiene explicación si observamos la evolución de este metal en las aguas de este río.

La concentración media de Cd en peces capturados en el P. N. de Monfragüe fue de $32,81 \pm 90,29$ ng/g.

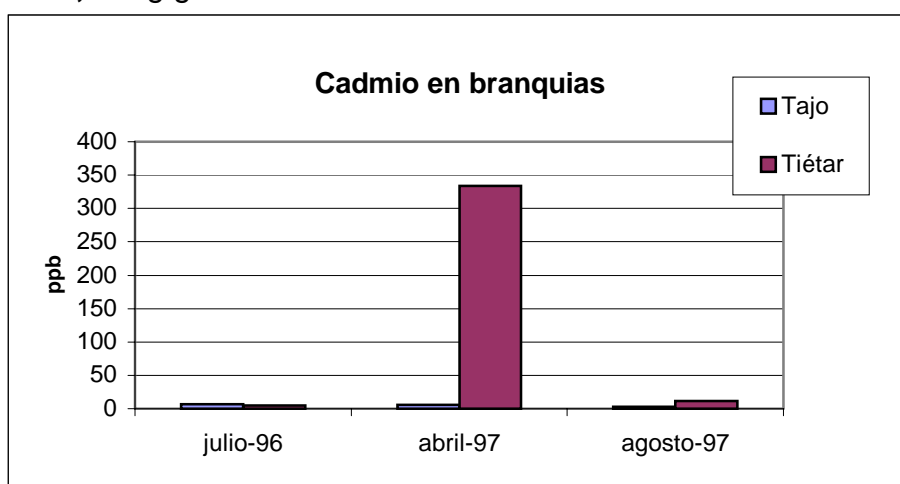


Figura 45. Niveles de Cd en branquias de peces de Monfragüe.

Para poder comparar la evolución que sigue el Cd a lo largo de los muestreos, representamos todos los valores encontrados, excepto los encontrados en el Tiétar en abril:

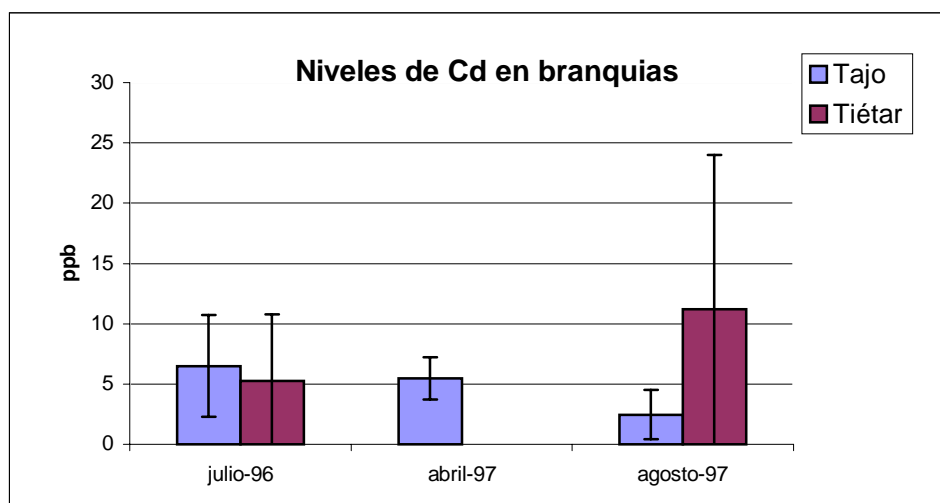


Figura 46. Representación gráfica de los niveles de Cd (ng/g) en branquia de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

El estudio estadístico reveló que existieron diferencias significativas entre los niveles de Cd en branquias de peces del río Tiétar entre julio y abril y entre abril y agosto, así como entre los niveles de Cd branquial en los peces del Tajo muestreados entre abril y agosto de 1997.

Los niveles de **plomo** en branquias de peces vuelven a tener la característica de poseer una gran variabilidad.

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	165,76	124,29		julio-96	259,29	258,95
abril 97	182,98	112,36		abril 97	332,99	388,79
agosto 97	169,01	220,92		agosto 97	171,79	139,82
Promedio	171,69	147,93		Promedio	216,83	208,79

Tabla 154. Niveles medios de Pb (ng/g) en branquias de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

Como se puede apreciar, los valores de Pb en peces del río Tiétar estuvieron por encima de los encontrados en peces del río Tajo, aunque existe, como hemos dicho una gran variabilidad de los valores.

En la representación gráfica se puede observar la evolución de los niveles de Pb en branquias de peces en los diferentes muestreos:

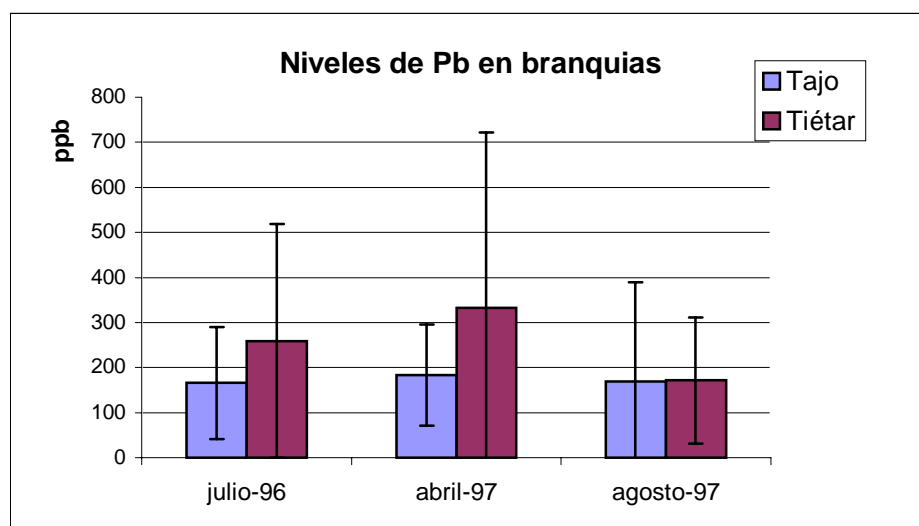


Figura 47. Niveles de Pb (ng/g) en branquia de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

En abril los valores de Pb fueron superiores a los encontrados en el muestreo anterior y posterior, siendo mayores en branquias de peces del río Tiétar.

Según los resultados obtenidos, los valores del Pb en las branquias de los peces se mostraron semejantes en todos los muestreos de ambos ríos, y aunque la concentración en peces del río Tiétar fue superior, las diferencias no fueron significativas.

De esta forma, la concentración media de Pb en branquias fue de **192,47 ± 178,46** ng/g

Los niveles de **cobre** medidos en branquias de peces de los diferentes muestreos de los dos ríos fueron muy parecidos entre sí:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	529,66	226,23		julio-96	564,83	241,28
abril 97	505,59	166,72		abril 97	715,90	649,32
agosto 97	848,77	296,82		agosto 97	778,45	217,17
Promedio	603,04	272,06		Promedio	685,81	338,45

Tabla 155. Niveles medios de Cu (ng/g) en branquias de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

La variabilidad de los valores de Cu es menor con respecto a los otros metales medidos. Como se puede apreciar en las tablas, los valores de Cu son parecidos en peces del río Tajo y Tiétar. Tanto es así, que los niveles medios de los 3 muestreos son muy similares.

En la representación gráfica se puede observar la evolución de los niveles de Cu en branquias de peces en los diferentes muestreos:

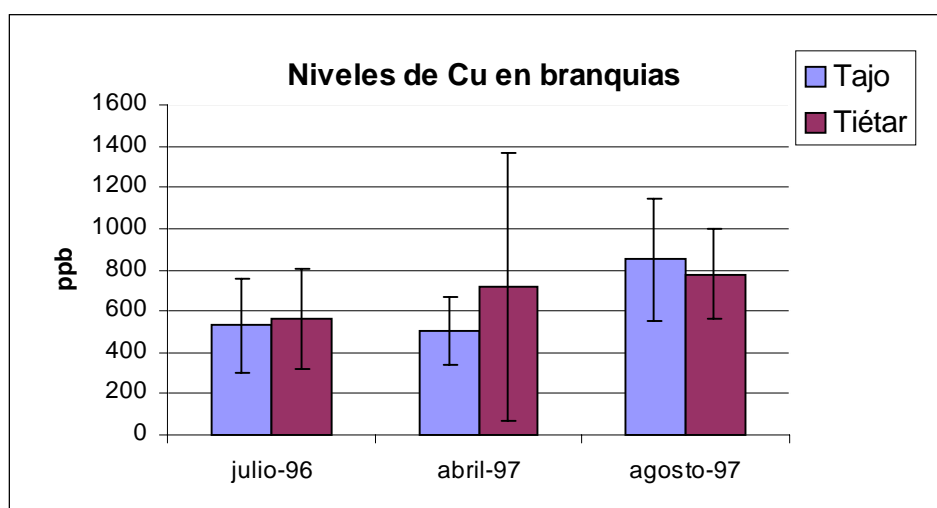


Figura 47. Niveles de Cu (ng/g) en branquia de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

En esta gráfica, podemos observar que los niveles medios de Cu parecen aumentar con respecto al tiempo. En este sentido, los valores observados en los peces del muestreo de agosto de 1997 son mayores que los observados en abril de 1997 y estos mayores a su vez que los hallados en el muestreo de julio de 1996.

Al analizar los datos estadísticamente, se observó que existieron diferencias significativas entre los niveles de Cu branquial de peces entre los muestreos de julio y agosto en los ríos Tajo y Tiétar y entre el muestreo abril-agosto en el peces del río Tajo.

La concentración media de Cu en branquias de los peces capturados en el P. N. de Monfragüe fue de **622,44 ± 313,27** ng/g.

DISCUSIÓN

A continuación se reflejan las tablas que resumen las concentraciones medias de los metales pesados en cada uno de los órganos para poder establecer comparaciones con los valores hallados por otros autores en otros estudios realizados sobre acumulación de metales pesados en peces.

Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)
<i>Julio 96</i>	23,74	6,5	165,76	529,66
<i>Abril 97</i>	17,61	5,46	182,98	505,59
<i>Agosto 97</i>	19,31	2,45	169,01	848,77
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)
<i>Julio 96</i>	23,81	5,25	259,29	564,83
<i>Abril 97</i>	17,54	333,82	332,99	715,90
<i>Agosto 97</i>	25,90	11,21	171,79	778,45

Tabla 156. Niveles medios de metales pesados en branquias de barbos en los diferentes muestreos realizados en el P. N. de Monfragüe.

En general, son pocos los autores que estudian la acumulación de metales pesados en branquias y si lo hacen es porque, en realidad, sus estudios versan sobre toxicocinética de este elemento metálico.

En España, algunos autores como Anadon *et al.* (1984) observaron también que la distribución de Zn alcanzaba los mayores niveles en branquias, seguido de hígado, gónadas y músculo.

En el caso de la branquia, la acumulación puede estar relacionada con el hecho de que este órgano es la vía principal de entrada de contaminantes.

El promedio de los niveles de Zn encontrados en este estudio se acerca bastante a los niveles encontrados por Shen *et al.* (1998) en la tilapia (26,7 ppm)

recogidos en el río Shing Mun (Hong Kong) con gran carga de contaminación, pero no se pronuncia sobre los niveles debido a que en este país no existe limitación para el contenido de Zn.

El Pb es otro metal pesado que muestra gran absorción a través de las branquias. Tao *et al.* (1999) realizaron un estudio profundo sobre la ingestión de Pb a través de branquias en el pez *Carassius auratus*, llegando a la conclusión de que el Pb es disponible en forma de ión libre y cuando está adherido a pequeñas partículas, siendo más biodisponible que otros metales. Estos autores encontraron en las branquias del pez niveles de entre 4,07-56,5 ppm. En el caso de los barbos de nuestro estudio, los niveles se muestran relativamente bajos (165,76-259,29 ppb), valores superados por otros peces en diversos estudios (Kannan *et al.*, 1995; Robinson y Avenant-Oldewage, 1997; Kock *et al.*, 1998).

El Cu es otro metal que se absorbe a través de branquia. Como se puede observar, los niveles rondan una media de 622,44 ppb, habiendo ejemplares que acumularon hasta 1,8 ppm. Generalmente existe una biorregulación de este metal, ya que posee funciones metabólicas en los seres vivos, por lo que su ingestión, sea cual sea la vía utilizada, es seguida de una regulación y redistribución hacia los tejidos que lo utilizan.

Tiene que existir grandes cantidades de Cu en el medio acuático para producirse una acumulación excesiva en las branquias.

Anadon *et al.* (1984) midieron hasta 55 ppm (en peso seco) en branquias de la trucha de río, valores superiores a los encontrados en este estudio. Grosell *et al.* (1998) encontraron niveles de hasta 5,07 ppm en la trucha arco iris expuesta a 20 µg/L de Cu en agua y otro estudio con truchas arco iris expuestas a 5,4 ppm de Cu durante 2 horas acumularon 902 ppb de Cu en las branquias (Hollis *et al.* 1997).

Kannan *et al.* (1995) detectaron 13,9 y 15,2 µg/g de Zn; 0,05 y 0,117 µg/g de Cd; 7,54 y 13,2 µg/g de Pb y 16,7 y 22,8 µg/g de Cu en machos y hembras respectivamente de ejemplares de *Tachypleus tridentatus* capturados en aguas de las costas japonesas. Dichos valores son muy superiores a los detectados en branquias de barbos de este estudio, excepto los valores de Zn que son similares o un poco superiores. Los autores comentaron que los niveles detectados no suponían un riesgo ecotoxicológico.

Relación de los niveles de metales pesados encontrados en branquias de peces y los encontrados en aguas.

Llama la atención que los niveles de Zn en branquias de peces recogidos en abril de 1997 son ligeramente menores que en el muestreo anterior y posterior.

En la evolución temporal de los niveles de Zn disuelto y total en agua, observamos una tendencia al descenso de los valores presentes en la primavera, mientras que aumentaron su concentración en el verano y otoño, por lo que resulta razonable que los niveles de Zn en branquias disminuya en el muestreo realizado en abril de 1997.

La concentración de Cd disuelto en aguas del río Tiétar ascendió entre abril y mayo de 46,83 a 209 ng/L y de Cd total de 292 hasta 361 ng/L. Justo entre ambas tomas de agua fue cuando se realizó la captura de los peces, lo que podría explicar la elevada concentración de Cd encontrada únicamente en los peces de la captura de abril en el río Tiétar:

Los valores de Cd disuelto en agua en ambos ríos fue parecido desde abril hacia agosto (excepto en Tiétar 2, que ya ha sido comentado), pero no así el Cd total, que vuelve a experimentar un incremento fuerte en el río Tiétar en el verano (de 210,19 en julio a 608,68 ppt en agosto), mientras que los valores de Cd total en Tajo disminuyen desde el mes de julio entre 2-9 veces (ver tabla 137). Esto explicaría el incremento que se produce en los niveles de Cd en branquias de peces del río Tiétar y la disminución del Cd branquial en peces del río Tajo del muestreo realizado en agosto de 1997.

Existió un aumento en los niveles de Pb en branquias de peces del río Tiétar capturados en abril de 1997, hecho atribuible al aumento de Pb disuelto en aguas en Tiétar 1 que se produjo entre el mes de abril y mayo de 1997 (de 1,50 a 6,40 ppb).

En los niveles de Cu en branquias, llama la atención la enorme variabilidad encontrada entre los niveles encontrados en peces del río Tiétar, capturados en abril de 1997. En este muestreo, está claro que se capturaron peces con elevadas concentraciones de Cu en branquias y peces con concentraciones mucho más bajas. La concentración de Cu disuelto en aguas fue parecida, pero en el caso de Cu total, la concentración encontrada en el Tiétar aumentó mucho entre el mes de abril y mayo de 1997 (de 5,05 a 8,02 ppb). Como sabemos el Cu total es el resultado del sumatorio del Cu soluble más el que está absorbida a la materia orgánica y puede haber sucedido que los peces asimilaron de forma distinta el Cu del medio.

5.2.-NIVELES DE METALES PESADOS EN HIGADO

Los niveles de metales hallados en el hígado tienen su máximo interés a la hora de biomonitorizar el medio acuático. Analizar los niveles, bajo el punto de vista de salud humana, no tiene demasiada utilidad porque, aunque somos consumidores de pescado, el hígado de estas especies no suele ser comestible.

En la siguiente tabla se relacionan los niveles de los metales pesados encontrados:

<i>Muestreo: julio de 1996</i>					
Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)	sexo
Media	28,40	63,53	77,02	23,40	12M
Desvest	5,61	47,05	30,43	12,32	4H
rango	20,01-39,77	13,28-184,17	41,74-130,6	9,39-51	n=16
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)	sexo
Media	21,92	96,84	117,62	17,72	2M
Desvest	10,20	53,61	104,57	9,67	12H
rango	8-36,64	16,13-153,33	33,34-394,43	8,8-25,27	n=14
<i>Muestreo: Abril de 1997</i>					
Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)	sexo
Media	16,06	50,90	47,4	13,7	6M
Desvest	5,01	34,40	27,6	10,4	6H
Rango	11,41-27,66	8,44-108,1	17,21-99,8	4,1-39,37	n=12
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)	sexo
Media	18,62	128,98	138,9	31,9	2M
Desvest	4,72	79,90	52,9	12,9	3H
rango	13,35-27,1	26-226,21	107,1-232,57	19,29-54,76	n=5
<i>Muestreo: Agosto de 1997</i>					
Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)	sexo
Media	38,75	56,74	106,92	51,56	3M
Desvest	17,33	10,97	18,10	28,14	1H
rango	24,77-58,14	43,93-70,69	93-133,42	19,52-72,3	n=4
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)	sexo
Media	20,28	203,02	200,34	12,27	5M
Desvest	4,39	112,18	192,63	4,45	2H
rango	16,23-27,14	57,54-387,85	64,74-590,38	5,88-16,93	n=7

Tabla 157. Niveles de metales pesados en hígado de barbos de los diferentes muestreos capturados en el P. N. de Monfragüe.

Vuelve a llamar la atención la variabilidad que existe entre los datos. Aunque en su conjunto, los valores no son muy diferentes unos de otros.

El hígado acumuló básicamente Zn y Cu, como se muestra en la tabla. Las concentraciones medias oscilaron desde 16,06 hasta 38,75 ppm para el Zn y entre 12,27 y 51,56 ppm para el Cu.

La acumulación de estos dos metales es algo habitualmente encontrado por numerosos autores y utilizan este órgano para monitorizar la exposición de metales pesados en peces. El Zn y el Cu no son metales extraños para los organismos si no que son metales esenciales, en el sentido que forman parte de numerosos enzimas necesarios en el metabolismo animal. De esta forma existe una biorregulación y en el caso de producirse un aumento general de la concentración de Zn y Cu, los organismos poseen mecanismos para bien almacenarlos, gracias a la unión a metalotioneínas o eliminarlos.

La acumulación de metales pesados en hígado de peces de Monfragüe siguió este orden: $Zn \geq Cu > Pb > Cd$. Este patrón de acumulación ha sido observado por otros autores (Livonen *et al.*, 1992; Anadon *et al.*, 1984; Hamza-Chafai *et al.*, 1996; Amundsen *et al.*, 1997; Sánchez *et al.*, 1998) que estudiaron la acumulación de metales pesados en peces de agua dulce en diferentes países.

En lo que se refiere al **Zinc**, las concentraciones medias de Zn en hígado de los peces de cada punto de muestreo se encuentran reflejadas en la tabla siguiente:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	28,40	5,61		julio-96	21,92	10,20
abril 97	16,06	5,01		abril 97	18,62	4,72
agosto 97	38,75	17,33		agosto 97	20,28	4,39
Promedio	27,79	10,20		Promedio	20,88	7,91

Tabla 158. Niveles medios de Zn ($\mu\text{g/g}$) en hígado de peces de los diferentes muestreos realizados en el río Tajo y Tiétar.

La variabilidad entre valores existe pero es menor que en las branquias. Las desviaciones estándar son relativamente bajas en los diferentes muestreos, lo que muestra que pueden afectar menos variables a la concentración de Zn en hígado de peces.

Como se puede observar, las concentraciones medias fueron parecidas en los peces de diferentes ríos. La concentración media es mayor en los peces del río Tajo que en el Tiétar, excepto en el muestreo de abril que es ligeramente superior en peces del río Tiétar.

Entre los muestreos se aprecia claramente que en el realizado en abril se produjo una bajada en los niveles de Zn hepático y luego volvió a subir en el

muestreo realizado en agosto de 1997. La concentración media máxima se produjo en la captura de agosto de 1997 en el río Tajo (58,14 $\mu\text{g/g}$) y la mínima en una captura del río Tiétar en julio de 1996.

La evolución que mostró el contenido de Zn en hígado de peces fue clara, en el sentido que disminuye su concentración en los peces muestreados en abril de 1997, para luego aumentar en los peces capturados en agosto de 1997:

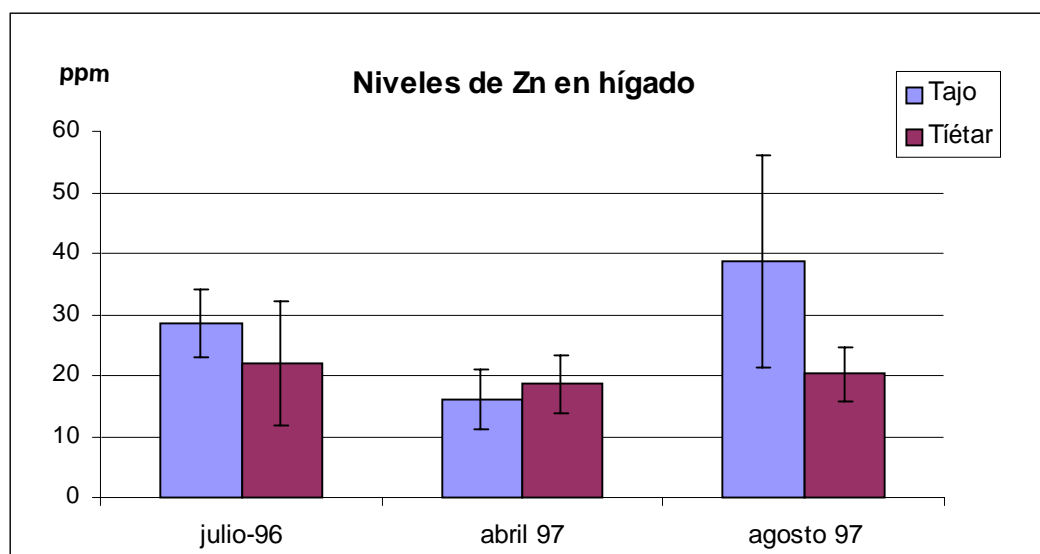


Figura 48. Niveles medios de Zn en hígado de peces en las diferentes capturas realizadas.

Sin embargo, la disminución de los valores en abril es pequeña y destaca más el aumento producido en los niveles de Zn en peces muestreados en agosto de 1997 en el río Tajo. Los niveles de Zn en branquias siguieron esta misma evolución, es decir, disminuyeron en el muestreo de abril y luego volvieron a aumentar. Si nos basamos en que el Zn se absorbe y acumula en branquias y se redistribuye a otros órganos, explicaría en parte esta disminución paralela entre los niveles de Zn en branquia e hígado en el mismo periodo de muestreo.

El estudio estadístico mostró que la concentración de Zn en hígado de peces sólo fue significativamente diferente entre los peces muestreados en julio-96 y abril-97 en el río Tajo.

El **Cadmio** se mantuvo en unos niveles también más o menos parecidos al comparar las concentraciones medias entre los muestreos. Pero al comparar los niveles encontrados entre peces de ambos ríos, los del río Tiétar tuvieron concentraciones medias más elevadas en los 3 muestreos realizados:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	63,53	47,05		julio-96	96,84	53,61
abril 97	50,90	34,40		abril 97	128,98	79,90
agosto 97	56,74	10,97		agosto 97	203,02	112,18
Promedio	58,24	39,18		Promedio	143,72	87,04

Tabla 159. Niveles medios de Cd (ng/g) en hígado de peces de los diferentes muestreos realizados en el río Tajo y Tiétar.

Se vuelve a observar de nuevo una gran variabilidad entre los datos encontrados, en algunos casos mayores del 50%. El valor máximo se encontró en el muestreo de agosto de 1997 en el río Tiétar. Melgar *et al.*, 1997 comprobaron que tras exposición a dosis subletales bajas de Cd (25 ppb), la acumulación de este metal en hígado acontece un tiempo más tarde que en branquia o riñón. Si consideramos que la mayor acumulación en branquia se produjo en abril de 1997, algunos barbos pudieron tener mayores concentraciones de Cd en hígado en el muestreo de agosto.

La evolución de los niveles de Cd en los 3 muestreos realizados, muestra que los niveles hallados en hígado de peces del río Tiétar aumentó en los diferentes muestreos, pero los niveles hallados en peces del río Tajo permanecieron más o menos iguales entre los diferentes muestreos.

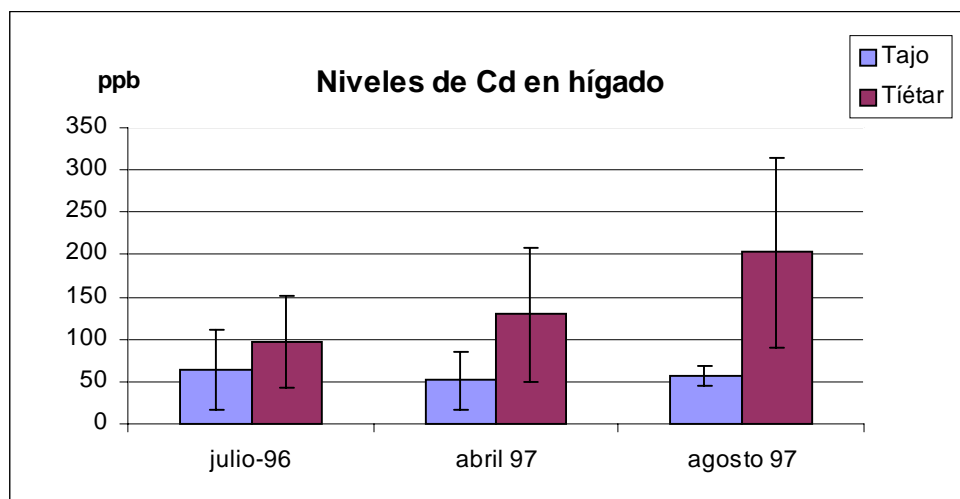


Figura 49. Niveles de Cd en hígado de peces de los diferentes muestreos realizados en el río Tajo y Tiétar.

El estudio estadístico demostró que no existen diferencias claramente significativas entre los valores hallados en peces de diferentes muestreos y entre peces de los diferentes ríos.

Los valores de **plomo** encontrado en hígado de los peces del río Tajo son menores a los encontrados en peces del río Tiétar. Las concentraciones

medias no se dispersan demasiado unas de otras, pero la variabilidad sigue siendo una característica de los resultados hallados:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	77,02	30,43		julio-96	117,62	104,57
abril 97	47,4	27,6		abril 97	138,9	52,9
agosto 97	106,93	18,11		agosto 97	200,34	192,63
Promedio	68,69	35,46		Promedio	149,34	131,29

Tabla 160. Niveles medios de Pb (ng/g) en hígado de peces de los diferentes muestreos realizados en el río Tajo y Tiétar.

En el río Tajo, los valores disminuyeron en abril de 1997 y fueron diferentes entre los muestreos. En el río Tiétar, las diferencias entre muestreos fueron menores.

La evolución de los niveles de Pb sigue una tendencia ascendente en los peces capturados en el río Tiétar, no así en los del río Tajo que disminuyen en el muestreo realizado en abril y aumentan de nuevo en el muestreo de agosto de 1997. Esta evolución es parecida a la encontrada en el Cd hepático.

Al igual que sucedió con el Zn hepático, los niveles de Pb en branquias fueron mayores en el mes de abril, por lo que es posible encontrar niveles mayores de Pb hepático en el muestreo realizado posteriormente (agosto de 1997).

Con esta gráfica podremos apreciar mejor la evolución del Pb en el hígado de los barbos:

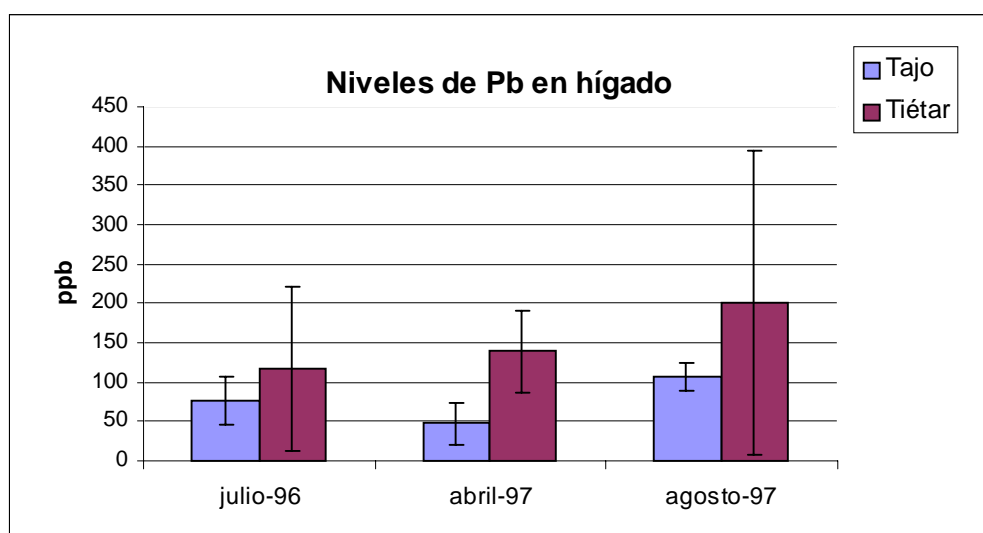


Figura 50. Niveles de Pb en hígado de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

Al realizar el estudio estadístico para ver si existen diferencias entre los valores encontrados en peces de diferentes muestreos y en los dos ríos encontramos que hubo diferencias significativas de los niveles medidos en julio-96 con respecto a abril-97 y de los medidos en abril-97 con respecto a agosto-97, en ambos casos de los peces capturados en el río Tajo.

El **cobre** fue el metal pesado que se midió en mayor concentración en el hígado y sus valores mostraron menor variabilidad que el resto de los metales pesados.

Las concentraciones medias en cada uno de los muestreos están reflejadas en la siguiente tabla:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	23,40	12,32		julio-96	17,72	9,67
abril 97	13,7	10,4		abril 97	31,9	12,9
agosto 97	51,57	28,15		agosto 97	12,27	4,45
Promedio	22,61	17,25		Promedio	18,47	11,24

Tabla 161. Niveles medios de Cu ($\mu\text{g/g}$) en hígado de peces de los diferentes muestreos realizados en el río Tajo y Tiétar.

En el río Tajo los valores medios entre cada muestreo fueron poco parecidos, destacándose la concentración media tan elevada encontrada en los peces del muestreo de agosto de 1997. En el río Tiétar los valores fueron también poco homogéneos entre los muestreos, siendo la concentración media más elevada la encontrada en los peces del muestreo de abril de 1997.

La evolución de los valores medios de Cu en hígado de peces en los diferentes muestreos no siguió un patrón definido:

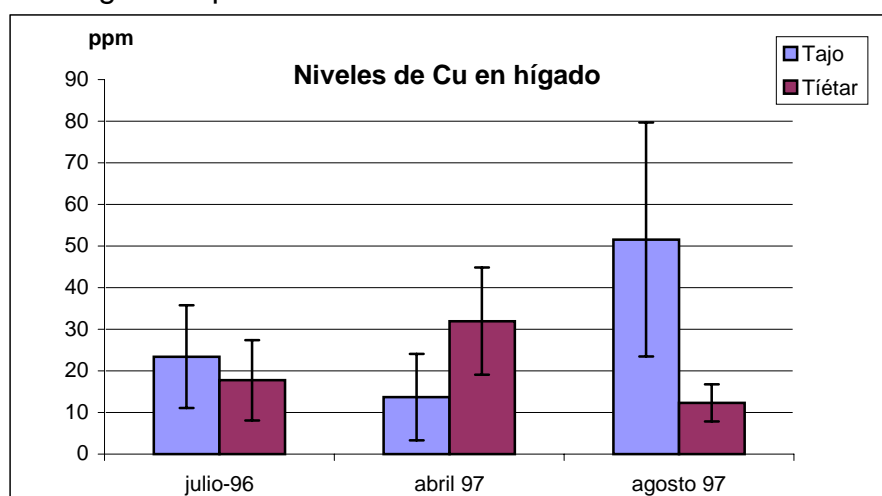


Figura 51. Niveles de Cu en hígado de peces de los diferentes muestreos realizados en el río Tajo y Tiétar.

En el río Tajo, los valores de Cu disminuyeron en los peces muestreados en abril y aumentaron drásticamente en agosto de 1997, pero no ocurre lo mismo en los peces del río Tiétar que aumentaron en abril de 1997 y luego disminuyeron bastante en agosto de 1997.

El estudio estadístico sólo mostró diferencias significativas de los niveles de Cu en hígado de peces capturados en el río Tiétar, entre los muestreos de abril-97 y agosto-97.

COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE METALES PESADOS ENCONTRADOS EN HIGADO DE BARBOS CON LOS ENCONTRADOS POR OTROS AUTORES

Los niveles medios de metales pesados en hígado de los barbos de este estudio están reflejados en la siguiente tabla resumen:

Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)
Julio 96	28,40	63,53	77,02	23,40
Abril 97	16,06	50,90	47,4	13,7
Agosto 97	38,75	56,74	106,93	51,57
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)
Julio 96	21,92	96,84	117,62	17,72
Abril 97	18,62	128,98	138,9	31,9
Agosto 97	20,28	203,02	200,34	12,27

Tabla 162. Niveles medios de metales pesados en hígado de barbos del P. N. de Monfragüe.

Grosell *et al.* (1998) realizaron un estudio sobre el metabolismo del Cu en truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) encontrando que el Cu se acumuló básicamente en hígado, en riñón y de forma menor en branquias. En este último órgano aumentó la concentración a medida que las truchas se aclimataron a la exposición artificial de Cu. Según Anadon *et al.* (1984) la distribución de Cu alcanza la mayor acumulación tisular en el hígado, lo que concuerda con lo observado en este estudio.

Al comparar los niveles hallados por otros autores vemos que generalmente otros autores encuentran niveles superiores.

Kannan *et al.* (1995) detectaron 54 y 84 µg/g de Zn; 1,56 y 1,55 µg/g de Cd; 0,287 y 0,151 µg/g de Pb y 23,1 y 35,6 µg/g de Cu en machos y hembras respectivamente de ejemplares de *Tachypleus tridentatus* capturados en aguas de las costas japonesas. Dichos valores son muy superiores a los detectados en hígado de barbos de este estudio, excepto los valores de Cu que son similares. Los autores comentaron que los niveles detectados no suponían un riesgo ecotoxicológico. Los niveles de Zn de 23,62±2,20 µg/g detectados en el bacalao

Notothenia criiceps capturados en costas del mar Antártico fueron similares a los encontrados en riñón de barbos de nuestro estudio, pero no así los niveles de Cu de $1,58 \pm 0,38$ $\mu\text{g/g}$ que indicaron una acumulación baja en hígado (Márquez *et al.*, 1998).

Según Sivieri *et al.* (1980), los niveles de 0,10-0,41 $\mu\text{g/g}$ de Pb hepático encontrados en varias especies de peces (Mullidae, Sparidae, Scomberidae, Triglidae, Pleuronoctidae, Anguillidae y Gobiidae) en las costas de Tuscan (Italia), deberían ser tenidos en cuenta porque indican cierta contaminación, pero que en todo caso son inferiores a los encontrados en este estudio.

5.3.- NIVELES DE METALES PESADOS EN MÚSCULO

La medición de los metales pesados en músculo de peces es lo más habitual a la hora de biomonitorizar la contaminación de metales en el medioambiente. La finalidad más práctica en peces de consumo humano es valorar la carga de contaminantes que pueda ingerir el hombre.

En nuestro estudio, los valores de metales pesados en músculo de barbos en ambos ríos son los más bajos de todos los órganos estudiados, por lo que el músculo es un órgano que juega un papel menor en la acumulación de estos compuestos. Así se ha podido comprobar por todos los autores que estudian la acumulación de metales pesados en peces.

En la siguiente tabla se expresan los valores medios de concentración de metales en músculo de los peces capturados en los diferentes muestreos en el río Tajo y Tiétar:

<i>Muestreo: Julio de 1996</i>					
Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)	Sexo
Media	2,31	8,24	32,55	220,63	12M
Desv. Est.	1,25	5,33	13,82	152,38	4H
Rango	0,54-4,38	2,15-20	18-62,22	79,68-563	n=16
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)	Sexo
Media	2,58	8,59	19,14	217,62	2M
Desv. Est.	2,03	4,19	5,13	61,56	12H
Rango	0,71-7,6	1,77-15,1	11,06-29,9	144,9-320,28	n=14
<i>Muestreo: Abril de 1997</i>					
Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)	sexo
Media	1,72	4,70	17,85	280,95	6M
Desv.est.	0,55	3,04	5,63	103,42	6H
Rango	0,91-3,05	0-9,77	7,23-25,08	226,84-411,94	n=12
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)	sexo
Media	1,67	7,41	29,23	142,51	2M
Desv.est.	0,51	3,18	12,09	40,44	3H
Rango	1,08-2,43	3,12-11,95	11,44-42,75	70,24-193,15	n=5
<i>Muestreo: Agosto de 1997</i>					
Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)	sexo
Media	5,48	3,59	21,10	227,80	6M
Desv.est.	2,14	1,63	14,83	83,45	4H
Rango	3,27-9,7	2,68-7	10,34-52,11	147,5-392	n=10
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (ng/g)	sexo
Media	4,00	2,48	23,42	261,06	6M
Desv.est.	2,10	0,75	15,63	110,45	4H
Rango	2,04-8,37	1,22-3,37	11-47,66	151,77-513,14	n=10

Tabla 163. Niveles medios de metales pesados en músculo de peces en diferentes tomas de los ríos Tajo y Tiétar en el P. N. de Monfragüe.

El músculo acumuló mayor cantidad de Zn, seguido de Cu, Pb y por último Cd. Este orden de acumulación es el mismo que el encontrado por autores en peces de otros países (Hamza-Chaffai *et al.*, 1996; Márquez *et al.*, 1998; Bobori y Economidis, 1996) así como autores que han estudiado los niveles en peces dentro de la Península Ibérica (Anadon *et al.*, 1984; Sánchez *et al.*, 1998).

Las concentraciones de **zinc** muscular en los peces de los diferentes muestreos se expresan en las siguientes tablas:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	2,31	1,25		julio-96	2,58	2,03
abril 97	1,72	0,55		abril 97	1,67	0,51
agosto 97	5,48	2,14		agosto 97	4,00	2,10
Promedio	2,85	1,91		Promedio	2,94	2,05

Tabla 164. Niveles medios de Zn ($\mu\text{g/g}$) en músculo de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

Las concentraciones de Zn en los diferentes muestreos fueron muy parecidas. Lo que más llama la atención es el descenso de los niveles en el muestreo de abril y el aumento que se produce en el muestreo de agosto de 1997. Sin embargo, la evolución de los niveles de metales pesados en los peces del río Tajo y Tiétar fue paralela y no existieron diferencias apreciables entre peces de ambos ríos.

Al comparar los valores encontrados en los diferentes muestreos, existen diferencias significativas entre los valores de Zn muscular de diferentes muestreos, concretamente entre julio-96 y agosto-97 y entre abril-97 y agosto-97 en ambos ríos.

En la siguiente gráfica podemos apreciar que la evolución de los valores medios de Zn en músculo es igual en ambos ríos:

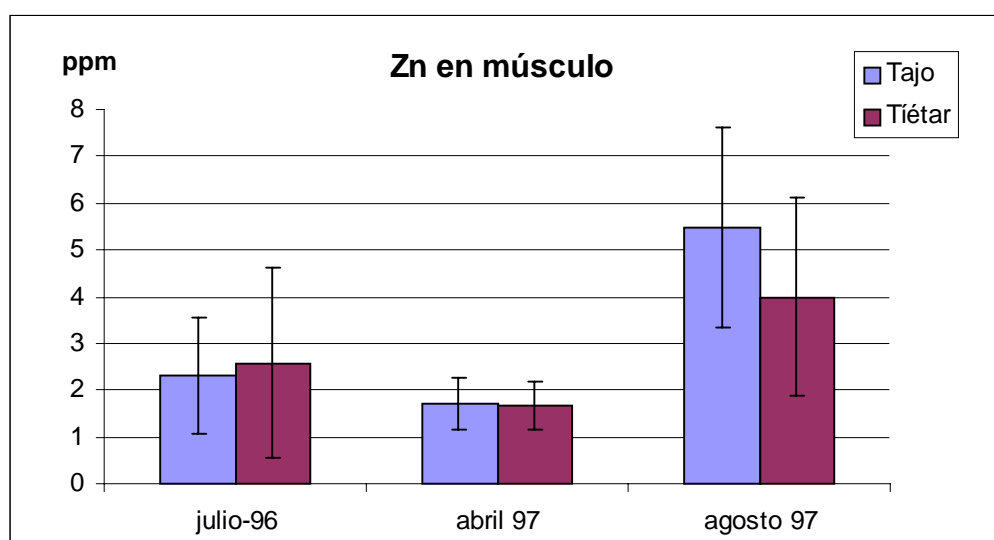


Figura 52. Niveles de Zn en músculo de peces en los diferentes muestreos

La variación más grande se produce en el último muestreo, donde los valores de Zn en músculo de peces de ambos ríos suben a casi el doble. Esta misma evolución es la que ha seguido el Zn en branquias e hígado.

Los niveles de **cadmio** se mantuvieron parecidos en el músculo de los peces de ambos ríos. Las concentraciones en los diferentes muestreos no variaron mucho, si bien, los valores tendieron a disminuir en cada muestreo, pero fue algo que ocurrió en ambos ríos.

En la siguiente tabla se encuentran reflejados los valores medios de concentración de Cd en músculo de peces en cada uno de los muestreos realizados:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	8,24	5,33		julio-96	8,59	4,19
abril 97	4,70	3,04		abril 97	7,41	3,18
agosto 97	3,59	1,63		agosto 97	2,48	0,75
Promedio	6,05	4,44		Promedio	6,20	4,20

Tabla 165. Niveles medios de Cd (ng/g) en músculo de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

El estudio estadístico reveló que existieron diferencias significativas entre los valores de Cd muscular encontrados en peces del Tiétar entre los muestreos de julio de 1996 con respecto a agosto de 1997 y abril con respecto a agosto de 1997.

Como vemos en la gráfica que representa los valores en músculo de forma temporal, los niveles de Cd disminuyeron en cada muestreo realizado, de tal forma que los peces capturados en agosto de 1997 presentaron la concentración más baja de Cd:

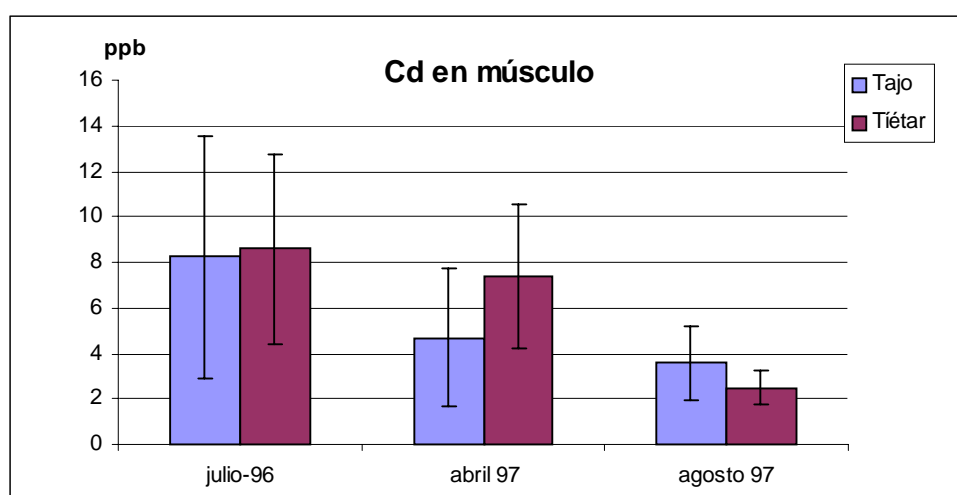


Figura 53. Niveles de Cd en músculo de peces en los distintos muestreos realizados.

La concentración de **plomo** en el músculo de los peces mostró una tendencia más irregular que los anteriores metales, por lo que existieron diferencias entre los niveles hallados en los peces de los diferentes ríos y en los diferentes muestreos, no encontrando una relación fácilmente observable.

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	32,55	13,82		julio-96	19,14	5,13
abril 97	17,85	5,63		abril 97	29,23	12,09
agosto 97	21,10	14,83		agosto 97	23,42	15,63
Promedio	25,22	13,67		Promedio	23,67	11,11

Tabla 166. Niveles medios de Pb (ng/g) en músculo de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

Como se puede apreciar, los valores medios de concentración de Pb en los diferentes muestreos varió ligeramente entre los dos ríos. En el río Tajo los valores encontrados en abril son ligeramente inferiores a los encontrados en julio de 1996 y agosto de 1997, sin embargo, en el río Tiétar, los valores de Pb muscular en el muestreo realizado en abril fueron mayores que en julio de 1996 y agosto de 1997.

Como se puede observar en la gráfica, la evolución que sigue los niveles de Pb en el músculo de peces del río Tajo no es la misma que lo encontrado en peces del río Tiétar:

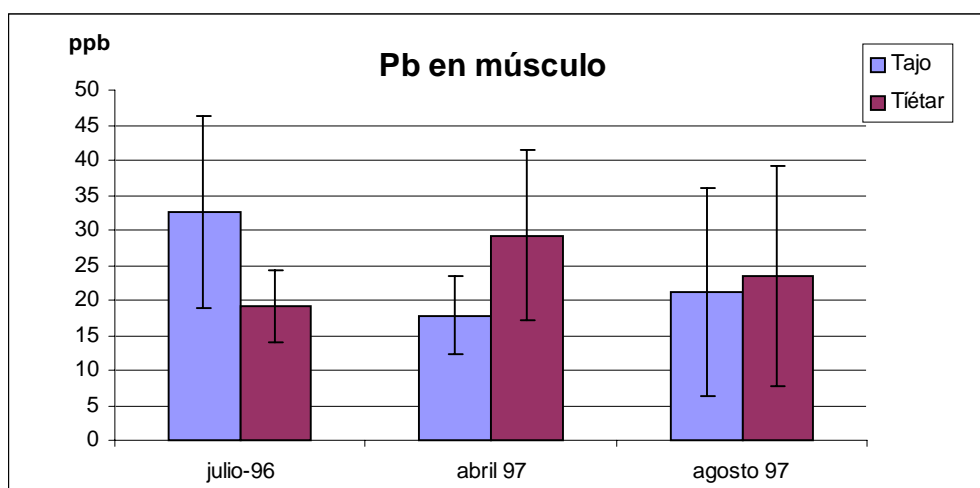


Figura 54. Niveles de Pb en músculo de peces de los diferentes muestreos.

El estudio estadístico reveló existieron diferencias significativas entre los valores de Pb muscular hallados en peces del Tajo, entre el muestreo de julio y abril y entre julio y agosto.

Los valores medios de **cobre** encontrados en músculo de peces se encuentran reflejados en las siguientes tablas:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	220,63	152,38		julio-96	217,62	61,56
abril 97	280,95	103,42		abril 97	142,51	40,44
agosto 97	227,80	83,45		agosto 97	261,06	110,45
Promedio	249,61	119,75		Promedio	211,36	85,04

Tabla 167. Niveles medios de Cu (ng/g) en músculo de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

Los valores medios no fueron muy diferentes entre los muestreos realizados, excepto la concentración media en músculo de peces del muestreo de abril en Tiétar que disminuyó su valor.

La gráfica siguiente muestra la evolución de los valores medios de Cu en músculo de peces de los diferentes muestreos:

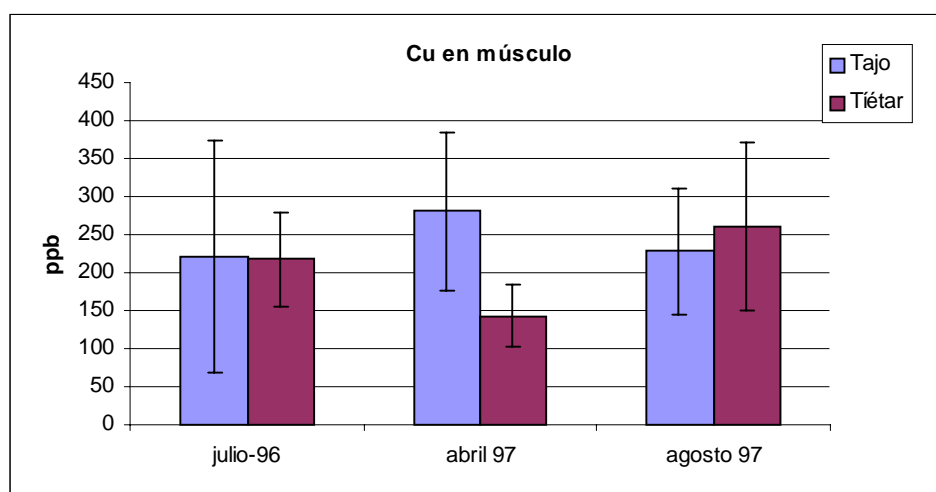


Figura 55. Niveles medios de Cu en músculo de peces en los diferentes muestreos realizados.

Lo más destacado fue el descenso producido en los niveles de Cu de los peces capturados en abril de 1997 en el río Tiétar y el aumento producido en peces del río Tajo.

Al realizar el estudio estadístico de los valores, se vieron diferencias significativas entre los niveles de Cu muscular de peces del Tiétar entre los muestreos de julio-96 y abril-97 y entre abril-97 y agosto-97.

DISCUSION

La siguiente tabla refleja los valores medios de metales pesados hallados en la musculatura de los barbos capturados en nuestro estudio:

Tajo	Zn ($\mu\text{g/g}$)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu ($\mu\text{g/g}$)
Julio 96	2,31	8,24	32,55	0,22
Abril 97	1,72	4,70	17,85	0,28
Agosto 97	5,48	3,59	21,10	0,23
Tiétar	Zn ($\mu\text{g/g}$)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu ($\mu\text{g/g}$)
Julio 96	2,58	8,59	19,14	0,22
Abril 97	1,67	7,41	29,23	0,14
Agosto 97	4,00	2,48	23,42	0,26

Tabla 168. Niveles medios de metales pesados en músculo de barbos del P. N. de Monfragüe

Sin duda alguna, el músculo es un órgano que acumula bajas cantidades de metales pesados, hecho importante observado por casi todos los autores (Márquez *et al.*, 1998; Anadon *et al.*, 198).

La información recogida es mucho más amplia cuando se trata de comparar valores de metales pesados en músculo. En España son varios los autores que midieron la carga metálica en músculo.

Fernández-Aceytuno *et al.* (1984) recogieron varias especies de peces en el Parque Nacional de Doñana y les midieron los niveles de metales pesados, llegando a la conclusión de que existía una contaminación por tales compuestos:

Pez	Zn	Cd	Pb	Cu
Carpa	44,77 \pm 11,77	0,1 \pm 0,04	1,10 \pm 0,3	1,57 \pm 0,57
Lisa	24,37 \pm 6,6	0,1 \pm 0,02	1,32 \pm 0,26	1,97 \pm 0,93
Anguila	36,63 \pm 2,67	0,1 \pm 0,03	1,03 \pm 0,33	0,81 \pm 0,62
Pejerrey	63,97	0,253	2,35	2,27

Tabla 169. Niveles de metales pesados ($\mu\text{g/g}$) en peces del Parque Nacional de Doñana.

Estos valores son del orden de más de 10 veces los encontrados en nuestro estudio.

Valores de Zn parecidos a los hallados en nuestro estudio fueron encontrados por Galindo *et al.* (1986) en el músculo de atún rojo (*Thunnus thynnus*) capturados en costas de Tenerife (8,03 \pm 1,9 $\mu\text{g/g}$). Sin embargo, para el resto de los metales las concentraciones fueron claramente superiores (0,259 \pm 0,078 $\mu\text{g/g}$ de Cd; 0,347 \pm 0,248 $\mu\text{g/g}$ de Pb y 1,01 \pm 1,054 $\mu\text{g/g}$ de Cu). En este estudio se demostró

que existía una gran variabilidad de los datos encontrados, como nos ocurrió a nosotros.

Rico *et al.* (1987) estudiaron los niveles de metales pesados en músculo de varias especies de peces del Parque Nacional de Doñana en los años 1983 a 1986. Los valores encontrados en los barbos muestreados se encontraron muy por encima de los encontrados en este estudio, pero el patrón de acumulación fue igual.

año	Zn	Cd	Pb	Cu
1984	15,83	0,1	0,69	0,85
1985	10,61	0,06	1,33	0,74

Tabla 170. Metales pesados (ppm) en músculo de barbos (*Barbus barbus*) del Parque Nacional de Doñana

Rico *et al* estudiaron también los niveles de metales pesados en otras especies de peces en las que los valores encontrados en músculo fueron las siguientes:

Zinc				
	1983	1984	1985	1986
<i>Cyprinus carpio</i>	20,78	15,45	16,20	14,59
<i>Mugil capito</i>	11,78	16,62	10,76	9,85
<i>Anguilla anguilla</i>	28,86	20,77	21,24	17,15
Cadmio				
	1983	1984	1985	1986
<i>Cyprinus carpio</i>	0,065	0,075	0,07	0,065
<i>Mugil capito</i>	0,07	0,08	0,07	0,08
<i>Anguilla anguilla</i>	0,12	0,13	0,09	0,91
Plomo				
	1983	1984	1985	1986
<i>Cyprinus carpio</i>	0,63	0,65	0,79	1,04
<i>Mugil capito</i>	0,62	0,71	1,94	0,95
<i>Anguilla anguilla</i>	1,14	0,81	0,08	0,91
Cobre				
	1983	1984	1985	1986
<i>Cyprinus carpio</i>	1,04	1,46	0,45	1,0
<i>Mugil capito</i>	1,13	0,97	0,8	0,74
<i>Anguilla anguilla</i>	1,42	1,17	0,91	0,83

Tabla 171. Niveles de metales pesados ($\mu\text{g/g}$) en músculo de peces del Parque Nacional de Doñana.

Según los autores, los niveles de los distintos metales pesados en peces no se diferencian con respecto al tiempo.

En estas especies estudiadas, los niveles de Zn están del orden de 5-10 veces mayores que los encontrados por nosotros. En el caso de Cd y Pb, los valores son muy superiores y para el Cu representaron un incremento de entre 2-5 veces el encontrado en músculo de barbos de nuestro estudio.

Otros autores que observaron una gran variabilidad intra-específica en la concentración de metales pesados en músculo fueron Hernández *et al.* (1992), que encontraron valores medios de Cd entre 10 y 50 ng/g en ejemplares del pez *Mullus sp.*, capturados en varios puntos de la costa Mediterránea, aunque algunos valores fueron mayores de 200 ng/g tejido fresco. También midieron valores de Pb entre nd y 550 ng/g en músculo del pez *Mullus sp.*

Valores similares de Zn y Cu, pero no así en el Cd y Pb, encontraron Díaz *et al.* (1994) en diferentes peces capturados de la costa de Santa Cruz de Tenerife. En la siguiente tabla se refieren los datos hallados:

Pez	Zn	Cd	Pb	Cu
<i>Abudefduf luridus</i>	5,43±2,01	0,08±0,04	1,57±0,87	1,40±0,75
<i>Chromis limbatus</i>	4,75±2,04	0,19±0,08	2,0±1,2	2,31±1,38
<i>Monacanthus hispidus</i>	5,86±1,34	0,06±0,02	1,07±0,25	1,23±0,51
<i>Pagellus acarne</i>	4,78±0,95	0,09±0,02	0,75±0,11	1,5±0,9
<i>Pagellus erythrinus</i>	4,78±0,95	0,09±0,02	0,75±0,11	0,6±0,1
<i>Pseudocaranx dentex</i>	6,0±2,82	0,13±0,02	1,37±0,4	2,1±1,1
<i>Sarpa salpa</i>	6,17±1,35	0,07±0,02	0,92±0,46	1,2±0,8
<i>Sparisoma cretensis</i>	5,26±5,26	0,77±0,03	1,43±0,76	1,6±1,1

Tabla 172. Niveles de metales pesados (ppm) en peces de la costa de Santa Cruz de Tenerife

Los niveles de Cd y Pb encontrados por Pastor *et al.* (1994) siguen siendo elevados con respecto a los hallados en nuestro estudio:

Pez	Cd	Pb
<i>Mullus barbatus</i>	49	402
<i>Sardina pilchardus</i>	43	105
<i>Micromessistius poutassou</i>	67	960
<i>Thunnus thynnus</i>	43	163
<i>Engraulis encrasicolus</i>	53	543
<i>Lithognathus mormirus</i>	19	90
<i>Maena</i>	19	90
<i>Xiphias gladius</i>	13	53
<i>Trisopterus fuscus</i>	33	108
<i>Merluccius merluccius</i>	24	114

Tabla 173. Niveles medios de Cd y Pb (ng/g) en peces capturados en varios puntos de la costa del Mediterráneo español.

Estos autores atribuyeron valores tan elevados de metales pesados a las descargas contaminantes procedentes de zonas agrícolas e industriales.

Sánchez-Galán *et al.* (1998) estudiaron los niveles de Pb, Cd y Cu en músculo de la trucha de lago (*Salmo trutta*) y anguila europea (*Anguilla anguilla*) del río Ferreiras y del río Raíces y los niveles de metales pesados en músculo de trucha y anguila fueron:

Pez	Cd	Pb	Cu
Trucha	0,006±0,006	0,013±0,007	0,256±0,071
Anguila	0,013±0,009	0,023±0,014	0,210±0,151

Tabla 174. Niveles de Cd, Pb y Cu ($\mu\text{g/g}$) en peces de zonas impolutas del río Ferreiras (Asturias).

Los niveles encontrados en zonas no contaminadas del río Raíces fueron ligeramente menores. Pero lo más importante de este estudio es que los valores se parecen mucho a los encontrados por nosotros en musculatura de barbos de los ríos Tajo y Tiétar.

En otros países también se ha medido la concentración de metales pesados en músculo de peces.

En Italia, Sivieri *et al.* (1980) midieron entre 0,10-0,52 $\mu\text{g/g}$ de plomo en varias especies de peces de la costa de Tuscan, considerando que no alcanzaban los máximos permitidos en su país, pero que eran valores ya algo elevados en musculatura.

Valores superiores a los encontrados en este estudio fueron los encontrados por Ashraf y Jaffar (1988). Midieron concentraciones medias de 0,156-0,416 $\mu\text{g/g}$ de Cu, entre 0,383-3,490 $\mu\text{g/g}$ de Zn y entre 0,022-0,129 $\mu\text{g/g}$ de Pb en varias especies de peces del mar de Arabia admitiendo que las especies de estudio no poseían riesgo alguno para el consumidor ya que los niveles se mantenían muy por debajo de los niveles de seguridad según la NRC, 1980.

Los niveles de Zn en músculo siguieron la tendencia de los niveles de Zn branquial, es decir, disminuyeron en músculo de peces de ambos ríos en el muestreo realizado en abril y aumentaron en el muestreo realizado en agosto. Dicho comportamiento no se produjo con los demás metales pesados.

La relación entre los niveles de metales pesados en aguas y la concentración de estos elementos en músculo de peces no está nada clara, en el sentido que no coinciden la máxima o mínima concentración de los metales en aguas con las concentraciones máximas o mínimas en músculo. De forma general, el músculo no es un órgano de acumulación masiva de metales pesados y son muy pocos los autores que observan una correlación de algún metal entre sus contenidos en agua y en músculo.

5.4.- NIVELES DE METALES PESADOS EN RIÑÓN

La concentración media de metales pesados se encuentra relacionada en la siguiente tabla:

<i>Muestreo: Julio de 1996</i>					
Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)	sexo
Media	15,64	269,73	42,85	1,70	12M
Desv. est.	6,45	189,28	18,34	0,81	4H
Rango	3,54-23,9	94,35-605,9	5,58-66,58	0,14-2,88	n=16
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)	sexo
Media	16,16	369,10	55,47	1,53	2M
Desv. est.	7,78	204,55	13,51	0,96	12H
Rango	5,76-27	102,47-699,43	32,99-82,3	0,14-3,07	n=14
<i>Muestreo: Abril de 1997</i>					
Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)	sexo
Media	9,89	250,7	35,5	1,4	6M
Desv. est.	1,32	149,3	13,0	0,6	6H
rango	7,53-11,36	46,79-464	11,36-57,88	0,77-2,88	n=12
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)	sexo
Media	16,08	403,66	97,82	1,54	2M
Desv. est.	9,49	554,80	61,36	0,38	3H
rango	8,46-34,35	324,38-1378	43,89-555,51	1,06-2,05	n=5
<i>Muestreo: Agosto de 1997</i>					
Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)	sexo
Media	27,81	99,548	78,41	1,06	2M
Desv. est.	27,72	77,2480876	58,44	1,09	2H
rango	3,8-60,53	49,51-213,17	26,33-143,12	0,35-2,32	n=4
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)	sexo
Media	19,09	321,28	88,46	3,08	5M
Desv. est.	5,86	259,47	71,03	2,76	4H
rango	10,81-31,66	57,63-882,61	33,39-281,89	0,36-7,68	n=9

Tabla 175. Niveles de metales pesados en riñón de peces capturados en el P. N. de Monfragüe.

La acumulación de metales pesados en riñón siguió el siguiente orden: Zn>Cu>Cd>Pb. Esta misma relación de acumulación se ha encontrado en otros estudios.

La concentración de **zinc** en riñón fue la más elevada de todos los metales pesados. Los valores de concentración media de Zn en riñón en los distintos muestreos están reflejados en la siguiente tabla:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	15,64	6,45		julio-96	16,16	7,68
abril 97	9,89	1,32		abril 97	16,08	9,49
agosto 97	27,81	27,72		agosto 97	19,09	5,86
Promedio	15,17	11,40		Promedio	17,28	7,52

Tabla 176. Niveles medios de Zn ($\mu\text{g/g}$) en riñón de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

Existe, como hemos visto para todos los órganos, una gran variabilidad de los datos encontrados. Los valores de Zn fueron muy parecidos entre los muestreos realizados en el río Tiétar, no así en el río Tajo donde disminuyeron en abril y volvieron a aumentar en agosto de 1997, si bien es de destacar en este último muestreo la altísima variabilidad (100%) encontrada debido al amplio rango observado en los valores ($3,8\text{-}60,53 \mu\text{g/g}$). Sin embargo, la concentración media de todos los muestreos se asemejó mucho entre los peces de los dos ríos.

En la siguiente gráfica podemos comparar la evolución de los niveles de Zn en riñón de peces en los diferentes muestreos realizados:

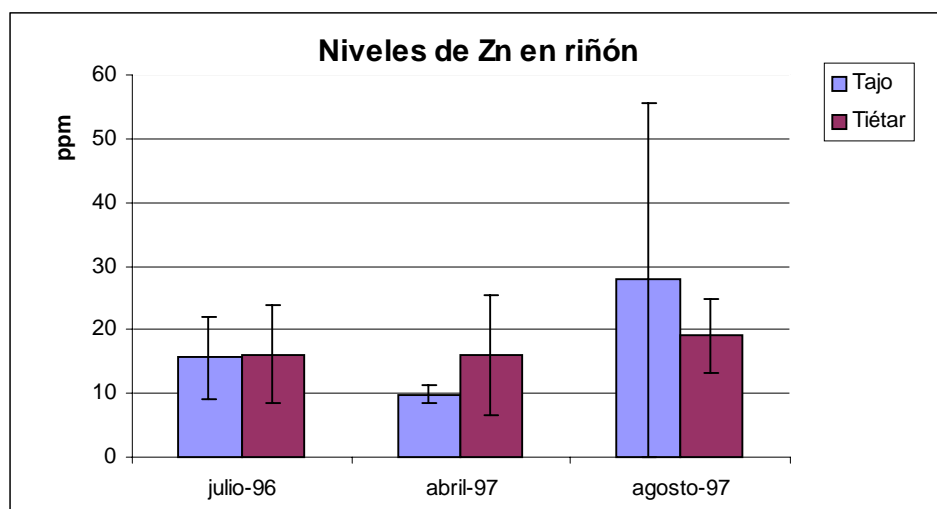


Figura 56. Niveles medios de Zn en riñón de peces en diferentes muestreos.

El estudio estadístico evidenció diferencias significativas entre los valores de Zn renal en peces del río Tajo del muestreo de julio-96 con respecto al de abril-97.

La concentración de **cadmio** fue relativamente elevada, y comparándola con los demás órganos estudiados, el riñón fue el órgano que más acumuló Cd. La concentración de Cd se mostró dispersa entre los distintos peces, obteniéndose así valores elevados de desviación estándar, y claro está el rango también es amplio.

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	269,73	189,28		julio-96	369,10	204,55
abril 97	250,7	149,3		abril 97	403,66	554,8
agosto 97	99,548	77,25		agosto 97	321,28	259,47
Promedio	241,02	170,54		Promedio	381,38	286,02

Tabla 177. Niveles medios de Cd (ng/g) en riñón de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

La concentración media de Cd en riñón de peces en los distintos muestreos se mantuvo parecida en cada uno de los ríos. En el río Tajo llama la atención la bajada que se produjo en los niveles de Cd renal en los peces recogidos en agosto de 1997. Bajada que también se repitió en peces recogidos en el río Tiétar, si bien, no fue tan acusada. Entre ríos, los valores encontrados en peces del río Tiétar fueron mayores que los encontrados en peces del Tajo.

En la evolución temporal se observa que el comportamiento del Cd no es el mismo para peces del Tajo que del Tiétar.

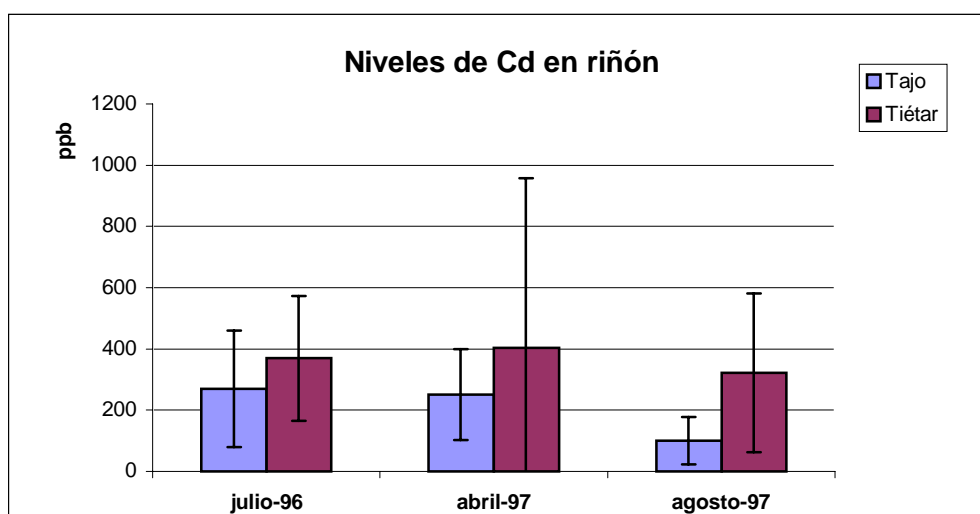


Figura 57. Niveles medios de Cd en riñón de peces capturados en los distintos muestreos.

Al analizar los datos estadísticamente, comprobamos que no existieron diferencias significativas entre los valores hallados en peces de diferentes muestreos ni en peces de ambos ríos.

Los niveles de **plomo** encontrados en riñón se expresan en la siguiente tabla:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	50,11	10,57		julio-96	55,47	13,51
abril 97	35,55	13,04		abril 97	97,32	61,36
agosto 97	78,41	58,44		agosto 97	88,46	71,03
Promedio	44,85	27,4		Promedio	73,9	51,83

Tabla 178. Niveles medios de Pb (ng/g) en riñón de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

Existen diferencias en los niveles de concentración del Pb en cada muestreo. Así en el río Tajo, los valores disminuyeron en abril y aumentaron en agosto de 1997. En el río Tiétar aumentaron en abril y disminuyeron ligeramente en agosto de 1997. En todo caso, la concentración de Pb en el riñón fue mayor en peces del río Tiétar que en el río Tajo.

Llama la atención que en los últimos muestreos, los de valores medios más elevados, la variabilidad observada fue mucho mayor que en los demás muestreos.

En la evolución temporal, se observa mejor la tendencia que siguió la concentración renal de Pb en los diferentes muestreos de ambos ríos:

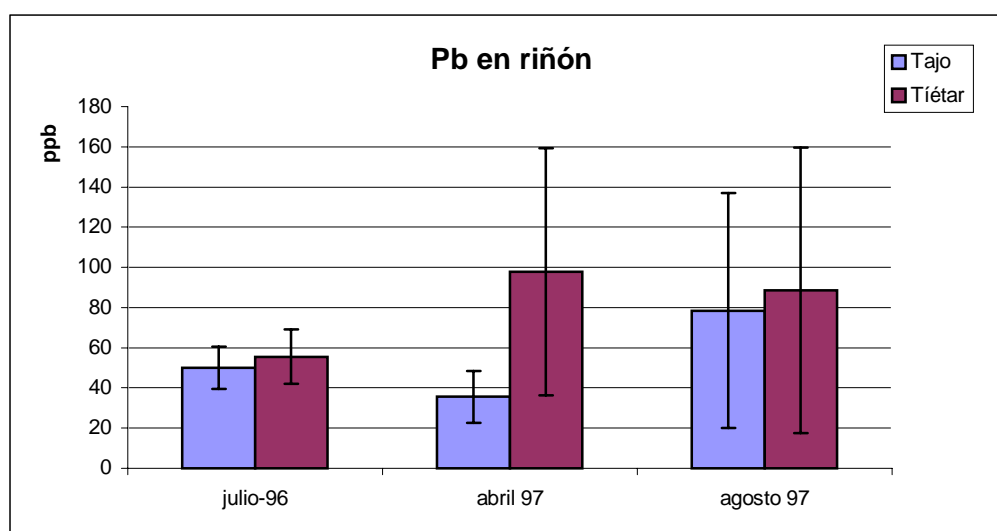


Figura 58. Niveles de Pb en riñón de peces de diferentes muestreos.

A pesar de las diferencias que poseen los valores medios, al analizar los datos se pudo comprobar que no existieron diferencias significativas.

El **cobre** mostró concentraciones más parecidas entre los peces de los muestreos y entre peces de ambos ríos. Los valores medios son relativamente bajos y se encuentran detallados en la siguiente tabla:

Tajo	Media	Desv. est.		Tiétar	Media	Desv. est.
julio-96	2,04	0,38		julio-96	1,53	0,96
abril 97	1,39	0,63		abril 97	1,54	0,38
agosto 97	1,06	1,09		agosto 97	3,08	2,76
Promedio	1,52	0,77		Promedio	2,05	1,83

Tabla 179. Niveles medios de Cu ($\mu\text{g/g}$) en riñón de peces de los diferentes muestreos realizados en los ríos Tajo y Tiétar.

Como se puede ver, en el río Tajo, la concentración de Cu fue disminuyendo en los muestreos, cosa que ocurrió lo contrario en peces del río Tiétar.

La gráfica nos muestra que la evolución de los niveles de Cu en riñón es más o menos constante entre los diferentes muestreos, destacando tan solo la subida de concentración que se produjo en peces muestreados en agosto de 1997 en el río Tiétar:

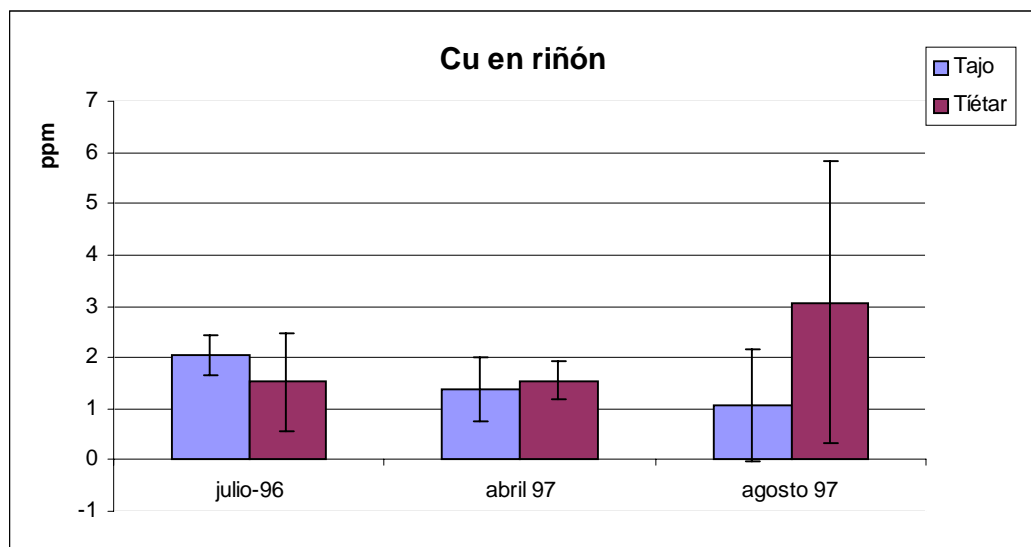


Figura 59. Niveles de Cu en riñón de peces de diferentes muestreos.

A pesar de estas pequeñas diferencias, el estudio estadístico reveló que no existieron diferencias estadísticamente significativas.

DISCUSIÓN

En la tabla siguiente se reflejan los valores de metales pesados encontrados en riñón de barbos capturados en nuestro estudio

Tajo	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)
<i>Julio 96</i>	18,41	269,73	50,11	2,04
<i>Abril 97</i>	9,89	250,7	35,55	1,39
<i>Agosto 97</i>	27,81	99,548	78,41	1,06
Tiétar	Zn (µg/g)	Cd (ng/g)	Pb (ng/g)	Cu (µg/g)
<i>Julio 96</i>	21,34	369,10	55,47	1,53
<i>Abril 97</i>	16,08	403,66	97,32	1,54
<i>Agosto 97</i>	19,09	321,28	88,46	3,08

Tabla 180. Niveles medios de metales pesados en riñón de barbos del P. N. de Monfragüe

Existe una escasez relativa de estudios que hablen de la acumulación de metales pesados en riñón de peces, entendible porque se trata de un órgano generalmente no comestible y los pocos trabajos que se han revisado versan sobre toxicocinética de metales pesados y la relación con el riñón.

En Italia, Sivieri *et al.* (1980) midieron entre 0,10-0,42 µg/g de plomo en riñón de varias especies de peces de la costa de Tuscan, considerando que no alcanzaban los máximos permitidos en su país, pero que eran valores ya algo elevados en el riñón.

Márquez *et al.* (1998) midieron los niveles de Zn y Cu en riñón del bacalao *Notothenia cruceps* capturados en costas del mar Antártico. Los valores para el Zn fueron de 23,69±10,16 µg/g y 1,72±0,56 µg/g. Dichos niveles son muy similares a los encontrados en riñón de barbos de nuestro estudio. Los autores comentaron que dichos niveles se encuentran dentro de la normalidad con lo que no suponen riesgo en absoluto para el consumo.

Los niveles de metales pesados se relacionaron con los niveles de metales pesados en branquia en la evolución de los mismos. Así, los niveles de Zn disminuyeron en el muestreo de abril, y luego aumentaron en agosto, como sucedió en el Zn branquial. Los niveles de Cd en riñón de peces del río Tiétar también aumentaron, como ocurrió con los niveles de Cd branquial. También sucedió que los niveles máximos de Pb en branquias ocurrieron en peces del río Tiétar en el muestreo de abril, como sucedió con los niveles de Pb renal. Sin embargo, los niveles de Cu renal no aumentaron o disminuyeron al igual que lo hizo el Cu en branquias.

5.5.-PATRON DE ACUMULACIÓN DE METALES PESADOS EN ORGANOS

En nuestro estudio, hemos analizado los niveles de metales pesados disueltos y totales en el medio acuático del P. N. de Monfragüe, así como los niveles de los metales pesados acumulados por varios órganos de los peces que habitan en él.

El estudio de los niveles de metales pesados en diversos órganos nos dará información sobre la contaminación en peces y una información adicional sobre aspectos de la toxicocinética de los metales estudiados.

En nuestro caso, mostraremos los niveles globales medios de los metales pesados acumulados en los distintos órganos, de tal forma que nos aporte una visión más general sobre la acumulación de los metales pesados en peces.

Acumulación de Zinc en órganos de los barbos

Como se muestra en la figura, la acumulación de Zn ocurrió sobre todo en hígado y branquias, un poco menos en riñón y se concentró de manera escasa en el músculo.

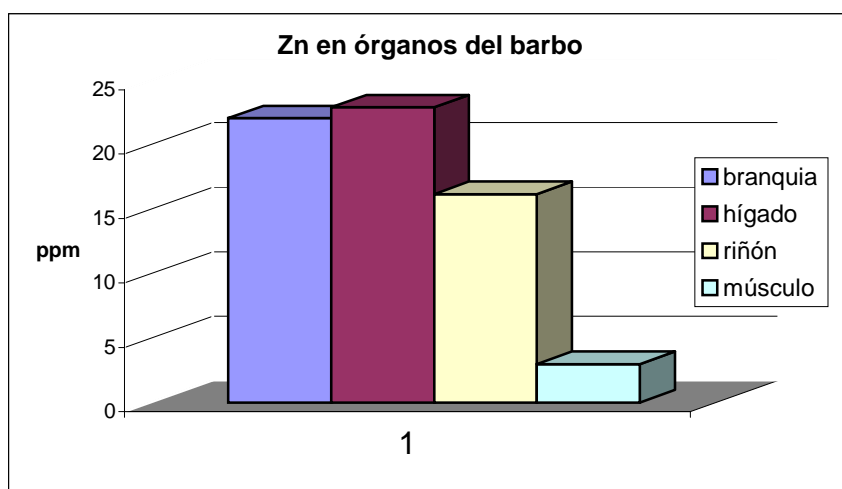


Figura 60. Niveles medios de Zn en distintos órganos de barbos recogidos en el Parque Natural de Monfragüe.

Los niveles medios del Zn en $\mu\text{g/g}$ fueron $22,05 \pm 12,44$ en branquias, $22,9 \pm 10,45$ en hígado, $16,17 \pm 9,73$ en riñón y $2,97 \pm 2,05$ en músculo.

Existen varios autores que concuerdan en este patrón de acumulación de Zn. Köck y Bucher (1997) estudiaron la acumulación del Zn en la trucha arco iris tras exposición de sulfato de Zn y el órgano que más acumuló Zn fue la branquia, seguido del riñón e hígado cuya acumulación fue parecida. En condiciones naturales, un estudio de acumulación de metales pesados en varias especies de

peces capturadas en lagos de la frontera entre Noruega y Rusia, también demostró que la mayor concentración de Zn ocurrió en branquias, menos en hígado y muy poco en músculo (Amundsen *et al.*, 1977).

Acumulación de cadmio en órganos de barbos

Se acepta generalmente que las branquias son el órgano principal de absorción de metales pesados en el medio acuático, sin embargo no es órgano de mayor acumulación de todos los metales.

En nuestro caso, el riñón acumuló la mayor concentración de Cd, seguido del Cu, menor acumulación tuvo en branquias y muy poca en músculo.

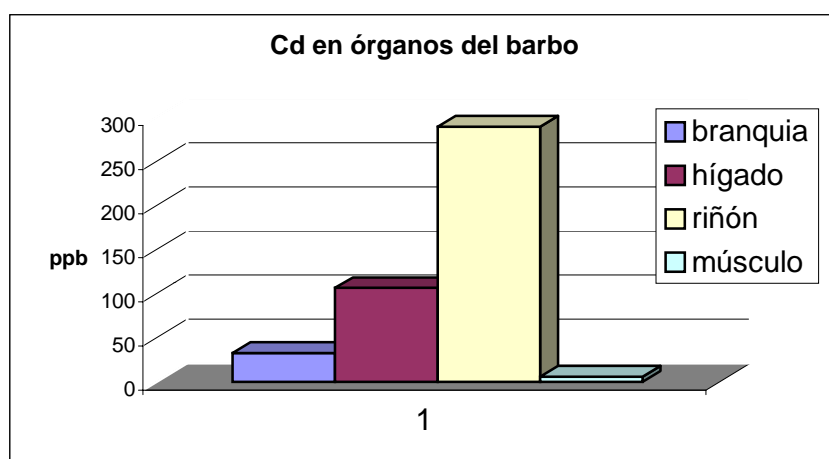


Figura 61. Niveles medios de Cd en distintos órganos de barbos recogidos en el Parque Natural de Monfragüe.

La concentración media de Cd en los peces capturados en el Parque Natural de Monfragüe en este estudio en ng/g fue de $32,81 \pm 90,28$ en branquias, $106,48 \pm 154,34$ en hígado, $289,85 \pm 242,15$ en riñón y $6,06 \pm 4,29$ en músculo.

Melgar *et al.* (1997) expusieron a truchas arco iris a varias concentraciones subletales (10, 25 y 50 ppb) de cloruro de Cd durante 21 días, observando que el riñón fue el órgano que más acumuló Cd, seguido de hígado y branquias, mientras que el músculo fue un órgano de baja acumulación de Cd. Un patrón parecido de acumulación ocurrió en truchas arco iris a las que se administró una dieta contaminada con Cd, en las que el hígado fue el órgano que más acumuló Cd, seguido del riñón y branquia y muy poco en músculo (Handy, 1993).

Amundsen *et al.* (1977) estudiaron los niveles de Cd en varias especies de peces capturadas en lagos de la frontera entre Noruega y Rusia y evidenciaron que el hígado fue el órgano que más Cd acumuló.

Acumulación de plomo en órganos de barbos

Existen pocos estudios sobre acumulación de Pb en varios órganos de peces, y la literatura consultada suele medir la contaminación del Pb en músculo, por lo que la contrastación de los datos obtenidos es reducida.

El patrón de acumulación del Pb observado en este estudio estuvo claro en el sentido que la branquia y el hígado acumularon gran cantidad de Pb, mientras que el riñón y el músculo acumularon muy poca cantidad.

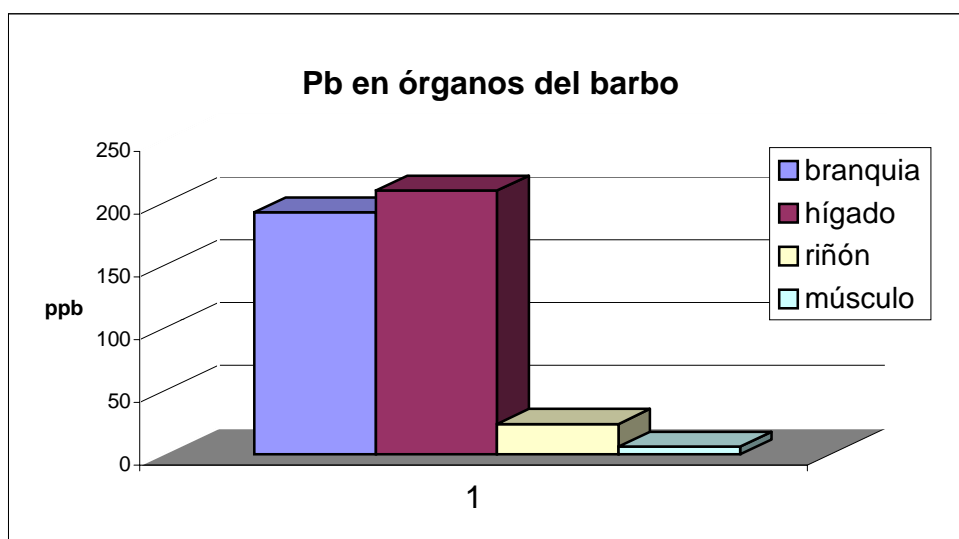


Figura 62. Niveles medios de Pb en distintos órganos de barbos recogidos en el Parque Natural de Monfragüe.

La concentración media de Pb en los peces capturados en el Parque Natural de Monfragüe en este estudio en ng/g fue de $192,47 \pm 178,46$ en branquias, $209,82 \pm 828,19$ en hígado, $58,64 \pm 43,04$ en riñón y $24,02 \pm 12,78$ en músculo.

En un estudio realizado por Sánchez *et al.* (1998) en poblaciones naturales de trucha de río y anguila europea observaron que el Pb se acumuló preferiblemente en hígado y mucho menos en músculo. Anadon *et al.* (1984) también observó en la trucha de río que el Pb se acumuló en hígado, después en branquia y muy poco en músculo.

Acumulación de cobre en órganos del barbo

El patrón de acumulación de Cu evidenció que se acumulaba básicamente en hígado, bastante menos en riñón y muy poco en branquia y músculo. Como sabemos, el Cu es un metal esencial para el organismo y su concentración se encuentra regulada bioquímicamente. No obstante, si existe una cantidad excesiva en el organismo, se une a enzimas específicos (metalotioneínas),

presentes sobre todo en hígado, por lo que no es de extrañar que este órgano tenga capacidad para acumular más Cu que el resto de los órganos.

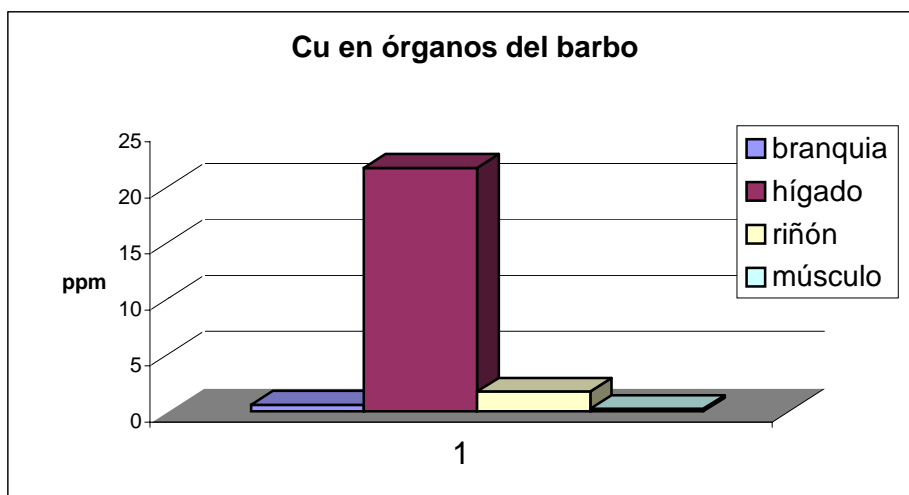


Figura 63. Niveles medios de Cu en distintos órganos de barbos recogidos en el Parque Natural de Monragüe.

Grosell *et al.* (1998) estudió el metabolismo del Cu en la trucha arco iris al exponerlas a una concentración de 20 $\mu\text{g/L}$ de Cu, observando que el hígado acumuló una concentración elevada de Cu, luego siguió el riñón y por último la branquia. En otros estudios sobre poblaciones naturales, como el realizado por Amundsen *et al.* (1977) en varias especies de peces capturadas en lagos de la frontera entre Noruega y Rusia, se evidenció que el contenido de Cu fue siempre mayor en hígado que branquia y músculo.

Como hemos podido apreciar, en general se estudian los niveles de metales pesados en músculo, por su interés para indicar posible contaminación para el ser humano o se suele estudiar el contenido de metales pesados en el pez entero para indicar la posible incidencia de los metales pesados en poblaciones naturales. De esta forma existen relativamente pocos estudios como el realizado por nosotros que aborden el estudio de todos los metales pesados en varios órganos y si lo hacen, suelen dar sus valores en relación a la materia seca en vez de materia húmeda, como se ha hecho en nuestro estudio, por lo que las comparaciones numéricas no se pueden realizar.

Sin embargo, los pocos estudios consultados que analizan la concentración de metales pesados de la misma forma que nosotros, concuerdan con los hallazgos de este estudio, en lo que se refiere al patrón de acumulación de los metales pesados estudiados.

RELACIÓN ENTRE EL CONTENIDO DE METALES PESADOS EN ORGANOS Y DATOS BIOMÉTRICOS DEL PEZ

En nuestro estudio, en ningún caso encontramos correlaciones significativas entre los valores de concentración de metales pesados y los datos biométricos de los peces del Parque Natural de Monfragüe.

	BRANQUIAS				HIGADO			
	Zn	Cd	Pb	Cu	Zn	Cd	Pb	Cu
LONGITUD	0,046	-0,336	0,020	0,024	0,211	-0,440	-0,165	0,031
ALTURA	0,066	-0,353	0,052	0,017	0,236	-0,392	-0,258	-0,033
PESO	0,104	-0,371	-0,005	-0,041	0,306	-0,406	-0,208	0,015
	RIÑÓN				MÚSCULO			
	Zn	Cd	Pb	Cu	Zn	Cd	Pb	Cu
LONGITUD	-0,164	-0,154	-0,222	-0,072	0,107	-0,136	0,115	-0,056
ALTURA	-0,121	-0,256	-0,249	-0,176	0,169	-0,190	0,141	0,157
PESO	-0,110	-0,176	-0,229	-0,056	0,125	-0,183	0,120	0,014

Tabla181. Coeficientes de correlación (r^2) entre niveles de metales pesados en órganos y datos biométricos de los barbos estudiados.

La mayoría de los autores no encuentran correlaciones significativas entre los niveles de metales pesados en órganos y datos biométricos de los peces (Galindo *et al.*, 1986; Hernández *et al.*, 1992; Díaz *et al.*, 1994; Pastor *et al.*, 1994; Bobori y Economidis, 1996; Amundsen *et al.*, 1997). Allen-Gil *et al.* (1997) no encontraron correlación alguna entre niveles de Zn, Cd, Pb y Cu y la longitud en la trucha de lago (*Salvelinus namaycush*) y el timalo (*Thymallus arcticus*). Benemariya *et al.* (1991) tampoco encontraron correlación entre los niveles de Zn muscular y la longitud del pez.

Algunos autores han demostrado una relación negativa entre la concentración de Zn en tejidos y la longitud del pez (Cross *et al.*, 1973; Giesy y Wiener, 1977; Murphy *et al.*, 1978; Amundsen *et al.*, 1977).

En nuestro estudio lo que más llama la atención es que existe una relación negativa, aunque muy baja, entre los niveles de metales pesados en riñón y los datos referentes a longitud, altura y peso de los peces.

Vinikour *et al.* (1980) midieron concentraciones de metales pesados en ejemplares enteros de *Lepomis macrochirus*, *Pomoxis nigromaculatus*, *Ictalurus melas* y *Perca flavescens* y no hallaron correlaciones con el tamaño de los peces. Es más, encontraron correlaciones más bien negativas, como ocurrió en nuestro estudio con varios metales pesados. Los autores explicaron que una primera razón pudiera ser porque los peces estaban en fase de crecimiento y la formación de tejido es más rápida que la redistribución de los metales pesados en los

tejidos. Tal puede ser el caso de los barbos capturados en nuestro estudio que poseen tamaños relativamente pequeños, por lo que están en clara fase de crecimiento.

Lo normal es que se establezcan correlaciones entre los valores de metales pesados y valores biométricos sin transformar, pero algunos autores (Galindo *et al.*, 1986; Díaz *et al.*, 1994) observaron que algunas correlaciones muy pobres mejoraban si los datos se transformaban logarítmicamente.

De todas formas, tan solo mejoraban los coeficientes de correlación, pero salvo algún caso puntual no encontraron correlaciones significativas entre el logaritmo de la concentración de metales pesados y el logaritmo de los datos biométricos. En nuestro caso, al transformar los datos a logaritmo de los datos conseguimos mejorar un poco los coeficientes de correlación, pero no encontramos correlaciones significativas.

RELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE METALES PESADOS Y EL SEXO DE LOS BARBOS

Como se puede observar en la siguiente tabla, los niveles de metales pesados son casi iguales entre machos y hembras no encontrándose diferencias significativas entre los niveles de metales pesados en branquias:

		Promedio	Desv. Est.
Zn ($\mu\text{g/g}$)	M	24,57	11,08
	H	20,67	10,19
Cd (ng/g)	M	5,68	4,22
	H	5,88	4,49
Pb (ng/g)	M	190,04	165,66
	H	195,13	194,41
Cu (ng/g)	M	622,08	265,50
	H	658,72	336,86
	H	513,18	166,90

Tabla 182. Niveles de metales pesados en branquias de peces, separado por sexos

En el caso de los metales pesados encontrados en el hígado, tampoco existieron diferencias significativas entre los niveles de metales pesados entre diferentes sexos.

		Promedio	Desv. Est.
Zn ($\mu\text{g/g}$)	M	24,10	9,02
	H	21,84	9,83
Cd (ng/g)	M	93,96	89,76
	H	96,31	61,92
Pb (ng/g)	M	100,47	109,98
	H	110,76	86,35
Cu ($\mu\text{g/g}$)	M	20,33	17,34
	H	20,76	12,27
	H	498,40	139,98

Tabla 183. Niveles de metales pesados en hígado de peces, separado por sexos

Tampoco se encontraron diferencias significativas en los niveles de metales pesados encontrados en músculo de diferentes sexos:

		Promedio	Desv. Est.
Zn ($\mu\text{g/g}$)	M	3,36	2,16
	H	2,55	1,87
Cd (ng/g)	M	5,83	4,38
	H	6,30	4,26
Pb (ng/g)	M	25,62	13,91
	H	23,05	10,98
Cu (ng/g)	M	234,17	113,76
	H	230,09	100,39
	H	513,18	166,90

Tabla 184. Niveles de metales pesados en músculo de peces, separado por sexos

Por último, los valores de metales pesados encontrados en el riñón de los peces no se mostraron diferentes entre los machos y las hembras:

		Promedio	Desv. Est.
Zn ($\mu\text{g/g}$)	M	15,20	7,38
	H	15,65	8,22
Cd (ng/g)	M	263,03	192,04
	H	363,52	286,61
Pb (ng/g)	M	58,26	53,99
	H	59,92	32,16
Cu ($\mu\text{g/g}$)	M	1,53	1,41
	H	1,99	1,36
	H	491,98	146,17

Tabla 185. Niveles de metales pesados en riñón de peces, separado por sexos

El hecho de no encontrar diferencias entre los niveles de metales pesados entre machos y hembras de peces ha sido también observado por otros autores. Glover (1979) sugirió que el sexo no influye en el contenido de metales pesados. Benemariya *et al.* (1991) tampoco encontró diferencias significativas entre sexos de varias especies de peces del lago Tanganika (Africa), ni tampoco otros autores como Allen-Gil *et al.* (1997); Bobori y Economidis, (1997) y Márquez *et al.* (1998).

Pero también se ha sugerido que la acumulación de Cu puede ser dependiente del sexo en algunos peces, por ejemplo el *Catostomus commersoni* en el que los niveles de Cu en hembras fue mayor que en machos (Miller *et al.*, 1992).

De hecho, algunos autores, como Bobori y Economidis (1996) encontraron que la concentración de Cd, Pb y Zn fue significativamente mayor en machos que en hembras de la perca (*Perca fluviatilis*) en el lago de Koronia (Grecia), atribuyéndolo al ritmo diferente de crecimiento entre macho y hembra y a diferencias fisiológicas. Chernoff y Dooley (1979) también encontraron diferencias significativas entre el sexo y los niveles de Zn y Cu, pero lo atribuyeron, en parte, a la dilución provocada por la masa de huevos de las hembras.

RELACIÓN DE LOS NIVELES DE METALES PESADOS ENTRE SÍ

En el estudio realizado no se encontraron correlaciones significativas entre los niveles de metales pesados en los distintos órganos, lo cual quiere decir que la concentración de metales en algún órgano no puede predecir el comportamiento de acumulación en otros órganos.

Las interacciones entre los diversos metales entre sí se han estudiado con resultados muy contradictorios. Galindo *et al.* (1986) no encontraron ninguna relación y Bobori y Economidis (1996) tampoco encontraron correlaciones significativas entre los niveles de metales entre sí, pero analizaron el pez entero.

Sin embargo, otros autores, como Rico *et al.* (1987) sí encontraron una correlación positiva entre los niveles de Cd/Pb, Cd/Cu, Pb/Cu, Pb/Zn en musculatura de peces (carpa, barbo, anguila y lisa) recogidos en el Parque Nacional de Doñana. Benemariya *et al.* (1991) encontraron relación tan solo entre el Cu y Zn muscular.

COMPARACIÓN DE LOS NIVELES ENCONTRADOS CON LA LEGISLACIÓN ESPAÑOLA

Con el fin de preservar la salud pública, la nueva legislación vigente respecto al contenido de contaminantes en los peces es el Reglamento 466/2001/CE de la Comisión por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. En ella se contemplan como sustancias necesarias de controlar el plomo y el cadmio, fijando los siguientes contenidos máximos en productos de la pesca:

- Plomo: - 0,2 mg/kg en carne de pescado en general
- Cadmio: - 0,05 mg/kg en carne de pescado en general

En el estudio realizado por nosotros, los valores encontrados en la musculatura de los barbos están muy por debajo, en el caso del Cd y por debajo, en el caso del Pb de los referidos en la legislación, por lo que, atendiendo a estos valores de referencia, el consumo de estos peces no representaría ningún riesgo para la salud.

Una vez discutidos los resultados obtenidos en este estudio sobre el estado de la contaminación por plaguicidas organoclorados y metales pesados en el medio acuático (ríos Tajo y Tiétar) a su paso por el Parque Natural de Monfragüe (Cáceres), podemos llegar a establecer las siguientes conclusiones:

1.- En el periodo estudiado, septiembre de 1996 a agosto de 1997, el único plaguicida organoclorado que apareció de forma constante en el aguas de ambos ríos fue el lindano, sin diferencias importantes entre ambos ríos. Nunca se detectó el β -HCH, y los demás compuestos (α -HCH, δ -HCH, heptacloro, endosulfán, DDT, DDE, DDD y metoxicloro) únicamente se detectaron de forma puntual en los meses de abril a julio, con valores medios ligeramente superiores en el río Tiétar.

2.- En tejido muscular de barbos comiza capturados en los tres muestreos realizados en ambos ríos a lo largo del periodo estudiado, el único plaguicida organoclorado que apareció de forma constante fue el DDE, con valores ligeramente superiores en los peces del río Tajo. Nunca se detectó el β -HCH, y los demás compuestos (α -HCH, lindano, δ -HCH, heptacloro, endosulfán, DDT, DDD y metoxicloro) únicamente se detectaron de forma puntual en el muestreo del mes de agosto, en correspondencia con la aparición de éstos en las aguas.

3.- Los niveles de plaguicidas organoclorados detectados en aguas no suponen ningún riesgo para la fauna piscícola presente en el Parque, ya que siempre fueron muy inferiores a los reflejados en la bibliografía como CL-50 para distintas especies de peces y a los utilizados en estudios experimentales de toxicidad, en los que se han observado algún efecto nocivo para estas especies. Igualmente, estos valores nunca superaron los establecidos por la legislación sobre control de calidad de aguas, tanto para aguas naturales como para aguas potables.

4.- Las concentraciones de los metales pesados zinc, cadmio, plomo y cobre, tanto disueltos como totales, en aguas se mantuvieron a lo largo del periodo estudiado y en ambos ríos bastante constantes, sin notables modificaciones a lo largo del tiempo salvo elevaciones puntuales, siendo estas concentraciones bastante similares entre ambos ríos.

5.- Las concentraciones de los metales pesados en órganos de peces se mantuvieron bastante similares entre los muestreos (julio-96, abril-97 y agosto-97) realizados en ambos ríos. El zinc se acumuló sobre todo en branquias, hígado y riñón y poco en músculo. El cadmio se acumuló en riñón, menos en hígado y poco en branquias y músculo. El plomo se acumuló en branquias, menos en hígado y riñón y poco en músculo. El cobre se acumuló básicamente

en hígado, poco en riñón y branquias y apenas en músculo. De esta forma, el músculo fue el órgano que menos cantidad de metales pesados acumuló en los barbos recogidos en el Parque Natural de Monfragüe.

6.- No se ha observado ninguna correlación significativa entre los niveles de metales pesados en cada órgano, ni entre órganos para cada uno de los metales.

7.- La variable sexo no influyó en la concentración de plaguicidas organoclorados y metales pesados estudiados en el barbo comiza.

8.- Los niveles detectados de metales pesados en aguas no suponen ningún riesgo para la fauna piscícola presente en el Parque, ya que sus niveles siempre fueron muy inferiores a los reflejados en la bibliografía como CL-50 para distintas especies de peces y a los utilizados en estudios experimentales de toxicidad, en los que se han observado algún efecto nocivo para estas especies. Igualmente, estos valores nunca superaron los niveles establecidos por la legislación, sobre control de calidad en aguas, tanto para aguas naturales como para aguas potables.

9.- En el periodo estudiado no se puede considerar el entorno acuático del Parque Natural de Monfragüe como contaminado por plaguicidas organoclorados y metales pesados. Sin embargo, la significación de estos compuestos como contaminantes altamente persistentes, y el hallazgo estacional de descargas de plaguicidas organoclorados, hacen necesario el establecer una monitorización continua de los mismos para preservar las cualidades de este único entorno natural.

- Abban, EK; Samman, J.** 1982. "Further observations on the effect of Abate on fish catches". *Environ. Pollut., Ser. A., 27, 245.*
- Abbassy, MS.** 2000. "Pesticides and polychlorinated biphenyls drained into north coasta of the Mediterranean Sea, Egypt". *Bull. Environ. Contam. Toxicol. 64: 508-517.*
- Abdallah, MA; Hassan, IM; Naguib, NM; Abodonia, MA.** 1990. "Survey of residues of organochlorine pesticides in some marketable Egyptian fish". *J Assoc Off Anal Chem. 73 (4): 502-508.*
- Acree, F, Jr; Beroza, M; Bowman, MC.** 1963. "Codistillation of DDT with water". *J. Agric. Food Chem., 11: 278.*
- Addison, RF y Willis, DE.** 1978. "The metabolism by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) of p,p'-14CDDT and some of its possible degradation products labelled with 14C". *Toxicol, Appl. Pharmacol., 43: 303.*
- Addison, RF y Zinck, ME.** 1975. "The metabolism of some DDT-type compounds by brook trout (*Salvelinus fontinalis*)". In *Environmental Quality and Safety, Suppl. Vol. 3, Coulston, F. And Korte, F., Eds., Gerog Thieme Verlag, Stuttgart, 500.*
- Addison, RF; Zinck, ME y Willis, DE.** 1977. "Mixed function oxidase enzymes in torot (*Salvelinus fontinalis*) liver: absence of induction following feeding of p,p'-DDT or p,p'-DDE". *Comp. Biochem. Physiol., 57: 39.*
- Addison, RF; Zinck, ME y Willis, DE.** 1979. "Induction of hepatic mixed function oxidases in trout by polychlorinated biphenyls and butylated monochlorodiphenyl ethers". *Toxicol, Appl. Pharmacol., 49: 245.*
- Addison, RF; Zinck, ME; Leahy, JR.** 1976. "Metabolism of single and combined doses of 14C-aldrin and 3H-p,p'-DDT by Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry". *J. Fish. Res. Board Can., 33: 2073.*
- Ahling, B.** 1978. "The combustion of waste containing DDT and Lindane". *Sci. Total Environ., 9: 117.*
- Ahmed, MT; Ismail, SM.** 1991. "Residues of organochlorines in fish, crab and sediment from El Tensah lake, Suez Canal, Egypt and their effect on mitochondrial ATPase of New Zealand white rabbit". *J. Egypt Public Heath Assoc.66: 557-575.*
- Alabaster, JS.** 1969. "Survival of fish in 164 herbicides, insecticides, fungicides, wetting agents and miscellaneous substances". *Int. Pest Control, 2: 29.*
- Alam, MK; Maughan, OE.** 1995. "Acute toxicity of heavy metals to common carp (*Cyprinus carpio*)". *Journal of environmental Science and Health, Part A, 30 (8); 1807-1816.*
- Albajes, R.** 1992. "La incidencia de los Tratamientos Fitosanitarios en el Medio Ambiente y el Control Integrado de Plagas Agrícolas". *ITEA, 12: 89-108.*
- Allen-Gil SM ; Gubala CP ; Landers DH ; Lasorsa BK ; Crecelius EA ; Curtis LR.** 1997. "Heavy metal accumulation in sediment and freshwater fish in U.S. Arctic lakes". *Environ Toxicol Chem 16 (4): 733-41.*
- Allison, D; Kallman, BJ; Cope, OB; Valin, CCV.** 1963. "Insecticides: effects on cutthroat trout of repeated exposure to DDT". *Science, 142: 958.*
- Allison, D; Kalman, SJ; Cope, OB y Van Valin, C.** 1964. "Some chronic effects of DDT on Cutthroat Trout". *US Bureau of Sport Fisheries and Wildlife, Research Report 64, pp 30.*

Alonso, PP. 1976. "Determination of organochlorine pesticides in water". *Quim. Anal.* 30 (5): 323-325.

Alvarez, D; Cruz, M. 1989. "Contaminación agraria difusa". *Unidades Temáticas ambientales de la Secretaría General del Medio Ambiente, MOPU. Centro publicacion.*

Ambient Water Quality Criteria for Enfosulfan. 1980. "EPA 440/5-80-046, Office of Water Regulations and Standards Criteria and Standards Division, Environmental Protection Agency". *Washington, DC.*

Amodio-Cocchieri, R; arnese, A. 1988. "Organochlorine pesticide residues in fish from southern Italian rivers". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 40:233-239.

Amundsen, PA; Staldivik, FJ; Ludin, AA; Kashulin, NA; Popova, OA; Reshetniko. 1997. "Heavy metal contamination in freshwater fish from the border region between Norway and Russia". *The Science of the Total Environment* 201: 211-224.

Anadon, A; Muñoz, MJ; Ortiz, JA. 1984. "Acumulación tisular de Zinc, Plomo, Cobre, Hierro y Cromo en Truchas de Río, Salmo trutta fario. Acción ecotoxicológica". *An. INIA/Ser. Ganadera* nº19.

Anderson, JM. 1968. "Effect of sublethal DDT on the lateral line of brook trout, *Salvelinus fontinalis*". *J. Fish. Res. Board Can.*, 25: 2677.

Anderson, JM y Prins, HB. 1970. "Effects of sublethal DDT on a simple reflex in brook trout". *J. Fish. Res. Board Can.*, 27: 331.

Anderson, RB; Fenderson, OC. 1970. "An analysis of variation of insecticide residues in landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 27:1.

Andrew, RW; Biesinger, KE; Glass, GE. 1977. "Effects of inorganic complexing on the toxicity of copper to *Daphnia magna*". *Water Res.* 11: 309-315.

Anon. 1978. "Selected pollution profiles: North Atlantic, North Sea, Baltic Sea, and Mediterranean Sea". *Ambio*, 7: 75.

Anon. 1980. "Ambient water quality criteria for endosulfan, US EPA 440/5-80-046, Office of water regulations and standards criteria and standards division, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC. .

Argyle, RL; Williams, GC y Dupree, HK. 1973. "Dndrin uptake and release by fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 30: 1742.

Ashraf, M; Jaffar, M. 1988. "Correlation between some selected trace metal concentrations in six species of fish from the Arabian sea". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 41; 86-93.

Atchinson, GJ. 1976. "The dynamics of lipids and DDT in developing Brook Trout eggs and Fry". *J. Great lakes Res.* 2: 13-19.

Aubin, AE y Johansen, PH. 1969. "The effects of an acute DDT exposure on the spontaneous electrical activity of goldfish cerebellum". *Can. J. Zool.*, 47: 163.

Ayas, Z; Barlas, N; Kolankaya, D. 1997. "Determination of organochlorine pesticide residues in various environments and organisms in Göksu Delta, Turkey". *Aquatic Toxicology*, 39: 171-181.

Bakre, PP; Mishra, V; Bhatnagar, P. 1990. "Organochlorine residues in water from the Mahala water reservoir, Jaipur, India". *Environ. Pollut.* 63: 275-281.

- Balavenkatasubbaiah, M; Rani, AU; Geethanjali, K; Purushotham, KR; Ramamurthi, R.** 1984. "Effect of cupric chloride on oxidative metabolism in the freshwater teleost, *Tilapia mossambica*". *Ecotoxicol Environ Safety* 8 (3): 289-93.
- Baldwin, MK; Bennett, D; Beynon, KT.** 1977. "The concentrations of aldrin and dieldrin and their photoisomers in the atmosphere". *Pestic. Sci.*, 8: 731.
- Baluja, G; Franco, JM; Murado, MA.** 1973. "Contaminación del medio por plaguicidas organoclorados. VI. Residuos de insecticidas y PCB en especies marinas, significado ecológico y su relación con la contaminación del Litoral Nacional". *Inv. Pesq.* 37: 593-620.
- Baluja, G; Hernández, LM; González, J; Rico, M^oC.** 1983. "Distribución of organochlorine compounds and heavy metals in water of a protected reserve as a function of distance from pollution sources". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 30: 544-551.
- Baluja, G; González, J; Rico, C; Hernández, LM.** 1985. "Sources and transport of organochlorine compounds and heavy metals into waters of the National Park of Doñana". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 35: 482-489
- Baluja, G; Murado, MA; Hernández, LM.** 1977. "Contaminación del medio por plaguicidas organoclorados. X. Residuos de insecticidas y PCBs en especies faunísticas del litoral sur y sudeste español". *Inf. Técn. Inst. Inv. Pesq.*, 44.
- Barberá, C.** 1989. "Pesticidas agrícolas", 4ª edición, Ediciones Omega, Barcelona. .
- Benemariya H; Robberecht, H; Deelstra, H.** 1993. "Atomic absorption spectrometric determination of zinc, copper, and selenium in fish from Lake Tanganyika, Burundi, Africa". *Sci Total Environ* 105: 73-85.
- Benemariya, H; Robberecht, H; Deelstra, H.** 1991. "Atomic absorption spectrometric determination of zinc, copper, and selenium in fish from lake Tanganyika, Burundi, Africa". *The Science of the Total Environment*, 105: 73-85.
- Benfenati, E ; Ditor, N ; Fanelli, R ; Lualdi, G ; Tridico, R ; Stella, G; Buscaini, P ; Stimilli, L.** 1992. "Characterization of organic and inorganic pollutants in the Adige River (Italy)". *Chemosphere* 25 (11: 1665-1674.
- Bengtsson, BE.** 1975. "Vertebral damage in fish induced by pollutants", in "Sublethal Effects of Toxic Chemicals on Aquatic Animals". *Koeman, JH Strik, JJTWA., Eds., Elsevier, Amsterdam*, 23.
- Bernal, JL; Del Nozal, MJ; Jiménez, JJ.** 1992. "Some observations on clean-up procedures using sulphuric acid and florisil". *J. Chromatogr.* 607: 303-304.
- Besser, JM; Allert, AL; Hardesty, DK; May, TW; Leib, KJ.** 1999. "Seasonal variation of metal Toxicity"
IN STREAMS AFFECTED BY ACID MINE DRAINAGE. *20th Annual Meeting Soc. Environ. Tox. And Chem. Nov: 14-18. Philadelphia P.A.*
- Bobori, DC; Economidis, PS.** 1996. "The effect of size, sex and season on the accumulation of heavy metals in Perch (*Perca fluviatilis* L., pisces: percidae) in lake Koronia (Macedonia, Greece). *Toxicological and Environmental Chemistry*, vol 57: 103-121.
- Boileau, S; Baril, M; Alary, JG.** 1979. "DDT in northern pike (*Esox lucius*) from yhe Richelieu River, Quebec, Canada, 1974/75". *Pestic. Monit. J.*, 13: 109.
- Botello, AV; Rueda-Quintana, L; Díaz, A; Toledo, A.** 2000. "Persistent organochlorine pesticides (POPs) in coastal lagoons of the subtropical Mexican Pacific". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 64: 390-397.

Braun, HE y Frank, R. 1980. "Organochlorine and organophosphorus insecticides: their use in eleven agricultural watersheds and their loss to stream waters in southern Ontario, Canada, 1975-77". *Sci. Total Environ.*, 15: 169.

Braunbeck, T; Gorge, G; Storch, V; Nagel, R. 1990. "Hepatic Steatosis in Zebra fish (*Brachydanio rerio*) induced by long-term exposure to gamma-Hexachlorocyclohexane". *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 19: 355-374.

Brevik, EM; Grande, M; Knutzen, J; Polder, A; Skaare, JU. 1996. DDT contamination of fish and sediments from lake Orsjoen, southern Norway: comparison of data from 1975 and 1994. *Chemosphere*, vol 33, nº 11, pp 2189-2200.

Bridges, WR; Kallman, JB y Andrews, KA. 1963. "Persistence of DDT and its metabolites in a farm pond". *Trans. Am. Fish. Soc.*, 92: 421.

Brown, LR. 1997. "Concentrations of chlorinated organic compounds in biota and bed sediment in streams of the San Joaquin Valley, California". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 33: 357-368.

Brungs, WA y Bailey, GW. 1966. "Influence of suspended solids on the acute toxicity of endrin to fathead minnows. Engineering Extension Series 121". *Eng. Bull. Purdue Univ., Proc. Wq st Purdue Industrial Waste Conf. Part I., Lafayette, Ind., 4.*

Brungs, WA; Mount, DI. 1978. "Introduction to a discussion of the use of aquatic toxicity tests for evaluation of the effects of toxic substances, in Estimating the Hazard of Chemical Substances to Aquatic Life, ASTM STP 657,". *Cairns, J., Jr; Dickson, KL; Maki, AW, Eds American Society for Testing and materials.*

Buck, W; Osweiler, G. 1981. "Toxicología veterinaria clínica y diagnóstica". *Ed. Acribia.*

Buckley, JL. 1979. "Nontarget Effects of Pesticides in the Environment". *Pesticides, contemporary roles in agriculture, health and environment. Sheets & Pimentel (Eds), Humana Press, pp 73-82.*

Buckley, JT; Roch, M; McCarter, JA; Rendell, CA y Matheson, AT. 1982. "Chronic exposure of Coho Salmon to sublethal concentrations of copper-I. Effect on growth, on accumulation and distribution of copper, and on copper tolerance". *Comp. Biochem. Physiol. Vol. 72C, nº 1, pp 15-19.*

Budavari, S. 1996. "The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals". *ed. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc..*

Buhler, DR y Shanks, WE. 1970. "Influence of body weight on chronic oral DDT toxicity in coho salmon". *J. Fish. Res. Board Can.*, 27: 347.

Buhler, DR; Rasmusson, ME y Shanks, WE. 1969. "Chronic oral DDT toxicity in juvenile coho and chinook salmon". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 14: 535.

Buldly, RV; Kellogg, RL; Shannon, LR. 1976. "Size-related factors associated with dieldrin concentrations in muscle tissue of channel catfish *Ictalurus punctatus*". *Trans. Am. Fish. Soc.*, 105: 301.

Bulkley, RV. 1978. "Variations in DDT concentration in muscle tissue of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, from the Des Moines River,". *Pestic. Monit. J.*, 11: 165.

Bulkley, RV; Kellogg, RL y Shannon, LR. 1976. "Size-related factors associated with dieldrin concentrations in muscle tissue of channel catfish *Ictalurus punctatus*". *Trans. Am. Fish Soc.*, 105: 301.

- Burdick, GE; Dean, HJ; Harris, EJ.** 1960. "Effects of Sevin upon aquatic environment". *N. Y. Fish Game. J. 7: 14-25.*
- Burdick, GE; Harris, EJ; Dean, HJ; Walker, TM; Skea, J; Colby, D.** 1964. "The accumulation of DDT in Lake Trout and the effect on reproduction". *Trans. Am. Fish. Soc.* 93: 127-136.
- Burton, A y Sinsheimer, RL.** 1963. "Insecticides: effects on cutthroat trout of repeated exposure to DDT". *Science*, 142: 958.
- Butler, PA.** 1968. "Pesticides in the estuary". *Proc. Marsh Estuary Management Symp., Louisiana State Univ., Newsom, D., Ed., Moran Publishing, Baton Rouge, La., 120.*
- Butler, PA.** 1973. "Organochlorine residues in estuarine mollusks 1965-1972. National Pesticide Monitoring Program". *Pestic. Monit. J.* 6: 238-362.
- Butler, PA; Schutzmann, RL.** 1979. "Bioaccumulation of DDT and PCB in tissues of marine fishes". *Aquatic Toxicology, ASTM STP 667, Marking, LL and Kimerle, RA, Eds, American society for Testing and Materials.*
- Butler, PA; Springer, PF.** 1964. . *Trans. 28 th N. Am. Wildlife Natural Resources Conf. Pp. 387-390.*
- Buttler, PA.** 1966. "The problem of pesticides in estuarines". *American Fisheries Society, Special publication 3: 110-115.*
- Cairns, J.Jr; Heath, AG; Parker, BC.** 1975. "The effects of temperature upon the toxicity of chemicals to aquatic organisms". *Hydrobiol.* 47(1); 135-171.
- Cairns, T y Parfitt, CH.** 1980. "Persistence and metabolism of TDE in California Clear Lake fish". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 24, 504.
- Callahan MA ; Slimak MW ; Gabel NW ; May IP ; Fowler CF.** 1979. "Water-Related Fate of 129 Priority Pollutants Vol I". *pp. 9-1 to 9-20, USEPA-440/4-79-029A.*
- Campbell, PGC; Stokes, PM.** 1985.borrado en texto. "Acidification and toxicity of metals to aquatic biota". *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42: 2034-2049.
- Camusso, M ; Vigano, L ; Balestrini, R.** 1995. "Bioconcentration of trace metals in rainbow trout. A field study". *Ecotoxicology and environmental safety* 31 (2):133-141.
- Canli, M; Stagg, RM.** 1996. "The effect of in vivo exposure to Cadmium, Copper and Zinc on the activities of gill ATPases in the Norway Lobster, *Nephrops norvegicus*". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 31, 494-501.
- Carbonell, G; Tarazona, JV.** 1990. "Toxicidad por adición de sulfato de cobre en piscifactorías" en *Actas del II Congreso Español de Acuicultura. pp 917-922.*
- Carbonell, G; Tarazona, JV.** 1994. "Toxicokinetics of copper in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)". *Aquatic Toxicology* 29: 213-221.
- Carlson, RW.** 1982. "Some characteristics of ventilation and coughing in the bluegill *Lepomis macrochirus Rafinesque*". *Environ. Pollut.*, 29: 35.
- Carlson, RW y Drummond, RA.** 1978. "Fish cough response-a method for evaluating quality of treated complex effluents". *Sater Res.*, 12:.
- Carr, DS.** 1992. in *Kirk-Othmer Encycl Chem Tech.* 4th. NY,NY: John Wiley & Sons 4: 748-60. .

Carrasco, JM, Cuñat, P; Martínez, M; Primo, E. 1972. "Contaminación de la Albufera de Valencia. I. Niveles de Contaminación por insecticidas". *Rev. Agroquim. Technol. Aliment.*; 12(3): 463-476.

Carvajal, A; Ubeda, V; Maestre, MA. 1991. "Polarografía. Voltamperometría de redisolución. Fundamentos y aplicaciones". Monografía METROHM.

Carvalho, FP; Montenegro, S; Villeneuve, JP; Cattini, C; Bartocci, J; Lacayo, M; Cruz, A. 1999. "Chlorinated hydrocarbons in coastal lagoons of the Pacific Coast of Nicaragua". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 36: 132-139.

Cearly, JL; Coleman, RL. 1974. "Cadmium toxicity and bio concentration in largemouth bass and bluegill". *Bull Environ Contam Toxicol* 11 (2): 146-151.

Cecil, HC; Fries, GF; Bitman, J; Harris, SJ; Lillie, RJ; Denton, CA. 1972. "Dietary p,p´DDT, o,p´-DDT or p,p´-DDE and changes in egg shell characteristics and pesticide accumulation in egg contents and body fat of caged white leghorns". *Poultry Sci.*, 51: 130.

Chang, LW; Cockerham, LG. 1994. "Toxic metals in the environment". *Basic Environmental Toxicology*. xi+627p. CRC Press, Inc.: Boca Ratón, Florida, USA.

Chapman, GA. 1985. "Acclimation as a factor influencing metal criteria. Aquatic toxicology and hazard assessment: eighth symposium ASTM STP 891, 119-136. .

Chaurasia, SS; Gupta, P; Kar, A; Maiti, PK. 1996. "Lead induced thyroid dysfunction and lipid peroxidation in the fish *Clarias batrachus* with special reference to hepatic type I-5´-Monodeiodinase Activity". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 56: 649-654.

Chernoff, B; Dooley, JK. 1979. "Heavy metals in relation to the biology of the mummichog *Fundulus heteroclitus*". *J Fish Biol* 14 (3): 309-328.

Chevreuil, M; Blanchard, M; Teil, MJ; Carru, AM; Testard, P; Chesterikoff, A. 1996. "Evaluation of the pollution by organochlorinated compounds (Polychlorobiphenyls and pesticides) and metals (Cd, Cr, Cu and Pb) in the water and in teh zebra mussel (*Dreissena polymorpha pallas*) of the river Seine". *Water Air and Soil Pollution* 88 (3-4): 371-381.

Chgnosn, NL; Guttman, SI. 1989. "Differential survivorship of allozyme genotypes in mosquitofish populations exposed to xopper or cadmium". *Environ. Toxicol. Chem.*, 8:319-326.

Chou, SS; HO, KC; Chan, HH. 1987. "Routine determination of Polychlorinated Biphenyl Resifues in fish and shellfish in Taipei County". *Chemosphere* 16: 1835-1840.

Chovelon, A; George, L; Gulayets, C; Hoyano, Y; McGuinness, E; Moore, J; Ramamoorthy, S; Singer, P. 1984. "Pesticide and polychlorinated biphenyl levels in fish from Alberta (Canada)". *CHEMOSPHERE*; 13 (1): 19-32..

Christensen, G; Hunt, E; Fiantd, J. 1977. "The effect of methylmercuric chloride, cadmium chloride and lead nitrate on the biochemical factors of the brook trout *Salvelinus fontinalis*". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 42: 523-530.

Christensen, GM. 1975. "Biochemical effects of methulmercuric chloride, cadmium chloride, and lead nitrate on embryos and alevins of the brook trout, *Salvelinus fontinalis*". *Toxicol, Appl. Pharmacol.*, 32: 191-197.

CHT (Confederación Hidrológica del Tajo). 1999. "La cuenca del Tajo". *Oficina de Planificación Hidrológica de la Confederación Hidrológica del Tajo. Ministerio de Medioambiente*

- Clements, WH; Rees, DE.** 1997. "Effects of heavy metals on prey abundance, feeding habits, and metal uptake of Brown Trout in the Arkansas River, Colorado". *Transactions of the American fisheries Society* 126: 774-785.
- Coats, JR; Metcalf, L y Kapoor, IP.** 1974. "Metabolism of the methoxychlor isostere, dianisylneopentane, in mouse, insects, and a model ecosystem". *Pestic. Biochem. Physiol.*, 4: 201.
- Cornacoff, JB; Laver, LD; House, RV; Tucker, AN; Thurmond, LM; Vos, JG; Working, PK; Dean, JH.** 1988. "Evaluation of the immunotoxicity of beta-Hexachlorocyclohexane (beta-HCH)". *Fundam. Appl. Toxicol.* 11: 293-299.
- Cremllyn, R.** 1990. "Plaguicidas Modernos y su Acción Bioquímica". *Ed. Limusa, 4ª edición.*
- Cross, FA; Hardy, LH; Jones NY; Barber, RT.** 1973. "Relation between total body weight and concentrations of manganese, iron, copper, zinc and mercury in white muscle of bluefish (*Pomatomus saltatrix*) and a bathyl-demersal fish *Antimora rostrata*". *J. Fish Res. Bd. Can.* 30: 1287-1291.
- Cruz ER, Muroga K.** 1985. "Fish pathology". *Gyobyo Kenkyu* 20 (4): 459-61.
- Cuerrier, JP; Keith, JA; Stone, E.** 1967. "Problems with DDT in fish culture operations". *Nat. Can.*, 94: 315.
- Culley, KK; Ferguson, DE.** 1969. "Patterns of insecticide residence in the Mosquito Fish (*Gambusia affinis*)". *J. Fish. Res. Board. Can.* 26: 2395-2401.
- Cuthbert, ID; Kalff, J.** 1993. "Empirical models for estimating the concentrations and exports of metals in rural rivers and streams". *Water air and soil Pollution* 71 (3-4): 205-230.
- Cutkomp, LK; Koch, RB y Desaiyah, D.** 1982. "Inhibition of ATPases by chlorinated hydrocarbons" in. *Insecticide Mode of Action, Coats, JR, Ed., Academic Press, New York, 45.*
- Dalelia, RC.** 1978. "Toxline". *Toxicology* 11 (4): 361.
- Darrow, DC y Addison, RF.** 1973. "The metabolic clearance of 14C-p,p'-DDT from plasma and its distribution in the thorny skate, *Raja radiata*". *Environ. Physiol. Biochem.*, 3: 196.
- Davies PH; Goettl, JP; Sinley, JR; Smith, NF.** 1976. "Acute and chronic toxicity of lead to rainbow trout *Salmo gairdneri*, in hard and soft water". *Water Res.*, 10: 199-206.
- Davis, HC.** 1961. . *Commercial Fisheries Rev.* 23: 8-22.
- Davy, FB; Kleerekoper, H y Gensler, P.** 1972. "Effects of exposure to sublethal DDT on the locomotor behaviour of the goldfish (*Carassis auratus*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 29: 1333.
- Deacon, JR; Driver, NE.** 1999. "Distribution of trace elements in streambed Sediment associated with mining activities in the upper Colorado River Basin, Colorado, USA, 1995-96". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 37: 7-18.
- Dean, RB; Suess, MJ.** 1985. "The risk to health of chemicals in sewage sludge applied to land". *Waste Man Res* 3: 251-278.
- Delayed losses of salmon follow DDT spraying, Annual Report Fisheries Research Board of Canada, 1960-61, 65.** 1967. cited in Elson, PF "Effects on wild young salmon of spraying DDT over New Brunswick forests". *J. Fish. Res. Board Can.*, 24: 731.
- Delfino, JJ.** 1979. "Toxic substances in the Great Lakes". *Environ. Scil Technol.*, 13: 1462.

- Dethloff, GM; Schlenk, D; Hamm, JT; Bailey, HC.** 1999. "Alterations in physiological parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) with exposure to copper and copper/Zinc mixtures". *Ecotoxicology and Environmental Safety* 42, 253-264.
- Devault, DS; Willford, WA; Hesselber, RJ; Nortrup, DA; Rundberg, EGS; Alwan, AK; Bautista, C.** 1986. "Contaminant trends in lake trout *Salvelinus-Namycush* from the upper Great Lakes USA Canada". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 15 (4): 349-356.
- Díaz, C; Galindo, L; García Montelongo, F.** 1994. "Distribution of metals in some fishes from Santa Cruz de Tenerife, Canary Islands". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 52; 374-381.
- Dickson, KL; Maki, AW; Cairns, JJr.** 1979. "Analyzing the Hazard Evaluation Process". Eds. *American Fisheries Society, Washington, DC.*
- Dill, PA y Saunders, RC.** 1974. "Retarded behavioral development and impaired balance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) alevins hatched from gastrulae exposed to DDT". *J. Fish. Res. Board Can.*, 31: 1936.
- Dimond, JB; Getchell, AS; Blease, JA.** 1971. "Accumulation and Persistence of DDT in a Lotic Ecosystem". *J. Fish Res. Board. Canada* 28: 1877-1882.
- Dong, Y; Sun, C; Xu, S; Dai, J; Fen, J; Jiang, X; Wang, L.** 2000. "Polychlorinated organic compounds (PCOCs) in the Yangtse River water samples using SPE and GC/ECD". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 64: 383-389.
- Dua, VK; Kumari, R; Johri, RK; Ojha, VP; Shukla, RP; Sharma, VP.** 1998. "Organochlorine insecticide residues in water from five lakes of Nainital (UP), India". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60: 209-215.
- Dunnier, M; siwicki, AK; Scholtens, J; Molin, SD; Vergnet, C; Studnicka, M.** 1994. "Effects of lindane exposure on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Immunity. 3. Effect on nonspecific immunity and B-Lymphocyte functions". *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 27: 324-334.
- Dvorchik, BH y Maren, TH.** 1972. "The fate of p,p'-DDT (2,2-BIS (P-chlorophenyl), 1,1,1-trichloroethane) in the dog fish *Squalus acanthias*". *Comp. Biochem. Physiol.*, 42: 205.
- Eaton, HJ; Lydy, MJ.** 2000. "Assessment of water quality in Wichita, Kansas, using an index of biotic integrity and analysis of bed sediment and fish tissue for organochlorine insecticides". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 39: 531-540.
- Eberhardt, LL.** 1975. "Some methodology for appraising contaminants in aquatic systems". *J. Fish. Res. Board Can.*, 32: 1852.
- Edgren, M; Olsson, M; Reutergard, L.** 1981. 2A one year study of the seasonal variations of DDT and PCB levels in fish from heated and unheated areas near a nuclear power plant". *Chemosphere* 10: 447.
- Edwards.** 1970. "Observation of mating behavior of the striped perch and notes on possible reproductive activity of the rainbow perch". *California Fish and Game* 56(3):205-206.
- Eichner, M.** 1973. "Residue analysis of chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls (PCB) in fish and waters of Lake Constance and the upper Rhine and its tributaries. Part 1". *Z. Lebens.-Unters.-Forsch.* 15 (6): 376-383.
- Eichner, M.** 1973. "Residue determinations of organochlorine insecticides and PCB's in fish and water from Lake Constance and the Upper Rhine and its tributaries". *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 161(4): 327-336.

- Eisenberg, M; Topping, J.** 1985. "Organochlorine residues in finfish from Maryland waters 1976-1980". *J. Environ. Sci. Health, B20 (6)*, 729-742.
- Eisenreich, SJ; Hollod, GJ; Johnson, TC.** 1979. "Accumulation of polychlorinated biphenyls (PCBs) in surficial Lake Superior sediments. Atmospheric deposition". *Environ. Sci. Technol.*, 13:569.
- Eisler, R Jr.** 1970. "Acute toxicities of organochlorine and organophosphorus insecticides to estuarine fishes". *Bur. Sport Fish. Wildlife (US) Tech. Pap 46*.
- Eisler, R y Edmunds, PH.** 1966. "Effects of endrin on blood and tissue chemistry of a marine fish.". *Trans. Am. Fish. Soc.*, 95: 153.
- Ellgaard, EG; Ochsner, JC y Cox, JK.** 1977. "Locomotor hyperactivity induce in the bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*, by sublethal concentrations of DDT". *Can. J. Zool.*, 55: 1077.
- Ellgaard, EG; Rudner, TW.** 1982. "Lead acetate: Toxicity without effects on the locomotor activity of the bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*". *J. Fish Biol.*, 21 (4): 411-416.
- Elson, PF;** 1967. "Effects on wild young salmon of spraying DDT over New Brunswick forests". *J. Fish. Res. Board Can.*, 24: 731.
- Elson, PF; Lauzier, LN y Zitko, V.** 1972. "A preliminary study of salmon movements in a polluted estuary", in. *Marine Pollution and Sea Life, Ruivo, M., Ed., Unipub, New York.*
- Elzorgani, GA, Abdulla, AM; Ali, MET.** 1979. "Residues of organochlorine insecticides in fishes in Lake Nubia". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 22: 44.
- Ernst, W y Goerke, H.** 1974. "Anreicherung, Verteilung, Umwandlung und Ausscheidung von DDT-14-C bei *Solea solea* (Pisces: Soleidae)". *Mar. Biol.*, 24: 287.
- Ernst, W; Schaefer, RG, Goerke, M; Eder, G.** 1974. "Auf Arbeitung von Meerestierer fur die Bestimmung von PCB, DDT, DDE, DDD, gamma-HCH and HCB". *Z. Anal. Chem.*, 272: 358.
- Estándar Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA-AWWA-WPCF.** 1992. "Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales". *American Public Health Association, Washington, 16 th ed.*
- FAO** 1983. "Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático". Documentos técnicos de pesca, nº 212. Parte 9. Análisis de presencia de metales y organoclorados en peces.
- Farg, AM; Woodward, DF; Goldstein, JN; Brumbaugh, W; Meyer, JS.** 1998. "Concentrations of metals associated with mining waste in sediments, biofilm, Benthic Macroinvertebrates, and fish from the Coeur d'Alene River Basin, Idaho". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34: 119-127.
- Farmer, WJ; Igue, K; Spencer, WF; Martin, JP.** 1972. "Volatility of organochlorine insecticides from soil.I. Effect of concentration, temperature, air flow rate, and vapor pressure". *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 36: 443.
- Farrell, AP.** 1993. "Cardiovascular system. In: Evans DH (ed) *The physiology of fishes*. CRC Press, Ann Arbor, MI, pp 219-250.
- Fay, RR y Newland, LW.** 1972. "Prganochlorine insecticide residues in water, sediment and organisms, Arkansas Bay, Texas, September 1969-June 1970". *Pestic. Monit. J.* 6: 97.
- Ferguson, DE y Goodyear, CP.** 1967. "The pathway of endrin entry in black bullheads, *Ictalurus melas*, Copeia, 1967: 467. 1967.

- Ferguson, DE; Ludke, JL; Wood, JP y Prather, JW.** 1965. "The effects of mud on the bioactivity of pesticides on fishes". *J. Miss. Acad. Sci.*, 11: 219.
- Fernández, J; Franco, JM.** 1979. "Residues of chlorinated hydrocarbons in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) and blue whiting (*Micromesistius poutassou*) from the Galician coast. Relation to lipid content.". *Invest. Pesq.* 43 (2): 491-500.
- Fernández, JL ; López, A ; Llorens, JF ; Querol, X ; Acenolaza, P ; Durano, F ; López, JP ; Medina, ME ; Rossi, JN ; Toselli, AJ ; Saavedra, J.** 1995. "Environmental monitoring using surface waters, river sediments and vegetation: A case study in the Farmatina Range, La Rioja, NW Argentina". *Environment International* 21 (6): 807-820.
- Fernández, MC; Rico, MC; González, MJ; Hernández, LM; Baluja, G.** 1984. "Contaminación organoclorada y metálica en organismos acuáticos del Parque Nacional de Doñana". *Rev. Agroquím. Tecnol. Alimenta.* 24(2): 221-232.
- Fernández-Aceytuno, M^aC; Rico, M^aC; González, M^aJ; Hernández, LM; Baluja, G.** 1984. "Contaminación organoclorada y metálica en organismos acuáticos del Parque Nacional de Doñana". *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 24(2).
- Feroz, M y Khan, MAQ.** 1979. "Metabolism of ¹⁴C-heptachlor in goldfish (*Carassius auratus*)". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 8: 519.
- Ferrando, MD; Almar, MM; Andreu, E.** 1988. "Lethal Toxicity of lindane on a teleost fish, *Anguilla anguilla*, from Albufera Lake (Spain): Hardness and temperature effects". *J. Environ. Sci. Health. B.* 23: 45-52.
- Ferrando, MD; Andreu-Moliner, E.** 1991b. "The effect of time on physiological changes in Eel, *Anguilla anguilla*, induce by lindane". *Comp. Biochem. Physiol. C.* 100: 95-98.
- Ferrando, MD; Andreu-Moliner, E.** 1992. "Lindane-induce changes in Carbohydrate Metabolism in *Anguilla anguilla*". *Comp. Biochem. Physiol. C.* 101: 437-441.
- Ferrando, MD; Andreu-Moliner, E.** 1991a. "Effects of lindane on fish Carbohydrate metabolism". *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 22; 17-23.
- Ferrando, MD; Sancho, E; Andreu-Moliner, E.** 1991. "Comparative acute toxicities of selected pesticides to *Anguilla anguilla*". *J. Environ. Sci. Health, part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes*, 26(5-6): 491-498.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).** 1983. "Compilation of legal limits for hazardous substances in fish and fishery products". *Roma. Italy.*
- Ford, WM; Hill, EP.** 1991. "Organochlorine pesticides in soil sediments and aquatic animals in the Upper Steele Bayou watershed of Mississippi (USA)". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20 (2) 160-167.
- Forstner, N; Wittman, GTW.** 1979. "Metal pollution in the aquatic environment". *Springer-Verlag, Berlin.*
- Fox, PJ; Matthiessen, P.** 1982. "Acute toxicity to fish of low-dose aerosol applications of endosulfan to control tsetse fly in the Okavango Delta, Botswana". *Environ. Pollut., Ser. A*, 27:129.
- Fredeen, FJH; Arnason, AP y Berck, B.** 1953. "Adsorption of DDT on suspended solids in river water and its role in black-fly control". *Nature*, 171; 700.

- Fredeen, FJH; Saha, JG; Balba, MH.** 1975. "Residues of methoxychlor and other chlorinated hydrocarbons in water, sand, and selected fauna following injections of methoxychlor black fly larvicide into the Saskatchewan River". *Pestic. Monit. J.*, 8:241.
- French, MC; Jefferies, DJ.** 1971. "The preservation of biological tissue for organochlorine insecticide analysis". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 6: 460.
- Friedman, AL.** 1995. "Effects of lead administration on developing rat kidney: II. Functional, morphologic, and immunohistochemical studies". *Toxicology and Applied Pharmacology* 131 (1):94-107.
- Friedman, B.** 1995. "Environmental Ecology". *Academic Press, New York*, pp 64-65.
- Gaja, RJ; Capar,SG; Subjoc, CA; Sanders,M.** 1982. "Determination of lead and cadmium in foods by anodic stripping voltammetry: I. Development of method". *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 65 (4): 970-977.
- Gakstatter, JH y Weiss, CM.** 1967. "The elimination of DDT-C14, and lindane-C14 from fish following a single sublethal exposure in aquaria". *Trans. Am. Fish. Soc.*, 96: 301.
- Galindo, L; Hardisson, A; García MF.** 1986. "Correlation between lead, cadmium, copper, zinc and iron concentrations in frozen tuna fish". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 36: 595-599.
- García Fernández, AJ.** 1994. "Impregnación por plomo y cadmio en aves silvestres de la región de Murcia". Tesis doctoral. Universidad de Murcia, septiembre de 1994.
- García-Repetto, R; Repetto, M.** 1997. "HCH and DDT residues in drinking water from the south of Spain, 1991-1994". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 59: 875-881.
- Gardner, DR.** 1973. "The effect of some DDT and methoxychlor analogs on temperature selection and lethality in brook trout fingerlings". *Pestic. Biochem. Physiol.*, 2: 437.
- Garrido Lestache, R; Garrido Lestache, ME.** 1988. "Toxicología de Pesticidas". *Ed Garrido-Lestache*,.
- Gerstenberger, SL; Gallinat, MP; Dellinger, JA.** 1977. "Polychlorinated biphenyl congeners and selected organochlorines in lake superior dish, USA". *Environ. Toxicol. And Chemistry*, vol 16, No 11, pp 2222-2228.
- Geyer, H; Piltzki, G; Freitag, D.** 1984. "Prediction of Ecotoxicological Behaviour of Chemicals. Relationship Between n-Octanol/Water Partition Coefficient and Bioaccumulation of Organic Chemicals by Alga Chlorella". *Chemosphere* 13: 269-284.
- Geyer, HJ; Scheunert, I; Bruggemann, R; Matthies, M; Steinberg, CE; Zitko, V; Kettrup, A; Garrison, W.** 1994. "The relevance of aquatic organism lipid content to the toxicity of lipophilic chemicals: Toxicity of lindane to different fish species". *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 28: 53-70.
- Geyer, HJ; Scheunert, I; Bruggemann, R; Matthies, M; Steinberg, CE; Zitko, V; Kettrup, A; Garrison, W.** 1994. "The relevance of aquatic organism lipid content to the toxicity of lipophilic chemicals: toxicity of lindane to different fish species". *Ecotoxicol. Environ. Safety* 28: 53-70.
- Geyer, HJ; Steinberg, CE; Scheunert, I; Bruggemann, R; Schutz, W; Kettrup, A; Rozman, K.** 1993. "A review of relationship between acute toxicity (LC50) of gamma-hexachlorocyclohexane (gamma-HCH, lindane) and total lipid content of different fish species". *Toxicology* 83: 169-179.
- Giam, CS; Richardson, RL; Taulor, D; Wong, MK.** 1974. "DDT, DDE and PCBs in the tissues of reef dwelling groupers (Serranidae) in the Gulf of Mexico and the Grand Bahamas". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 11: 189.

Giattina, JD; Garton, RR. 1983. "A review of the preference-avoidance responses of fishes to aquatic contaminants". *Residue Rev.*, 87: 43-90.

Gibbs, PJ; Miskiewicz, AG. 1995. "Heavy metals in fish near a major primary treatment sewage plant outfall". *Marine Pollution Bulletin.* 30(10): 667-674.

Giesy, JR; Wiener, JC. 1977. "Frequency distribution of trace metal concentrations in five freshwater fishes". *Trans Am Fish Soc* 106: 393-403.

Gill, TS; Leitner, G; Porta, S; Epple, A. 1993. "Response of plasma cortisol to environmental cadmium in the eel, *Anguilla rostrata* Le Sueur". *Comp. Biochem. Physiol.* 104C: 489-495.

Gimeno, L; Ferrando, MD; Sánchez, S; Gimeno, LO; Andreu, E. 1995. "Pesticide effects on eel metabolism". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 31 (2): 153-157.

Giouranovits-Psyllidou, R; Georgakopoulos-Gregoriades, E; Vassilopoulou, V. 1994. "Monitoring of organochlorine residues in red mullet (*Mullus barbatus*) from Greek waters". *Baseline*, vol 28, número 2, february.

Glover, JW. 1979. "Concentrations of arsenic, selenium and ten heavy metals in school shark, *Galeorhinus australis* (MacCleay), and gummy shark, *Mustellus antarcticus* Günther, from Southeastern Australian waters". *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 30: 505-510.

Godsil, PJ; Johnson, WC. 1968. "Pesticide monitoring of the aquatic biota at the Rule Lake National Wildlife Refuge". *Pestic. Monit. J.*, 1: 21.

Gold, B; Leuschen, T; Brunk, G y Gingell, T. 1981. "Metabolism of a DDT metabolite via a chloroepoxide". *Chem. Biol. Interact.*, 35: 159.

Gómez, L; Masot, J; Soler, F; Durán, E; Roncero, V. 1998. "Structural and ultrastructural study of the gills of tench (*Tinca tinca*, L) after experimental poisoning with copper sulphate". *Revue Méd. Vét.*, 149 (5): 387-394.

González M^aJ; Fernández, M^aC; Rico, M^aC; Hernández, LM; Baluja, G. 1983. "Contaminación metálica del río Guadimamar y su zona de influencia en el Parque de Doñana". *V Congreso Nacional de Química Orgánica de Tenerife.*

González, J; Hernández, LM; Rico, G; Baluja, G. 1984. "Residues of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and heavy metals in the eggs of predatory birds from Doñana National Park (Spain), 1980-1983". *J Environ. Sci. Health Part B Pestic Food Contam Agric Wastes* 19 (8-9) (RECD759-772..

González, J; Hernández, M; Hernán, A; Baluja, G. 1985. "Multivariate analysis of water contamination by heavy metals at Doñana National Park". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 35: 266-271.

Gorbach, D; Haarring, R; Knauf, W Werner, HJ. 1971. "Residue analyses and biotests in rice fields of East Java, treated with Thiodan". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 6: 193.

Gorge, G; Nagel, R. 1990. "Toxicity of lindane, atrazine, and deltamethrin to early life stages of Zebrafish (*Brachydanio rerio*)". *Ecotoxicol. Environ. Safety* 20: 246-255.

Grant, BF y Mehrle, PM. 1970. "Chronic endrin poisoning in goldfish *Carassius auratus*". *J. Fish. Res. Board Can.*, 27: 2225.

Greer, GL y Paim, U. 1968. "Degradation of DDT in Atlantic salmon (*Salmo salar*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 25: 2321.

- Griffin, BR; Hobbs, MS; Gollon, JL.** 1997. "Effect of waterborne copper sulfate exposure on copper content in liver and axial muscle of Channel Catfish". *Journal of Aquatic Animal Health* 9: 144-150.
- Grosell, MH; Gogstrand, C; Wood, CM.** 1998. Renal Cu and Na excretion and hepatic Cu metabolism in both Cu acclimated and non acclimated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* 40: 275-291..
- Grosell, MH; Hogstrnad, C; Wood, CM.** 1998. "Renal Cu and Na excretion and hepatic Cu metabolism in both Cu acclimated and non acclimated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)". *Aquatic Toxicology* 40: 275-291.
- Grzenda, AR; Paris, DF; Taylos, WJ.** 1970. "The uptake, metabolism and elimination of Chlorinate residues by Goldfish (*Carassir auratus*) fed 14C-DDT contaminated diet". *Trans. Am. Fish Soc.* 99: 358-396.
- Guiney, PD; Peterson, RE.** 1980. "Distribution and elimination of a polychlorinated biphenyl after acute dietary exposure in yellow perch and rainbow trout". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 9: 667.
- Guitart, R; Martínez, B; Solar, M; Rodriguez, M; Mateo, R.** 2001. "Residuos organoclorados en peces de río de Cantabria". *Revista de Toxicología*, vol 18, número 3: 160.
- Gümğüm, B; Ünlü, E; Tez, Z; Gülsün, Z.** 1994. "Heavy metal pollution in water, sediment and fish from the Tigris River in Turkey". *Chemosphere*, vol 29, nº1: 111-116.
- Gunther, FA.** 1980. "Interpreting pesticide residue data at the analytical level". *Residue Rev.*, 76: 155.
- Haegle, MA; Hudson, RH.** 1974. "Eggshell thinning and residues in mallards one year after DDE exposure". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2: 356.
- Hall, LW; Sott, MC; Killen, WD.** 1998. "Ecological risk assessment of copper and cadmium in surface waters of Chesapeake Bay Watershed". *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol 17, nº 6, pp. 1172-1189.
- Halter, MT y Johnson, HE.** 1977. "A model system to study the desorption and biological availability of PCB in hydrosols" in *Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation*, ASTM STP 634, Mayer, FL y. *Hamelink, JL., Eds., American Society for Testing and Materials, Philadelphia*, 178.
- Hamelink, JL; Spacie, A.** 1977. "Fish and chemicals: the process of accumulation". *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17: 167.
- Hamelink, JL; Waybrant, RC.** 1976. "DDE and lindane in a large-scale model lentic ecosystem". *Trans. Am. Fish Soc.*, 105: 124.
- Hamelink, JL; Waybrant, RC y Ball, RC.** 1971. "A proposal: exchange equilibria control the degree chlorinated hydrocarbons are biologically magnified in lentic environments". *Trans. Am. Fish. Soc.*, 100: 207.
- Hamilton, EI.** 1989. "DDT residues in fishes from the eastern Arabian Sea". *Baseline*, vol 20, NO 12, december.
- Hamza-Chaffai, A; Roméo, M; El Abed, A.** 1996. "Heavy metals in different fishes from the Middle Eastern Coast of Tunisia". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 56: 766-773.
- Hannon, MR; Greichus, YA; Applegate, RL y Fox, AC.** 1970. "Ecological distribution of pesticides in Lake Pinsett, South Dakota". *Trans. Am. Fish. Soc.* 99: 496.

Hansen, DJ. 1969. "Avoidance of pesticides by untrained sheepshead minnows". *Trans. Am. Fish. Soc.*, 98: 426.

Hansen, DJ; Matthews, E; Nall, SL y Dumas, FP. 1972. "Avoidance of pesticides by untrained mosquitofish, *Gambusia affinis*". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 8: 46.

Hansen, DJ; Wilson, AJ, Jr. 1970. "Significance of DDT residues from the estuary near Pensacola, Fla.". *Pestic. Monit. J.*, 4:51.

Hansen, PD. 1980. "Uptake and Transfer of the Chlorinated Hydrocarbon Lindane (gamma-BHC) in a laboratory freshwater food chain". *Environ. Pol. (Series A)* 21: 137-140.

Hanson, DJ. 1966. "Significance of DDT residues in fishes from the estuary near Pensacola, Fla.". *Pestic. Monit. J.*, 4, 51.

Hargrave, BT; Phillips, GA. 1976. "DDT residues in benthic invertebrates and demersal fish in St. Margaret's Bay, Nova Scotia". *J. Gish. Res. Board Can.*, 33: 1692.

Harris, CR; Chapman, RA; Miles, FRW. 1977. "Insecticide residues in soils on fifteen farms in southwestern Ontario, 1964-1974". *J. Environ. Sci. Health, B12*, 163.

Hattula, ML. 1974. "Some aspects of the recovery of chlorinated residues (DDT-type compounds and PCB) from fish tissue by using different extraction methods". *Bull, Environ. Contam. Toxicol.*, 12:301.

Hayes, WJ. 1969. "Sweden bans DDT". *Arch. Environ. Health* 18: 872.

Heiny, JS; Tate, CM. 1997. "Concentration, distribution, and comparison of selected trace elements in bed sediment and fish tissue in the South Platte River basin, USA, 1992-1993". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 32, p. 246-259.

Hellou, J; Warren, WG; Payne, JF. 1993. "Organochlorines including polychlorinated biphenyls in muscle, liver, and ovaries of cod *Gadus morhua*". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 25 (4): 497-505.

Henderson, C; Pickering, QH y Tarzwell, CM. 1959. "Relative toxicity of ten chlorinated hydrocarbon insecticides to four species of fish". *Trans. Am. Fish. Soc.*, 88: 23.

Henry, KS; Kannan, K; Nagy, BW; Kevern, NR; Zabik, MJ; Giesy, JP. 1998. "Concentrations and hazard assessment of organochlorine contaminants and mercury in smallmouth bass from a remote lake in the upper peninsula of Michigan". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34: 81-86.

Hernández, F; Pastor, A; Gisbert, ML; Ansuategui, J; Serrano, R. 1992. "Biomonitoring of heavy metal distribution in the western Mediterranean Area of Spain". *Marine Pollution Bulletin*, vol 24, nº 10: 512-515.

Hernández, LM; Fernández, MA; González, MJ. 1989. "Total PCBs and PCB congeners in Spanish imperial eagle eggs". *Bull Environ Contam Toxicol*; 43 (5): 725-732.

Hernández, LM; Fernández, MA; González, MJ. 1992. "Organochlorine pollutants in water, soils, and earthworms in the Guadalquivir river, Spain". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 49: 192-198.

Hernández, LM; González, M^aJ; Baluja, G. 1976. "Contaminación del medio por plaguicidas. IX. Residuos de insecticidas clorados, difenilos policlorados y mercurio en sustratos bióticos y abióticos del río Guadalquivir". *A.T.A.*, vol 16, núm 2, junio.

- Hernández, LM; González, MJ; Rico, M^aJ, Fernández, MA; Aranda, A.** 1988. "Organochlorine and heavy metal residues in falconiform and ciconiform eggs Spain". *Bull Environ Contam Toxicol* 40 (1): 86-93.
- Herzel, F y Murty, AS.** 1984. "Do carrier solvents enhance the water solubility of hydrophobic compounds?". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 32: 53.
- Hesselberg, RJ; Johnson, JL.** 1972. "Column extraction of pesticides from fish, fish food and mud". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 7: 116.
- Hickman, CPJr; Trump, BF.** 1969. "The kidney" In Fish Physiology I, edited by W.S. Hoar and D. J. Randall. Academic Press, Orlando, FL, pp 90-239. .
- Hider, RC; Mason, CF; Bakaj, ME.** 1982. "Chlorinated hydrocarbon pesticides and polychlorinated biphenyls in freshwater fishes in the United Kingdom, 1980-1981: A report to the wildlife". *Trust Baltic Exchange Buildings, 21 Bury Street, London, EC3A5AU.*
- Hindin, E; Bennett, PJ.** 1970. "Occurrence of pesticides in aquatic environments. I. Insecticide distribution on an agricultural plot". *Wash. Etate Univ. Tech. Ext. Service, Pullman.*
- Hodgson, DW; Kantor, EJ; Mann, JB.** 1978. "Analytical methodology for the determination of Kepone residues in fish, shellfish, and hi-vol air filters". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 7:99.
- Hodson, PV.** 1976. "Delta-amino levulinic acid dehydratase activity of fish blood as an indicator of a garmpful exposure to lead". *J. Fish. Res. Board Can.*, 33: 268-271.
- Hodson, PV.** 1988. "The effect of metal metabolism on uptake, disposition and toxicity in fish". *Aquatic Toxicology*, 11: 3-18.
- Hodson, PV; Blunt, BR; Spry, DJ.** 1978. "Chronic toxicity of water-borne and dietary lead to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in Lake Ontario water". *Water Res.*, 12 (10): 869-878.
- Hodson, PV; Hilton, JW; Blunt, BR; Slinger, SJ.** 1980. "Effects of dietary ascorbic acid on chronic lead toxicity to young rainbow trout (*Salmo gairdneri*)". *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37: 170-176.
- Hodson, PV; Sprague, JB.** 1975. "Temperature-induced changes in acute toxicity of zinc to Atlantic salmon (*salmo salar*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 32:1.
- Hogstrand, C; Gassman, NJ; Popova, B; Wood, CM; Walsh, PJ.** 1996. "The physiology of massive zinc accumulation in the liver of female squirrelfish and its relationship to reproduction". *The Journal of Experimental Biology* 199: 2543-2554.
- Holcombe, GW; Benoit, DA; Leonard, EN; McKim, JM.** 1976. "Long-term effects of lead exposure on three generations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 33 (8); 1731-1741.
- Holden, AV.** 1962. "A study of the absorption of ¹⁴C-labelled DDT from water by fish". *Ann. Appl. Biol.*, 50: 467.
- Holden, AV.** 1972. "The effects of pesticides on life in freshwaters". *Proc. R. Soc. London, Ser. B.*, 180: 383.
- Holden, AV.** 1981. "Organochlorines-an overview-". *Mar. Pollut. Bull.* 12: 110.
- Hollis, L; Burnison, K; Playle, RC.** 1996. "Does the age of metal-dissolved organic carbon complexes influence binding of metals to fish gills?". *Aquatic Toxicology* 35: 253-264.

Hollis, L; Muench, L; Playle, RC. 1997. "Influence of dissolved organic matter on copper binding, and calcium on cadmium binding, by gills of rainbow trout". *Journal of Fish Biology* 50: 703-720.

Holmes, DC; Simmons, JH; Tatton, JO'G. 1967. "Chlorinated hydrocarbons in British wildlife,". *Nature*, 216: 227.

Howarth, RS y Sprague, JB. 1978. "Copper lethality to rainbow trout in waters of various hardness and pH". *Water Res.*, 12; 455-462.

Huckins, JN; Petty, JD. 1981. "Problems associated with the purification of pentachlorophenol for biological studies". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 27: 836.

Hughes JS. 1970. "Tolerance of striped bass, morone saxatilis (walbaum), larvae and fingerlings to nine chemicals used in pond culture" in. *proceedings of the 24th ann. conf, SE assoc of game and fish commissioners, ed columbia* 431-438.

Hughes, GM y Nemcsók, J. 1988. "Effects of low pH alone and combined with copper sulphate on blood parameters of Rainbow Trout". *Environmental Pollution* 55; 89-95.

Hunt, EG y Bischoff, AI. 1960. "Inimical effects on wildlife of periodic DDD applications to Clear Lake". *Calif. Fish Game*, 46: 91.

Hurley, JP ; Shaffer, MM ; Cowell, SE ; Overdier, JT ; Hughes, PE ; Armstrong, DE. 1996. "Trace metal assessment of Lake Michigan tributaries using low-levels techniques". *Environmental Science & Technology* 30 (6): 2093-2098.

Jackson, DA; Gardner, DR. 1978. "In vitro effects of DDT analogs on trout brain Mg²⁺-ATPases. I. Specificity and physiological significance". *Pestic. Biochem. Physiol.* 8(2): 113-122.

Janicki, RH y Kinter, WB. 1971. "DDT: disrupted osmoregulatory events in the intestine of the eel *Anguilla rostrata* adapted to seawater". *Science*, 173: 1146.

Jansson, B; Bergman, A. 1978. "Sulfur-containing derivatives of hexachlorobenzene (HCB)-metabolites in the rat.". *Chemosphere*, 7, 257.

Jantunen, LMM; Bidleman, TF. 1998. "Organochlorine pesticides and enantiomers of chiral pesticides in Arctic Ocean water". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 35: 218-228.

Jarvinen, AW y Tyo, RM. 1978. "Toxicity to fathead minnows of endrin in food and water". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 7: 409.

Jarvinen, AW; Hoffman, MJ y Thorslund, TW. 1977. "Long-term toxic effects of DDT food and water exposure on fathead minnows (*Pimephales promelas*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 34: 2089.

Jeanne-Levain, N. 1974. "Etude des effets de lindane sur la croissance et le développement de quelques organismes unicellulaires". *Bull. De la Société Zool. De France* 99: 105-109.

Jensen, S; Johnels, AG; Olsson, M; Otterlind, G. 1969. "DDT and PCB in marine animals from Swedish waters". *Nature*, 224: 247.

Jensen, S; Renberg, L; Verz, R. . "Rep. PCB Conf. II, Stockholm, December 1972, National Swedish Environment Protection Board, Publications 1973: 4E, citado en Hattula (1974)". .

Johnson, WW; Finley, MT. 1980. "Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates. Fish and wildlife Service Resource Publication 137,. *US Department of Interior, Washington, DC.*

- Jones, JRE.** 1938. "The relative toxicity of salts of lead, zinc, and copper to the stickleback". *J. Exp. Biol.*, 15: 394-407.
- Jones, JRE.** 1948. "A further study of the reactions of fish to toxic solutions". *J. Exp. Biol.*, 25: 22.
- Kannan, K; Yasunaga, Y; Iwata, H; Ichihshi, H, Tan.** 1995. "Concentrations of heavy metals, organochlorines, and organotins in horseshoe crab, *Tachypleus tridentatus*, from japanese coastal waters". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 28, 40-47.
- Karickhoff, SW.** 1979. "Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments". *Wat. Res*, 13, 241-248.
- Karickhoff, SW.** 1979. "Sorption kinetics of hydrophobic pollutants on natural sediments". *US EPA environm. Lab. Athens. GA. 30605 USA*, pp 113.
- Kawai, S; Fukushima, M; Miyazaki, N; Tatsukawa, R.** 1988. "Relationship between lipid composition and Organochlorine levels in tissues of Striped Dolphin". *Mar. Pollut. Bull.* 19: 129-133.
- Kawasaki, M.** 1980. "Experiences with the test scheme under the chemical control law of Japan: an approach to structure-activity correlations". *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 4: 444.
- Kay, J; Thomas DG; Brown, MW; Cryer, A; Shurben, D; Solbé, JF; Garvey, JS.** 1986. "Cadmium accumulation and protein binding patterns in tissues of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*". *Environ. Health Perspect.*, 65: 133-139.
- Kayser, R.; Sterling, D.** 1982. "Intermedia Priority Pollutant Guidance Documents". *Viviani (eds.)*. Washington, DC: U.S.Environmental Protection Agency, July 1982.,p. 2-5.
- Keck, G; Raffenot, J.** 1979. "Chemical contamination by PCBs in the fishes of a French River: the Furan's (Jura)". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 21: 689.
- Kellogg, RL; Bulkley, RV.** 1976. "Seasonal concentrations of dieldrin in water, channel catfish, and catfish-food organisms, Des Moines River, Iowa-1971/1973-". *Pestic. Monit. J.*, 9: 186.
- Kendrick, M.J.** 1992. "Metals in biological systems". *E. Horwood, New York*,.
- Kennish, MJ.** 1994. "Marine science series practical handbook of estuarine and marine pollution". *CRC Press, INC.: Boca Ratón, Florida, USA*
CRC Press, INC.: Boca Ratón, Florida USA.
- Kent, JC y Johnson, DW.** 1979. "Organochlorine residues in fish, water and sediment of American Falls Reservoir, Idaho, 1974". *Pestic. Monit. J.* 13: 28.
- Ketchum, BH; Zitko, V; Saward, D.** 1976. "Aspects of heavy metal and organohalogen pollution in aquatic ecosystems" in *Ecological Toxicology Research*, McIntyre, AD and Mill, CF.,. *Eds.*, *Plenum Press, New York*.
- Khan, MAQ; Feroz, M; Sudershan, P.** 1979. "Metabolism of cyclodiene insecticides by fish". *ACS Symp. Ser. 99 (Ch.3)*: 37-56.
- Kidd, KA; Hesslein, RH; Ross, BJ; Koczanski, K; Stephens, GR; Muir, DCG.** 1998. "Bioaccumulation of organochlorines through a remote freshwater food web in the Canadian Arctic". *Environmental Pollution* 102: 91-103.
- Kidwell, JM; Phillips, LJ; Birchard, GF.** 1995. "Comparative analysis of contaminant levels in bottom feeding and predatory fish using the National Biomonitoring Program data". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 54:919-923.

Kiffney, PM; Clements, WH. 1993. "Bioaccumulation of heavy metals by benthic invertebrates at the Arkansas River, Colorado". *Environ Toxicol Chem* 12 (8): 1507-1517.

Klaas, EE; Belisle, AA. 1977. "Organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl residues".

Klaassen, HE; Kadoum, AM. 1973. "Pesticide residues in natural fish populations of the Smoky Hill River of Western Kansas-1967-1969-". *Pestic. Monit. J.*, 7: 53.

Klaverkamp, JF; Macdonald, WA; Duncan, DA; Wagemann, R. 1984. "Metallothionein and acclimation to heavy metals in fish: a review". Chap 9. In "Contaminant Effects on Fisheries", edited by V.W. Cairns, P.V Hodson and J.O. Nriagu, vol 16, Adv. Env. Sci. Technol.. *John Wiley & Sons, Toronto.*

Klaverkamp, JF; Lockhart, WL; Metner, D y Grift, N. 1976. "Effects of chronic DDT/DDE exposure on anesthetic induction and recovery times in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 33: 1331.

Klavins, M; Rodivov, V; Versküns, G. 1998. "Metals and organochlorine compounds in fish from Latvian lakes". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60: 538-545.

Kleinert, SJ; Degurse, PE; Wieth, TL. 1968. "Occurrence and significance of DDT and dieldrin residues in Wisconsin fish". *Wis. Dep, Nat. Resour. Bull.*, 41: 43.

Klerks, PL; Lentz, SA. 1998. "Resistance to lead and zinc in the western mosquitofish *Gambusia affinis* inhabiting contaminated Bayou Trepagnier". *Ecotoxicology* 7: 11-17.

Koch, RB. 1970. "Inhibition of animal tissue ATPase activities by chlorinated hydrocarbon pesticides,". *Chem. Biol Interact.*, 1: 199.

Kock, G; Triendl, M; Hofer, R. 1998. "Lead (Pb) in Arctic Char (*Salvelinus alpinus*) from oligotrophic alpine lakes: Gills versus digestive tract". *Water Air and Soil Pollution* 102: 303-312.

Kosalwat, P; Knight, AW. 1987. "Chronic Toxicity of Cooper to a Partial life-cycle of the Midge *Chironomus decorus*". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 16: 283-290.

Kuhr, RJ; Davis, AC; Bourke, JB. 1977. "New York Food Life Sci.10: 18". .

Kurihara, N; Uchido, M; Fujita, T; Nakajima, M. 1973. "Estudies on BHC isomers and Related Compounds.V. Some Phusicochemical Properties of BHC-Isomers (1)". *Pest. Biochem. Physiol.* 2:383-390.

Labat, R; Pequignot, J; Chatelet, A. 1974. "Toxic action of copper on the gills of carp (*Cyprinus carpio*)". *Ann Limnol;* 10 (1): 109-114.

Lam, DL; Ko, PW; Wong, JK; Chan, KM. 1998. "Metal toxicity and metallothionein gene expression studies in Common Carp and Tilapia". *Marine Environmental Research*, vol 46, n^o1-5, pp. 563-566.

Larsson, P; Okla, L; Collvin, L. 1993. "Reproductive status and lipid-content as factors in PCB, DDT and HCH contamination of population of Pike (*Esox lucius* L)". *Environ. Toxicol. Chem.* 12: 855-861.

Laurén , DJ; McDonald, DG. 1987. "Acclimation to copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri*: biochemistry". *Can. J. Fish Aquat. Sci.* 44: 99-104.

Lauren, DJ; McDonald, DG. 1985. "The role of environmental calcium on branchial ion regulations in the rainbow trout, *Salmo gardneri* Richardson". *J. Comp. Pyusiol.* 155: 635-644.

- Lee, JH; Sylvester, JR y Nash, CE.** 1975. "Effects of mirex and methoxychlor on juvenile and adult striped mullet, *Mugil cephalus* L". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 14: 180.
- Lehotay, SJ; Harman-Fetcho, JA; McConnell, LL.** 1998. "Agricultural pesticide residues in oysters and water from two Chesapeake bay tributaries". *Marine Pollution Bulletin*, vol. 37, Nos 1-2, pp 32-44.
- Lemaire, P; Matthews, A; Forlin, L; Livingstone, DR.** 1994. "Stimulation of oxyradical production of hepatic microsomes of flounder (*Platichthys flesus*) and Perch (*Perca fluviatilis*) by model and pollutant xenobiotics". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 26: 191-200.
- Lemus, MJ; Chung, KS.** 1999. Effect of temperature on Copper toxicity, accumulation and purification in tropical fish juveniles *Petenia Karussii* (Pisces:Cichilidae). *Caribbean Journal of Science*, vol 35, nº 1-2: 64-69.
- Lichtenstein, EP; Fuhremann, TW; Schulz, KR.** 1971. "Persistence and vetical distribution of DDT, lindane, and aldrin residues, 10 and 15 years after a single soil application". *J. Agric. Food. Chem.*, 19, 718.
- Linde, AR; Sánchez-Galán, S; Valles-Mota, JP y García-Vazquez, E.** 1998. "Metallothionein as bioindicator of metal pollution in freshwater fishes". *Cuad invest biol (Bilbao)*, vol 20: 243-246.
- Lingaraja, R; Rao, PSS y Venugopalan, VK.** 1979. "DDT induced ethological changes in estuarine fish". *Environ. Biol. Fish.*, 4: 83.
- Lingaraja, T y Venugopalan, VK.** 1978. "Pesticide-induced phsiological and behavioural changes in an estuarine teleost *Therapon jarbua* (Forsk)". *Fish. Technol.*, 15: 115.
- Livonen, P; Piepponen, S; Verta, M.** 1992. "Factors affecting trace-metal bioaccumulation in Finnish headwater lakes". *Environmental Pollution* 78: 87-95.
- Lledos, JR; Morell, MA; Sanchez, J.** 1992. "Distribución de los microcontaminantes orgánicos en un ecosistema fluvial. Significación de los estudios de impacto". *Medioambiente-RETAMA*, septiembre-octubre: 65-70.
- Lloyd, R.** 1961. "Effect of dissolved oxygen concentration on the toxicity of several poisons to rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson)". *J. Exp. Biol.*, 38: 447-455.
- Lloyd, R.** 1979. "The use of the concentration-response relationship in assessing acute fish toxicity data". in *Analyzing the Hazard Evaluation Process*, Dickson, K.L., Maki, A. W., and Cairns, J., Jr., Eds., American Fisheries Society, Washington, DC, 58.
- Lockhart, WL; Metner, DA y Solomon, J.** 1977. "Methoxychlor residue studiese in caged and wild fish from the Athabasca River, Alberta, following a single application of blackfly larvicide". *J. Fish. Res. Board Can.*, 34: 626.
- López, JM; Ruíz, J; Borrell, A.** 1995. "Levels of ofganochlorine compounds in freshwater fish from Catalonia, N. E. Spain". *Chemosphere*, vol 31, No 6, pp 3523-3535.
- López, NI, Borrás, G; Vallespinos, F.** 1995. "Effect of heavy metals on enzymatic degradation of organic matter in sediments off Catalonia (Northeastern Spain)". *Scientia Marina*; 59 (2):149-154..
- Macek, KJ.** 1968. "Growth and resistance to stress in brook trout fed sublethal levels of DDT". *J. Fish. Res. Board Can.*, 25: 2443.
- Macek, KJ.** 1968. "Reproduction in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) fed sublethal concentrations of DDT". *J. Fish. Res. Board Can.*, 25: 1787.

- Macek, KJ.** 1968. "Growth and resistance to stress in brook trout fed sublethal levels of DDT". *J. Fish. Res. Board Can.*, 25: 2443.
- Macek, KJ, Petrocelli, SR y Sleight, BH.** 1979. "Considerations in assessing the potential for, and significance of biomagnification of chemical residues in aquatic food chains, in Aquatic Toxicology, ASTM STP 667, Marking, L. L. And Kimerle, RA, Eds., American Society for Testing and Materials, Philad. .
- Macek, KJ; Buxton, KS; Derr, SK; Dean, JW; Sauter, S.** 1976. "Chronic toxicity of lindane to selected aquatic invertebrates and fishes". *US Environmental Protection Agency Ecological Research Series EPA-600013-76-047. Washington DC.*
- Macek, KJ; Hutchinson, C y cope, OB.** 1969. "The effects of temperature on the susceptibilit of bluegills and rainbow trout to selected pesticides". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 4: 174.
- Madenjian, CP; Carpenter, SR; Eck, GW y Miller, MA.** 1993. "Accumulation of PCBs in lake trout (*Salvelinus namaycush*). An individual based model approach". *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50: 97-109.
- Maini, P; Collina, A.** 1975. "Photochemically induced artifact in the analysis of soil for residues of organochlorine pesticides". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 14: 593.
- Manny, BA; Nichols, SJ; Schloesser, DW.** 1991. "Heavy metals in aquatic macrophytes drifting in a large river". *Hydrobiologia* 219: 333-344.
- Marcelle, C y Thome, JP.** 1983. "Acute toxicity and bioaccumulation of lindane in Gudgeon, *Gobio gobio* (L.)". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 31: 453-458.
- Marcelle, C y Thome, JP.** 1984. "Relative importance of dietary and environmental sources of lindane in fish". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 33: 423-429.
- Márquez, M; Vodopivec, C; Casaux, R; Curtosi, R.** 1998. "Metal (Fe, Zn, Mn and Cu) levels in the Antarctic fish *Notothenia coriiceps*". *Polar Biol.* 20:404-408.
- Masahiro, O y Takahisa, H.** 1975. "Alpha- and gamma-BHC in Tokio rainwater (december 1968 to november 1969)". *Environ. Pollut.*, 9: 283.
- Matsumura, F.** 1985. "Toxicology of Pesticides", 2ª edición, Plenum Press, New York. .
- McCracken IR.** 1987. "in Cadmium in the Aquatic Environment, pp. 89-116". *Nriagu JO and Sprague JB, ed. NY,NY: Wiley.*
- McCracken, MS; Kanerva, RL, Alden, CL.** 1987. "Development of a short-term model of decalin inhalation nephrotoxicity in the male rat". *Food Chem Toxicol.*; 25 (1): 35-42.
- McElroy, AD; Chiu, SY; Nebgen, JW; Aleti, A; Vadegrift, AE.** 1975. "Water pollution from nonpoint sources". *Water Res.*, 9: 675.
- Mckim, J; Schmieder, P y Veith, G.** 1985. "Absorption dynamics of organic chemical transport across trout gills as related to octanol-water partition coefficient". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 77: 1.
- McNicholl, PG y Mackay, WC.** 1975. "Effect of DDT and MS 222 on learning a simple conditioned response in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 32: 661.
- Meany, KE y Pocker, Y.** 1979. "The in vitro inactivation of lactate dehydrogenase by organochlorine insecticides". *Pestic. Biochem. Physiol.*, 11: 232.

- Mehrle PM; Haines, TA; Hamilton, S; Ludke, L; Mayer, FL y Ribick, MA.** 1982. "Relationship between body contaminants and bone development in east-coast striped bass". *Trans. Am. Fish. Soc.*, 111: 231.
- Mehrle, PM; Stalling, DL y Blomfield, RA.** 1971. "Serum amino acids in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) as affected by DDT and dieldrin". *Comp. Bioche. Physiol.*, 388: 373.
- Melgar, MJ; Pérez, M; García, MA; Alonso, J; Mígue.** 1977. "Toxicity and accumulation profiles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after short-term exposure to cadmium". *Veterinary and Human Toxicology*, 39 (2), pp 79-83.
- Melnikov, NN.** 1971. "Chemistry of pesticides". *Residue Rev.*, 36: 480.
- Mendiola, P; Mataix, FJ; Illera, M; Varela, G.** 1981. "Influencia del lindano sobre la utilización nutritiva de la proteína por la Turcha (*Salmo gairdneri*)". *Rev. Esp. Fisiol.* 37: 141-146.
- Menone, ML; Aizpún, JE; Moreno, VJ; Lanfranchi, AL; Metcalfe, TL; Metcalfe, CD.** 2000. PCBs and organochlorines in tissues of silverside (*Odontesthes bonariensis*) from a coastal lagoon in Argentina. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 38: 202-208.
- Merck.** 1989. "The Merck Index". 11 th Ed., S. Budavari. Rahway.
- Miles, CJ; Pfeuffer, RJ.** 1997. "Pesticides in canals of South Florida". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 32: 337-345.
- Miller, MA.** 1994. "Organochlorine concentration dynamics in Lake Michigan Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 27: 367-372.
- Miller, PA; Munkittrick, KR; Dixon, DG.** 1992. "Relationship between concentrations of copper and zinc in water, sediment, benthic invertebrates, and tissues of white sucker (*Catostomus commersoni*) at metal-contaminated sites". *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49: 978-984.
- Miller, TG y Mackay, WC.** 1980. "The effects of hardness, alkalinity and pH of test water to the toxicity of copper to rainbow trout (*Salmo gairdneri*)". *Water Research*, 14; 129-133.
- Mitchel, A.I., Plack, PA y Thomson, IM.** 1977. "Relative concentrations of 14C-DDT and of two polychlorinated biphenyls in the lipids of cod tissues after a single overdose". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 6: 525.
- Mittal, PK; Adak, T; Sharma, VP.** 1991. "Acute toxicity of certain organochlorine, organophosphorus, synthetic pyrethroid and microbial insecticides to the mosquito fish *Gambusia affinis* (Baird and Girard)". *Indian. F. Malerial.* 28: 167-170.
- Moccia, RD; Leatherland, KF y Sonstegard, RA.** 1977. "Increasing frequency of thyroid goiters in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in the Great Lakes". *Science*, 198: 425.
- Monod, G; Keck, G.** 1972. "PCBs in Lake Geneva (Lake Lemán) fish". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 29: 570.
- Mora, M; Papoulias, D; Nava, I; Bucker, DR.** 2001. "A comparative assessment of contaminants in fish from four reservoirs of the Texas, USA-Tamaulipas, Mexico border region". *Environment International* 27, 15-20.
- Morel, FMM y Hering, JG.** 1993. "Principles and Applications of Aquatic Chemistry". *John Wiley and Sons, New York*, 588pp.
- Moriarty, F.** 1972. "The effect of pesticides on wildlife: exposure and residues". *Sci. Total Environ.*, 1: 267.

- Muir, DCG; Grift, NP.** 1981. "Environmental dynamics of phosphate esters. II. Uptake and bioaccumulation of 2-ethylhexyl diphenyl phosphate by fish". *Chemosphere*, 10: 847.
- Muralidharan, S.** 2000. "Organochlorine residues in the waters of Keoladeo National Park, Bharatpur, Rajasthan". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 65: 35-41.
- Muramoto, S.** 1980. "Effect of complexants (EDTA, NTA and DTPA) on the exposure to high concentrations of cadmium, copper, zinc and lead". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 25: 941-946.
- Murphy, BR; Atchison, GJ; McIntosh, AW.** 1978. "Cadmium and zinc content of fish from an industrially contaminated lake". *J. Fish Biol.* 13: 327-335.
- Murphy, PG.** 1970. "Effects of salinity on uptake of DDT, DDE and DDD by fish". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 5: 404.
- Murphy, PG y Murphy, JV.** 1971. "Correlation between respiration and direct uptake of DDT in the mosquito-fish *Gambusia affinis*". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 6: 581.
- Murty, AS.** 2000. "Toxicity of Pesticides to Fish, vol I.". *CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida*.
- Murty, AS y Priyamvada Devi, A.** 1982. "The effect of endosulfan and its isomers on tissue protein glycogen, and lipids in the fish *Channa punctata*". *Pestic. Biochem. Physiol.*, 17: 280.
- Mustafa, HT; Hassan, HMA; Abo-Melha, A; Rihan TI.** 1988. "Cadmium and zinc concentrations in the potable water of the eastern province of Saudi Arabia". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 40: 462-467.
- Myers, MS; Stehr, CM; Olson, OP; Johnson, LL; McCain, BB; Chan, SL; Varanasi, U.** 1994. "Relationship between toxicopathic hepatic lesions and exposure to chemical contaminants in English Sole (*Pleuronectes vetulus*), Starry Flounder (*Platichthys stellatus*), and White Croaker (*Genyonemus lineatus*) from selected marine sites on the P. Coast, USA. *Environ. Health. Persp.* 102: 200-215.
- Nau-Ritter, GM y Wurster, CF.** 1983. "Sorption of polychlorinated biphenyls (PCB) to clay particulates and effects of desorption on phytoplankton". *Water Res.*, 17: 383.
- Nau-Ritter, GM y Wurster, CF y Rowland, RG.** 1982. "Polychlorinated biphenyls (PCB) desorbed from clay particles inhibit photosynthesis by natural phytoplankton communities". *Environ. Pollut.*, 28: 177.
- Neely, WB; Branson, DR y Blau, GE.** 1974. "Partition coefficient to measure bioconcentration potential of organic chemicals in fish". *Environ. Sci. Technol.* 8; 1113.
- Nemcsok, J; Boross, L.** 1982. "Comparative studies on the sensitivity of different fish species to metal pollution". *ACTA BIOL ACAD SCI HUNG* 33 (1): 23-7.
- Newland, LW; Chester, G; Lee, GB.** 1969. "Degradation of gamma-BHC in Simulated Lake Impoundments as affected by Aeration". *J. Water. Pollut. Contr. Fed.* 41: R174-R188.
- Nicholson, HP.** 1966. "Occurrence and significance of pesticide residues in water". *Proc. Wash. Acad. Sci.* 59: 77.
- Niimi, AJ.** 1983. "Biological and toxicological effects of environmental contaminants in fish and their eggs". *Can. J. Fish Aquat. Sci.* 40: 306-312.
- Norrgrén, L; Pettersson, U; Örn, S; Bergqvist, PA.** 2000. "Environmental monitoring of the Kafue river, located in the copperbelt, Zambia". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 38, 334-341.

- Norstrom, RJ; McKinnon, AE y deFreitas ASW.** 1976. "A bioenergetics-based model for pollutant accumulation by fish. Simulation of PCB and methylmercury residue levels in Ottawa River yellow perch (*Perca flavescens*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 33: 248.
- Nriagu, JO; Pacyna, JM.** 1998. "Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals". *Nature* 333: 134-139.
- Oehme, M; Lund, P.** 1979. "Lead poisoning", in Hazardous and toxic substances, vol. 2. Toxicity of heavy metals in the environment, parts 1 and 2. *Marcel Dekker, INC.: New York, USA.*
- Ogilvie, DM y Anderson, JM.** 1965. "Effect of DDT on temperature selection by young Atlantic salmon, *Salmo salar*". *J. Fish. Res. Board Can.*, 22: 503.
- Ogilvie, DM y Miller, DL.** 1976. "Duration of a DDT-induced shift in the selected temperature of Atlantic salmon (*salmo salar*)". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 16: 86.
- Ohinsa, N; Yamaguchi, M.** 1978. "Degradation of gamma-BHC in Flooded Soils Enriched with Peptane". *Agric. Biol. Chem.* 42: 1983-1987.
- Ohinsa, N; Yamaguchi, M.** 1979. "Clostridium Species and gamma-BHC Degradation in Paddy Soil". *Soil Biol. Biochem.* 11: 645-649.
- Oloffs, PC; Albright, LF; Szeto, SY; Lau, J.** 1973. "Factors Affecting the Behaviour of Five Chlorinated Hydrocarbons in Two Natural Waters and their Sediments". *J. Fish. Res. Board. Can.* 30: 1619-1623.
- Olson, KR; Bergman, HL y Fromm, PO.** 1973. "Uptake of methyl mercuric chloride and mercuric chloride by trout: a study of uptake pathways into the whole animal and uptake by erythrocytes in vitro". *J. Fish. Res. Board Can.*, 30: 1293.
- Olsson, P; Larsson, A; Maage, A; Haux, C; Bonham, K; Zafarullah, M; Gedamu,.** 1989. "Induction of metallothionein synthesis in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, during long term exposure to waterborne cadmium". *Fish Physiol Biochem* 6: 221-229.
- Pain, DJ.** 1995. "Lead in the Environment", cap 16 del libro "Handbook of Ecotoxicology" aut. David J. Hoffman, Barnett A. Rattner, G. Allen Burton, Jr y John Cairns, Jr. CRC press, Inc. .
- Palmer, CM; Maloney, TE.** 1955. "Preliminary Screening for potential algicides". *The Ohio Journal of Science* 55: 1-8.
- Papageorgiou, NK.** 1977. "Fecundity and reproduction of perch (*Perca fluviatilis* L) in lake Agios Vassilios, Greece". *Freshwater Biol.*, 7: 231-232.
- Pardo, R; Barrado, E; Arranz, A; Pérez, JM; Vega, M.** 1989. "Levels and speciation of heavy metals in waters of valladolid". *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, vol. 37, pp 117-123.
- Parrish, PR; Schimmel, SC; Hansen, DJ; Patrick, JM, Jr; Forester, J.** 1976. "Chlordane: effects on several estuarine organisms". *J. Toxicol. Environ. Health*, 1: 485.
- Pastel, M; Bush, B; Kim, JS.** 1980. "Accumulation of polychlorinated biphenyls in American shad during their migration in the Hudson River, Spring, 1977". *Pestic. Monit. J.* 14: 11.
- Pastor, A; Vazquez, E; Ciscar, R; De la Guardia, M.** 1997. "Efficiency of the microwave-assisted extraction of hydrocarbons and pesticides from sediments". *Analytica Chimica Acta* 344 (3). 241-249.
- Patric, FM; Loutit, M.** 1978. "Passage of metals to freshwater fish from their food". *ater Res* 12: 395-398.

Pereira, WE; Domagalski, JL; Hostettler, FD; Brown, LR; Rapp, JB. 1996. "Occurrence and accumulation of pesticides and organic contaminants in river sediment, water and clam tissues from the San Joaquin river and tributaries, California". *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol 15, no. 2: 172-180.

Perkins, EJ; Griffin, B; Hobbs, M; Gollon, J; Woldord, L; Schlenk, D. 1997. "Sexual differences in mortality and sublethal stress in channel catfish following a 10 week exposure to copper sulfate". *Aquatic toxicology* 37: 327-339.

Phillips, DJH. 1978. "Use of biological indicator organisms to quantitate organochlorine pollutants in aquatic environments- an overview,". *Environ. Pollut.*, 16: 167.

Pickering, I; Carle, DO; Pilli, A; Willingham, T; Lazorchak, JM. 1989. "Effect of pollution on freshwater organisms". *J. WPCF* 61: 998-1041.

Pickering, QH; Henderson, C; Lemke, AE. 1962. "The toxicity of organic phosphorus insecticides to different species of water fishes". *Trans. Am. Fish. Soc.*, 91: 175.

Pierce, RH; Olney, CE; Felbeck, GT. 1974. "p,p'-DDT adsorption to suspended particulate matter in sea-water". *Ger. Cos. A* 38: 1061-1073.

Playle, RC; Dixon, G y Burnison, K. 1993. "Copper and Cadmium binding to fish gills: modification by dissolved organic carbon and synthetic ligands". *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, vol. 50.

Pocker, Y; Beug, WM y Ainarde, VR. 1971. "Carbonic anhydrase interaction with DDT, DDE, and dieldrin". *Science*, 174: 1336.

Post, G y Schroeder, TR. 1971. "The toxicity of four insecticides to four salmonid species". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 6, 144.

Premdas, FM y Anderson, JM. 1963. "The uptake and detoxification of ¹⁴C-labelled DDT in Atlantic salmon, *salmo salar*". *J. Fish. Res. Board Can.*, 20: 827.

Pryamvada Devi, A; Rao, DMR; Tilak, KS y Murty, AS. 1981. "Relative toxicity of the technical grade material, isomers, and formulations of endosulfan to the fish *Channa punctata*". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 27: 239.

Quistad, GB, Schooley, DA, Staiger, LE; Bergot, BJ; Sleight, BH; Macek, KJ. 1976. "Environmental degradation of the insect growth regulator methoprene. IX. Metabolism by bluegill fish". *Pestic. Biochem. Physiol.*, 6: 523.

Raldúa Pérez, D. 1995. "Estudio de la Contaminación por plaguicidas organoclorados y mercurio en la ictiofauna de los ríos altoaragoneses Gállego y Cinca". *Tesis doctoral*.

Rand, GM; Petrocelli, SR. 1985. "Fundamentals of Aquatic Toxicology". *Hemisphere Publishing Company, New York, capítulo 13, pgs 374-415*.

Randall, WF; Dennis, WH y Warner, MC. 1979. "Acute toxicity of dechlorinated DDT, chlordane and lindane to bluegills (*Lepomis macrochirus*) and *Daphnia magna*". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 21: 849.

Rao, DMR; Devi, AP y Murty, AS. 1980. "Relative toxicity of endosulfan, its isomers, and formulated products to the freshwater fish *Labeo rohita*". *J. Toxicol Environ. Health*, 6: 825.

Rao, DMR; Devi, AP y Murty, AS. 1981. "Toxicity and metabolism of endosulfan and its effect on oxygen consumption and total nitrogen excretion of the fish *Macrogathus aculeatum*". *Pestic. Biochem. Physiol.*, 15: 282.

- Rao, DMR; Murty, AS.** 1982. "Toxicity and metabolism of endosulfan in 3 freshwater catfishes". *Environ. Pollut. Ser. A. Ecol. Biol.* 27 (3): 223-232..
- Rao, DMR; Priyamvada Devi, Ay Murty, AS.** 1980. "Relative toxicity of endosulfan, its isomers, and formulated products to the freshwater fish, *Labeo rohita*". *J. Toxicol. Environ. Health*, 6: 825.
- Reinert, RE.** 1970. "Pesticide concentrations in Great Lakes fish,". *Pestic. Monit J.*, 3:233.
- Reinert, RE.** 1972. "Accumulation of dieldrin in an alga (*Scenedesmus obliquus*), *Daphnia magna*, and the guppy (*Poecilia reticulata*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 29: 1413.
- Reinert, RE; Bergman, HL.** 1974. "Residues of DDT in lake trout (*Salvelinus namaycush*) and coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) from the Great Lakes,". *J. Fish. Res. Board Can.*, 31: 191.
- Reinert, RE; Stone, LJ; Willford, WA.** 1974. "Effect of temperature on accumulation of methylmercuric chloride and p,p'-DDT by rainbow trout (*Salmo gairdneri*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 31: 1649.
- Repetto, M.; Martínez, D.; P. Sanz.** 1995. "Actualización de la toxicología de los plaguicidas" en libro *Toxicología avanzada*. p. 557-601. M. Repetto. (ed.). Díaz de Santos. Madrid..
- Ricard, AC; Daniel, C; Anderson, P; Hontela, A.** 1998. "Effects of subchronic exposure to cadmium chloride on endocrine and metabolic functions in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 377-381.
- Richou-Bac, L; Venant, A.** 1980. "Contamination des Denrées D'origine Animale par les résidus de Composés organochlorés persistants: Pesticides et diphényles polychlorés". *RTVA* 158: 13-19.
- Rico, M^aC, González, M^aJ; Hernández, LM; Baluja, G.** 1983. "Contaminación organoclorada en aguas del Parque Nacional de Doñana y zonas adyacentes". *V Congreso Nacional de Química Orgánica (Tenerife)*.
- Rico, M^aC; Hernández, M; González, M^aJ; Fernández, MA; Montero, MC.** 1987. "Organochlorine and metal pollution in aquatic organisms sampled in the Doñana National Park during the period 1983-1986". *Bull. Environ. Contam. Toxicol* 19: 1076-1083.
- Rico, M^aC; Hernández, L; Fernández, M; González, M^aJ; Montero, M.** 1989. "Organochlorine contamination in water of the Doñana National Park". *Wat. Res.* 23 (1): 57-60.
- Roberts, JR, DeFrietas, ASW; Gidney, MAJ.** 1977. "Influence of lipid pool size on bioaccumulation of the insecticide chlordane by northern redhorse suckers (*Mixostoma macrolepidotum*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 34: 89.
- Roberts, JR; de Freitas, ASW y Gidney, MAJ.** 1977. "Influence of lipid pool size on bioaccumulation of the insecticide chlordane by northern redhorse suckers (*Mixostoma macrolepidotum*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 34: 89.
- Robinson, J; Avenant-Oldewage, A.** 1997. "Chromium, copper, iron and manganese bioaccumulation in some organs and tissues of *Oreochromis mossambicus* from the lower Olifants River, inside the Kruger National Park". *Water SA*, vol 23, n^o4: 387-403.
- Roch, J; Maly, EJ.** 1979. "Relationship of cadmium-induced hypocalcemia with mortality in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and the influence of temperature on toxicity". *J. Fish. Res. Board Can.*, 36:1297.
- Roch, M; McCarter, JA.** 1984. "Hepatic metallothionein production and resistance to heavy metals by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). I. Exposed to an artificial mixture of zinc, copper and cadmium". *Comp. Biochem. Physiol.* 77C; 71-78.

Roch, M; McCarter, JA; Matheson, AT; Clark, MJK; Olafson, RW. 1982. "Hepatic metallothionein in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) as an indication of metal pollution in the Campbell River system". *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 39: 1596-1601.

Rock, M y McCarter, JA. 1984. "Hepatic metallothionein production and resistance to heavy metals by rainbow trout (*salmo gairdneri*).II. Held in a seriee of contaminated lakes". *Comp. Biochem. Physiol.* 71, nº1, pp 77-82.

Roncero, V; Durán, E; Soler, F; Masot, J; Gómez, L. 1992. "Morphometric, Structural, and Ultrastructural Studies of Tench (*Tinca tinca* L.) Hepatocytes after Copper Sulfate Administration". *Environmental Research*, 57, 45-58.

Roncero, V; Vecente, JA; Redondo, E; Gazquez, A; Durán, E. 1990. "Experimental lead nitrate poisoning: Microscopic and ultrastructural study of the gills of Tench (*Tinca tinca*, L)". *Environmental Health Perspectives*, vol 8: 137-144.

Rudd, RL; Herman, SG. 1972. "Exosystem transferal of pesticide residues in an aquatic environment". *Environmental Toxicology of Pesticides, part VII. Academic Presss, New York, chap 1.*

Sackmaverova, M; Palúsova, O; Szokolay, A. 1977. "Contribution to the study of drinking water, Danube water and Biocenose contamination with chlorinated insecticides". *Water Research* 11: 551-556.

Sadiq, M. 1992. "Environmental science and pollution control series vol. 1. toxic metal chemistry in marine environments". *Environmental Science and Pollution control series, vol. 1. toxic metal chemistry in marine environments. vii+390p. Marcel Dekker, inc..*

Sahagun, AM; Teran, MT; García, JJ; Sierra, M; Fernández, N; Díez, MJ. 1998. "Organochlorine pesticide residues in muscle tissue of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, taken from four fish farms in Leon, Spain". *Food Aditives and Contaminants* 15 (5): 501-505.

Saiki, MK; Schmitt, CJ. 1986. "Organochlorine chemical residues in bluegills and common carp from irrigated San Joaquin Valley Floor, California". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 15: 357-366.

Samiullah, Y. 1990. Biological monitoring of environmental contaminants: Animals. *Marc report number 37. Gems monitoring and assessment research centre. King's College London. Univerity of London. 767 pags.*

Sánchez-Galán, S; Valles Mota, JP; Fernández de la Campa, MR; sanz-Medel, A; García-Vazquez, E; Linde, AR. 1998. "Pattern of heavy metal accumulation in different tissues of freshwater species". *Cuad Invest. Biol. (Bilbao)*, vol 20: 305-308.

Sanders, HO y Cope, OB. 1966. "Toxicities of several pesticides to two species of cladocerans". *Trans. Am. Fish. Soc.*, 95: 165.

Särkkä, J; Hattula, ML; Janatuinen, J; Paasivirta, J. 1978. "Cholrinated hydrocarbons and mercury in aquatic vascular plants of Lake Pijänne, Finland". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 20:361-368.

Sastry, KV y Sharma, SK. 1978. "The effect of in vivo exposure of endrin on the activities of acid, alkaline and glucose-6-phosphatases in liver and kidney of *Ophiocephalus (Channa) punctatus*". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 20: 456.

Sastry, KV; Gupta, PK. 1978. "Alterations in the activity of some digestive enzymes of *Channa punctatus* exposed to lead nitrate". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 19: 549-555.

- Schamburg, FD; Howard, TE y Walden, CC.** 1967. "A method to evaluate the effects of water pollutants on fish respiration". *Water Res.*, 1: 731.
- Scherer, E.** 1975. "Avoidance of fenitrothion by goldfish (*Carassius auratus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 13: 492.
- Scheuhammer, AM; Norris, SL.** 1996. "The ecotoxicology of lead shot and lead fishing weights". *Ecotoxicology* 5: 279-295.
- Schimmel, SC; Parrish, PR; Hansen, DJ; Patrick, JM y Forester, J.** 1975. "Endrin: effects on several estuarine organisms, Proc. 28th Annu. Conf. Southeastern Assoc. Game Fish Comm., White Sulphur Springs, W. Va., 187. .
- Schimmel, SC; Patrick, JM Jr y Forester, J.** 1976. "Heptachlor: uptake, depuration, retention, and metabolism by spot, *Leiostomus xanthurus*". *J. Toxicol Environ. Health* 2(1): 169-178.
- Schimmel, SC; Patrick, JM Jr y Forester, J.** 1977. "Toxicity and bioconcentration of BHC and lindane in selected estuarine animals". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 6: 355.
- Schoettger, RA.** 1980. "Toxicology of Thiodan in several fish and aquatic invertebrates, in Investigations in Fish Control, Bureau of Sport Fisheries and Wildlife, Fish and Wildlife Service, US Department of the Interior, Washington, DC. .
- Schulz-Baldes, M; Rehm, E; Prause, B.** 1983. "The impact of complexed heavy metals upon a wadden sea environment as tested by field experiments with the bremerhaven caisson". *Water Sci Technol* 18 (4-5): 346.
- Scott, GI; Fulton, MH, Moore, DW; Chandler, GT; Key, PB; Hampton TW; Marcus, JM; Jackson, KL; Baughman, DS; Trim, AH; Loudon, CJ; Patterson, ER.** 1990. "Agricultural insecticide runoff effects on estuarine organisms: Corrlating laboratory and field toxicity testing with ecotoxicological biomonitoring". CR-813138-02-1, Southeast Fisheries Center,. *US National Marines Fisheries Service, Charleston, SC.*
- Shaffi, SA.** 1979. "The acute toxicity of heptachlor for freshwater fishes". *Toxicol. Lett.* 4 (1): 31-37.
- Shaffi, SA.** 1979. "Lead toxicity, biochemical and physiological imbalance in nine freshwater lelosts". *Toxicol. Lett.*, 4: 155-161.
- Shaffi, SA; Dubey, RP.** 1989. "DDT toxicity: Variations in tissue non-specific phosphomonoesterases and gluconeogenic enzymes in three teleost". *Acta Phusiol. Hung.* 74: 57-62.
- Shailaja, MS; Singbal, SYS.** 1994. "Organochlorine pesticide compounds in organisms from the Bay of Bengal". *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 39: 219-226.
- Shailaja, MS; Singbal, SYS.** 1994. Organochlorine pesticide compounds in organisms from the Bay of Bengal. *Estuarine, coastal and Shelf Science* 39: 219-226.
- Sharom, MS; Miles, JR; Harris, CR; McEwen, FL.** 1980. "Persistence of 12 Insecticides in Water". *Water Res.*14: 1089-1093.
- Shen, L; Lam, KL; Ko, PW; Chan, KM.** 1998. "Metal concentrations and analysis of metal binding protein fractions from the liver of Tilapia collected from Shing Mun River". *Marine Environmental Research*, vol 46, n^o1-5, pp. 597-600.
- Simal, J; Creus, JM; Torres, JM.** 1984. "Residuos de pesticidas y policlorobifenilos en aguas usadas para abastecimiento en Galicia". *Técnicas de LABORATORIO*, n^o 121.

Singh, PP y Chawla, RP. 1988. "Comparison of sulfuric acid treatment and column chromatographic clean-up procedures for the gas chromatographic determination of organochlorine compounds in some food commodities". *J Chromatogr.* 457 (0): 387-392..

Singh, S; Sahai, S. 1990. "Changes in Gill Structure induced by BHC, lindane and endosulfan in the fresh-water teleost *Puntius ticto* (Ham)". *Folia. Morphol. Praha.* 38: 423-432.

Sivieri, S; Buggiani; Vannucchi, C. 1980. "Mercury and lead concentrations in some species of fish from the Tuscan coasts (Italy)". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 25; 90-92.

Skidmore, JF. 1970. "Respiration and osmoregulation in rainbow trout with gills damaged by zinc sulphate". *J. Exptl. Biol.*; 52(2), 481-94.

Smith, AG. 1991. "Handbook of Pesticide Toxicology". *Academia Press, Inc.*, pp 731-868.

Smith, WE; Funk, K; Zabik, ME. 1975. "Effects of cooking on concentration of PCB and DDT compounds in chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) and coho (*O. kisutch*) salmon from Lake Michigan". *J. Fish. Res. Board Can.*, 30: 702.

Södergren, A; Kijrsarai, R; Gharibzadeh, M; Moinpour, A. 1978. "Organochlorine residues in aquatic environments in Iran, 1974". *Pestic. Monit. J.*, 12: 81.

Soengas, JL; Agra-Lago, MJ; Carballo, B; Andrés, MD; Veira, JAR. 1996. "Effect of an acute exposure to sublethal concentrations of Cadmium on liver carbohydrate metabolism of Atlantic Salmon (*Salmo salar*)". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57: 625-631.

Solbe, JF. 1974. "The toxicity of zinc sulphate to rainbow trout in very hard water". *Water Res* 8 (6): 389.

Somero, GN; Chow, TJ; Yancey, PH; Snyder, CB. 1977. "Lead accumulation rates in tissues of the estuarine teleost fish, *Gillichthys mirabilis*: salinity and temperature effects". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 6: 337-348.

Sonzogni, WC; Chesters, G; Coote, DR; Jeffs, DN; Konrad, JC; Ostry, RC; Robinson, JB. 1980. "Pollution from land runoff". *Environ. Sci. Technol.*, 14: 148.

Spacie, A y Hamelink, JC. 1982. "Alternative models for describing the bioconcentration of organics in fish". *Environ. Toxicol. Chem.*, 1: 309.

Spear, PA. 1981. "Zinc in the aquatic environment: Chemistry, distribution and toxicology". *Natl Res Counc Can Assoc Comm Sci Criter Environ Qual Publ*; 0 (17589): 1-145.

Sprage, JB. 1971. "Measurement of pollutant toxicity of fish. III. Sublethal effects and "SAFE" concentrations". *Water Res.*, 5: 245.

Srivastava, AK; Mishra, S. 1979. "Blood dyscrasia in a teleost, *Colisa fasciatus* after acute exposure to sublethal concentrations of lead". *J. Fish Biol.* 14 (2): 199-204.

Stevens, LJ; Colier, CW; Woodham, DW. 1970. "Monitoring pesticides in soils from areas of regular, limited and no pesticide use". *Pestic. Monit. J.*, 4: 145.

Stubblefield, WA; Steadman, BL; La Point, TW; Bergman, HL. 1999. "Acclimation-induced changes in the toxicity of zinc and cadmium to rainbow trout". *ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND CHEMISTRY*; 18 (12): 2875-2881..

Sugiura, K; Washino, T; Hattori, M; Sato, E; Goto, M. 1979. "Accumulation of organochlorine compounds in fishes. Difference of accumulation factors by fishes". *Chemosphere*, 7: 359.

- Sullivan JF; Jetton MM; Hahn HKJ; Burch, R.** 1980. "Enhanced lipid peroxidation in liver microsome of zinc deficient rats". *Am J Clin Nutr* 33: 51-56.
- Surak, JG y Bradley, RL, Jr..** 1976. "Transport of organochlorine chemicals across cell membranes". *Environ. Resl*, 11:343.
- Suresh, A; Sivaramakrishna, B, Victoriamma, PC, Radhakrishnaiah, K.** 1992. "Comparative study on the inhibition of acetylcholinesterase activity in the freshwater fish *Cyprinus carpio* by mercury and zinc". *BIOCHEM INT*; 26 (2): 367-375.
- Tabane, S; Tatsukawa, R; Tanaka, H; Maruyama, K; Miyazaki, N y Fijiyama, T.** 1981. "Distribution and total burdens of chlorinated hydrocarbons in bodies of Striped Dolphin (*Stenella coeruleoalba*)". *Agric. Biol. Chem.* 45: 2569-2578.
- Tabche, LM; Martinez, CM; Sánchez-Hidalgo, E.** 1990. "Comparative study of toxic lead effect on gill and hemoglobin of tilapia fish". *J. Appl. Toxicol.*, 10 (3): 193-196.
- Tao, S; Liu, C; Dawson, R; Cao, J; Li, B.** 1999. "Uptake of particulate lead via the gills of fish (*Carassius auratus*)". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 37, 352-357.
- Tariq, J; Ashraf, M; Jaffar, M; Afzal, M.** 1996. "Pollution status of the Indus River, Pakistan, through heavy metal and macronutrient contents of fish, sediment and water". *Wat. Res. Vol. 30, n° 6: 1337-1344.*
- Tarzell, CM.** 1963. "Pesticides. Their use and effect". *NY. Star Legislative Symposium, Albany, New York. Ed G.A. Swanson, p 30.*
- Tate DJ; Miceli MV; Newsome DA.** 1999. "Zinc protects against oxidative damage in cultured human retinal pigment epithelial cells". *Free Radic Bio. Med* 26: 704-713.
- Taylor, EJ; Blockwell, SJ; Maund, SJ; Pascoe, D.** 1993. "Effects of lindane on the life-cycle of a freshwater macroinvertebrate *Chironomus riparius* Meigen (Insecta: Diptera)". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 24: 145-150.
- Thomas DW.** 1991. in "Metals and Their Compounds in the Environment". *Merian E Ed. Weinheim, Fed Rep Ger: VCH, pp. 1309-42.*
- Thomas, P; Wofford, HW.** 1993. "Effects of cadmium and Aroclor 1254 on lipid peroxidation, glutathione peroxidase activity, and selected antioxidants in Atlantic croaker tissues". *Aquatic Toxicology*, 27: 159-178.
- Thompson, KW; Hendricks, AC; Cairns, JJr.** 1980. "Acute toxicity of Zinc and Copper singly and in combination to the Bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 25:122-129.
- Thornton I.** 1992. "in Cadmium in the Human Environment". *IARC Sci Publ* 118: 149-62.
- Thybaud, E; Caquet, T.** 1991. "Uptake and Elimination of lindane by *Lymnaea palustris* (Mollusca: Gastropoda): A pharmacokinetic approach". *Ecotoxicol. Environ. Safety* 21: 365-376.
- Tooby, TE y Durbin, FJ.** 1975. "Lindane residue accumulation and elimination in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) and roach (*Rutilus rutilus* Linnaeus)". *Environ. Pollut.*, 8: 79.
- Torreblanca, A; Del Ramo, J; Díaz-Mayans, J.** 1989. "Gill ATPase activity in *Procambarus clarkii* as an indicator of heavy metal pollution". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 42: 829-834.
- Tsai, C; Chang, K.** 1981. "Effect of sex and size on copper susceptibility of the common guppy, *Lebistes reticulatus* (Peter)". *J. Fish Biol.*, 19: 683-689.

Tulp, M. Th. M; hay, K; Carson, WG; Zitko, V y Hutzinger, O. 1968. "Effect os salinity on uptake of 14C-2,2', 4,5,5'-pentachlorobiphenyl by juvenile Atlantic salmon". *Chemosphere*, 8: 243.

U.S. Coast Guard, Department of Transportation. 1985. "CHRIS - Hazardous Chemical Data. Volume II". *Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office, 1984-5.*

U.S. Environmental Protection Agency. 1977. "Air Quality Criteria for Lead". pp. 6-1 to 6-28 *USEPA-600/8-77-017.*

U.S. Environmental Protection Agency. 1979. "Drinking water regulations-amendments".. *Federal Register 44 (140): 42250.*

U.S. Environmental Protection Agency. 1980. "Water quality criteria for copper". *Washington D.C: USEPA, 1598 pp.*

U.S. Environmental Protection Agency. 1985. "Ambient Water Quality Criteria Doc: Cadmium p.59". *EPA 440/5-84-032.*

U.S. Environmental Protection Agency. 1986. "Pesticide Fact Sheet Number 109: Chlordane". *Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC,.*

U.S. Environmental Protection Agency. 1987. "Water quality criteria for zinc". *Washington D.C: USEPA, 99p..*

Uchida, N; Musachi, T; Katuura, H; Anzai, H y Nishide, E. 1988. "Uptake and fate of p,p'-DDT in Carp and Tilapia". *Nip. Suis. Gak. 54: 129-133.*

US Dept of Health and Human Services. 1993. "Toxicological Profile For Zinc ATSDR/TP-93/15". .

US Dept of Health and Human Services. 1993. "Toxicological Profile For Zinc". *ATSDR/TP-93/15.*

US Environmental Protection Agency. 1989. Environmental Fate and Effects Division, Pesticide Environmental Fate One Line Summary: DDT (p, p'). *Washington, DC.. .*

Valenta, P; Rützel, H; Nürnberg, HW; Stoeppler, M. 1977. "Trace chemistry of toxic metals in biomatrices. II. Voltammetric determination of the trace content of cadmium and other toxic metals in human whole blood". *Z. Anal. Chem., 285: 25-34.*

Valverde, A; González, E. 1992. "Residuos de Plaguicidas". *Actas del II seminario internacional sobre residuos de plaguicidas. Instituto de Estudios Almerienses, Diputación de Almería.*

Vanderford, MJ; Hamelink, JL. 1977. "Influence of environmental factors on pesticide levels in sport fish". *Pestic. Monit. J., 11: 138.*

Veith GD ; DeFoe DL ; Bergstedt BV. 1979. "Measuring and estimating the bioconcentration factor of chemicals in fish". *J. Fish. Res. Board Can. 36(9): 1040-1048.*

Veith, GD; Lee, GF. 1971. "Chlorobiphenyl (PCBs) in the Milwaukee River". *Water Res., 5: 1107.*

Venant, A; Borrel, S; Mallet, J; Gillon, E. 1989. "Contamination in food by organochlorine compound residues from 1980 to 1987 regulatory considerations". *Sci Aliments 9 (3): 473-489.*

Verma, SR; Bansal, SK y Dalela, RC. 1978. "Toxicity of selected organic pesticides to a freshwater teleost fish, *Saccobranchus fossilis* and its application in controlling water pollution". *Arch. Environ. Contam. Toxicol, 7: 317.*

- Verschueren, K.** 1996. "Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals". ed. New York, NY, 3^a Ed.
- Versteeg, DJ; Giesy, JP.** 1986. "The histological and biochemical effects of cadmium exposure in the Bluegill Sunfish (*Lepomis macrochirus*)". *Ecotoxicology and environmental safety* 11, 31-43.
- Vinikour, WS; Goldstein, RM; Anderson, RV.** 1980. "Bioconcentration patterns of Zinc, Copper, Cadmium and Lead in selected fish species from the Fox River, Illinois". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 24: 727-734.
- Wahdat, F; Lukaszewski, Z; Neeb, R.** 1990. "Inverse-voltammetric determination of cadmium, lead and copper in animal samples after solubilization". *Fresenius J. Anal. Chem.* 338: 163-167.
- Waiwood, KG y Johansen, PH.** 1974. "Oxygenconsumption and activity of the white sucker (*Catostomus commersoni*), in lethal and nonlethal levels of the organochlorine insecticide, methoxychlor". *Water Res.*, 8: 401.
- Warner, RE; Peterson, KK y Borgman, L.** 1966. "Behavioural pathology in fish: a quantitative study of sublethal pesticide toxication". *J. Appl. Ecol.*, 3: 223.
- Wayland, J; Hayes, Jr.; Eduard, R; Laws Jr..** 1991. "Handbook of pesticides toxicology. Vol 1. General Principles". *Academes press INC.*
- Weatherly, AH y Gill, HS.** 1987. "Tissues and Growth". *The Biology of fish Growth. Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich, NY, pp 147-173.*
- Wedemeyer, G.** 1968. "Role of intestinal microflora in the degradation of DDT by Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*)". *Life Sci.* 7: 219-223.
- Weibel, SR, Weidner, RB; Cohen, JM y Christianson, AG.** 1966. "Pesticides and other contaminants in rainfall and runoff". *J. Am. Water Works Assoc.*, 58: 1075.
- Weis, JS y Weis, P.** 1975. "Retardation of fin regeneration in *Fundulus* by several insecticides". *Trans Am. Fish. Soc.*, 104: 135.
- Weis, JS y Weis, P.** 1976. "Abnormal locomotion associated with skeletal malformations in the sheepshead minnow *Cyprinodon variegatus*, exposed to malathion". *Environ. Res.*, 12: 196.
- Weis, P.** 1974. "Ultrastructural changes induced by low concentrations of DDT in the livers of the zebrafish and guppy". *Chem. Biol. Interact.*, 8: 25.
- Wester, PW.** 1991. "Histopathological effects of environmental pollutants beta-HCH and Methylmercury on reproductive organs in freshwater fish". *Comp. Biochem. Physiol. C.* 100: 237-239.
- Wheatley, GA; Hardman, JA.** 1965. "Indications of the presence of organochlorine insecticides in rainwater in Central England". *Nature*, 207: 486.
- Wiemeyer, SN; Lamont, TG; Bunck, CM; Sindelar, CR; Grandich, FJ; Fraser, JD; Byrd, MA.** 1984. "Organochlorine pesticide, polychlorobiphenyl, and mercury residues in bald eagle eggs, 1969-79, and their relationships to shell thinning and reproduction". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 13; 529.
- Williams, KA; Green, DW; Pascoe, D.** 1987. "Effect of Cadmium on oviposition and egg viability in *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae)". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 38: 86-90.

Witt, JM; Brown, WH; Shaw, GI; Maynard, LS; Sullivan, LM; Whiting, FM y Stull, JW. 1966. "Rate of transfer of DDT from the blood compartment". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1: 187.

Wolfe, NL; Zepp, RG; Paris, DF; Baughman, GL y Hollis, RC. 1977. "Methoxychlor and DDT degradation in water: Rates and products". *Environ. Sci. Technol.* 11: 1077-1081.

Wong, PTS; Chau, YK; Kramar, O; Bengert, GA. 1981. "Accumulation and depuration of tetramethyllead by rainbow trout". *Water Res.*, 15: 621-625.

Woodwell, GM; Wurster, CF, Jr y Isaacson, PA. 1967. "DDT residues in an east coast estuary: a case of biological concentration of a persistent insecticide". *Science*, 156: 821.

World Health Organization. 1992. "Environmental Health Criteria 134. Cadmium". Geneva, Switzerland.

World Health Organization (WHO). 1984. "Guidelines for drinking water quality. II". 190-218.

World Health Organization (WHO). 1991. "Lindane". *Environmental Health Criteria 124, IPCS, Geneva.*

World Health Organization (WHO). 1992. "Environmental Health Criteria 135: Cadmium - Environmental Aspects pp 30". .

World Health Organization Geneva (WHO). 1989. "Lead-Environmental Aspects". *Environmental Health Criteria 85.*

Wren, CD; Harris, S; Harttrup, N. 1995. "Ecotoxicology of Mercury and Cadmium" cap 17 del libro "Handbook of Ecotoxicology" aut. David J. Hoffman, Barnett A. Rattner, G. Allen Burton, Jr y John Cairns, Jr. CRC press, Inc. .

Xu, J; Chen, C; Cho, S. 2000. "Serum DDT and DDE levels and spontaneous abortion". *Am J Epidemiol: Jun* 151(11):S24.

Ybáñez, N; Montoro, R; Catalá, R; Cervera, ML. 1987. "Determinación de cadmio, cobre, plomo y cinc a niveles de μL en aguas potables, por espectrofotometría de absorción atómica con llama". *Rev. Agroquím. Technol. Alimenta.*, 27 (2).

Young, RG; John, L St; Lisk, DJ. 1971. "Degradation of DDT by goldfis". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 6: 351.

Youngs, WD; Gutenmann, WH; Lisk, DJ. 1972. "Residues of DDT in lake trout as a function of age,". *Environ. Sci. Technol.*, 6: 451.

Zabik, ME; Olson, B; Johnson, TM. 1978. "Dieldrin, DDT, PCBs, and mercury levels in freshwater mullet from the Upper Great Lakes,". *Pestic. Monit. J.*, 12: 36.

Zaranyika, MF; Ndapwadza, T. 1995. "Uptake of Ni, Zn, Fe, Co, Cr, Pb, Cu and Cd by water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in Mukuvisi and Manyame Rivers, Zimbabwe". *J. Environ. Sci. Health, A30 (1):* 157-169.

Zikto, V. 1971. "Organochlorine pesticides in some freshwater and marine fishes". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 6: 464.

Zitko, V. 1974. "Uptake of chlorinate paraffins and PCB from suspended solids and food by juvenile Atlantic salmon". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 12: 406.