



Departamento de Ecología e Hidrología
Facultad de Biología
Universidad de Murcia

Aproximación ecotoxicológica a la contaminación por metales pesados en la laguna costera del Mar Menor

Memoria presentada para optar al grado
de doctor en Biología por el licenciado

Lázaro Marín Guirao
2007



UNIVERSIDAD
DE MURCIA

DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA
E HIDROLOGÍA

D. **Arnaldo Marín Atucha**, Profesor Titular de Universidad del Área de Ecología e Hidrología en el Departamento de Ecología e Hidrología,

AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada “**Aproximación ecotoxicológica a la contaminación por metales pesados en la laguna costera del Mar Menor**”, realizada por D. Lázaro Marín Guirao, bajo mi inmediata dirección y supervisión, en el Departamento de Ecología e Hidrología, y que presenta para la obtención del Grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

Murcia, a 15 de enero de 2007

Fdo. Arnaldo Marín Atucha



UNIVERSIDAD
DE MURCIA

DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA
E HIDROLOGÍA

D^a. M^a **Rosario Vidal-Abarca Gutiérrez**, Catedrática de Universidad del Área de Ecología e Hidrología y Directora del Departamento de Ecología e Hidrología,

INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada “**Aproximación ecotoxicológica a la contaminación por metales pesados en la laguna costera del Mar Menor**”, ha sido realizada por Lázaro Marín Guirao, bajo la inmediata dirección y supervisión de D. **Arnaldo Marín Atucha**, y que el Departamento ha dado su conformidad para que sea presentada ante la Comisión de Doctorado.

Murcia, a 15 de enero de 2007

Fdo. M^a Rosario Vidal-Abarca Gutiérrez

Más allá de todas las cosas está el océano.

Séneca

A mi familia

Agradecimientos

Agradecimientos

Resulta curioso la de veces que entrando en el sueño durante los últimos años he pensado en los agradecimientos que formarían parte de esta tesis, tantas personas han pasado entonces por mi mente... Sin embargo una vez alcanzado el momento y puesto en materia, parece que esta hoja en blanco represente el estado en blanco en ahora me siento, tal vez por el cambio de etapa que se supone se avecina. Esta tesis representa algo más que ella misma, es un pedazo del recorrido que es mi vida y por lo tanto no resulta difícil que se atropellen en mi mente tantos agradecimientos y que me sienta confundido sobre si deben o no aquí aparecer.

Reza el dicho, que es de bien nacido ser agradecido, y es por ambas causas, que comienzo agradeciendo la realización de esta tesis a mis padres. Su apoyo incondicional en mis decisiones y su fe ciega en mis empresas siempre han suplido las fuerzas que he necesitado para andar este camino. Resulta por lo tanto difícil encontrar palabras para agradecer tanto. Este mismo agradecimiento infinito se lo brindo también a mis hermanos, Eugenia y Jose Ignacio. Os debo tanto, familia.

Y tirando de familia, que es amor y comprensión, agradezco a Laura no sólo el haber compartido la vida durante estos años brindándome su amor y apoyo ante los *altibajos* de esta vida fluctuante, o sus repasos acertados a los textos durante largas horas sacrificadas a su propia tesis, sino también por haber creado algo tan maravilloso y de los dos como es nuestro hijo Lázaro. A él le agradezco el haber compartido los últimos meses de este trabajo; con una mano en el ordenador y la otra en el biberón hemos conseguido zanjar esta etapa.

Agradezco con sinceridad a mi director Arnaldo Marín por haberme acogido en su equipo cuando acudí a él tras la licenciatura en Ciencias del Mar. Agradecido también por la diversidad de trabajos y proyectos que tanta experiencia y experiencias nos han dado, así como la ayuda que ha supuesto en la financiación tanto de esta tesis como del que la escribe. Tantas horas de despacho, coche, barco, buceo, congreso, resultan inolvidables y ya forman parte de una importante parte de mi vida.

Aquí llegan los agradecimientos a mis hermanos de tesis. Con Augusto Cesar llevándome de la mano di las primeras caricias a la ecotoxicología. El ha supuesto un modelo de persona al que le debo gran parte de mis capacidades subacuáticas así como éticas y morales; compartimos y aprendimos tanto esos primeros años de esta tesis. A Rubén Vita le debo gran parte del vínculo y conocimiento en acuicultura, a él agradezco tanto su apoyo y consejos como sus compartidas curiosidades informáticas. Gracias a Javier Lloret, amigo y compañero en el camino, ha sido un enorme placer y orgullo

compartir todos estos años de tesis, trabajos, dudas e inquietudes. Chicos esta tesis es nuestra.

Estos años de Departamento de Ecología e Hidrología han sido años de calidad laboral y por tanto de vida, gracias principalmente a los compañeros del departamento, esas comidas, cafés, conversaciones, excursiones, fiestas y favores. A l@s dulceacuícolas: Pedro y David gracias por todo amigos; Miguel *filtrapilla*, por ese hombro con hombro bajo el agua; a Barahona, Maria, Viki, Mar, Juan, Tano, Felix. Agradezco a Andrés Mellado su paciencia con la estadística Canoco, por su amistad y apoyo, torres más grandes han caído. A los marinos: Carlos Sanz, por lo últimos meses de muestreo y buceo entre doradas y lubinas en paraíso aguileño; Aarón y Charton por esos muestreos gran reserva. A Iluminada, Paqui, Maite, Julia, Mercedes, aupa ese ala sur. A Jaime juntos p'Altea crecimos un poquito más, fuerza; a Sara, Juana Mari, Ani, Ana, M^a Dolores, Mamen. A Manuela compañera de hogar, laboratorio y campo. A Jimi, Irene, Marcelo, Martina compañeros que emprendieron el vuelo y mantuvieron la amistad. A los profesores del departamento con quienes he cohabitado a lo largo de esta etapa, con especial cariño a Pepa Velasco y Andrés Millán por sus valores y amistad. A todos estoy agradecido. Y como no, a dos piezas claves en el funcionamiento del mismo como son Pepa Martínez siempre solicita y Juan Jiménez por su inestimable ayuda burocrática y fiscal, y por compartir en parte esa filosofía de vida.

Y como no, agradecido al equipo carlanco (la vieja magra) por ser inspiradores para la nueva escuela. Juanma Ruíz por crear ese vinculo con la inestimable Posidonia, por su amistad y por ayudar a financiar parte de estos años a través de participaciones en sus investigaciones de las que tanto se ha aprendido. ¡Largas horas de agua!. A Manolo Ortega con quien disfruté experiencias acuícolas en Aguadulce ayudando con el combustible económico de la vida. A Felipe Aguado por las numerosas mañanas de muestreos en el polígono acuícola de San Pedro. A Paqui, Andrés, Toni por su ejemplo y amistad.

Al Servicio de Apoyo a las Ciencias Experimentales de la Universidad de Murcia, Toñi, Pepe, Juana, Dori, de Cultivos Celulares por su ayuda durante el desarrollo de las pruebas de toxicidad. A M^a José, Delia, Isabel, Manoli, de Instrumentación por lo propio con los análisis químicos. Al Departamento de Toxicología de la Facultad de Veterinaria, Antonio Juan, Enma, Miguel, Diego y demás equipo por acogerme calidamente durante los análisis de metales en las plantas y de sulfuros en los sedimentos. Al Departamento de Edafología de la Facultad de Química en especial a Melita y Joaquín por su apoyo, consejos y enseñanzas.

Al Instituto Español de Oceanografía de San Pedro del Pinatar, en especial a Concha y Nane por experiencias compartidas con las pruebas con erizos y esos congresos vividos; y

como no a Manu por su ayuda bibliográfica cuando aun no disponíamos de artículos científicos por la red.

A Iracema A. Nascimento por permitirme acompañar y colaborar en el desarrollo de los tests de toxicidad desarrollados en el Laboratorio de Biología Marina de la Universidad Federal de Bahia durante mi estancia en Brasil.

Mis disculpas agradecidas a todos los olvidados en este momento que aún así han compartido y colaborado en esta dulce travesía.

GRACIAS A LA VIDA QUE ME HA DADO TANTO.

Índice

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| Resumen | 1 |
| 1. Capítulo I | 3 |
| 2. Capítulo II | 3 |
| 3. Capítulo III | 4 |
| 4. Capítulo IV | 5 |
| 5. Capítulo V | 5 |
| 6. Visión global | 7 |
| | |
| Introducción general | 9 |
| 1. La ecotoxicología | 11 |
| 2. La minería, problemas ambientales | 12 |
| 3. La laguna costera del Mar Menor | 13 |
| 4. La sierra minera de Cartagena-La Unión | 14 |
| 5. Biodisponibilidad de metales: toxicidad y bioacumulación | 15 |
| 6. Las comunidades de macroinvertebrados | 19 |
| 7. Transferencia trófica de metales, la biomagnificación | 20 |
| 8. La Directiva Marco del Agua | 21 |
| 9. Síntesis | 23 |
| 10. Referencias bibliográficas | 25 |
| | |
| Objetivos | 31 |
| 1. Capítulo I | 33 |
| 2. Capítulo II | 33 |
| 3. Capítulo III | 34 |
| 4. Capítulo IV | 34 |
| 5. Capítulo V | 35 |

Capítulo I: Descarga de residuos mineros en la laguna costera del Mar Menor: comportamiento y distribución de los metales y toxicidad asociada al agua.

| | |
|---|----|
| 1. Introducción | 39 |
| 2. Material y Métodos | 40 |
| 2.1. Área de estudio, estaciones y periodos de muestreo | 40 |
| 2.2. Análisis fisico-químicos del agua | 43 |
| 2.3. Análisis de metales | 43 |
| 2.4. Toxicidad del agua | 44 |
| 2.5. Análisis de los datos | 45 |
| 3. Resultados y discusión | 45 |
| 4. Conclusiones | 58 |
| 5. Referencias bibliográficas | 59 |

Capítulo II: Valoración de la contaminación por metales en los sedimentos de la laguna costera del Mar Menor: distribución de metales, toxicidad y estructura de las comunidades bentónicas.

| | |
|---|----|
| 1. Introducción | 65 |
| 2. Material y Métodos | 66 |
| 2.1. Área de estudio y estaciones de muestreo | 66 |
| 2.2. Recogida de sedimentos, plantas y organismos | 67 |
| 2.3. Bioensayos de Toxicidad | 68 |
| 2.4. Bioacumulación | 69 |
| 2.5. Análisis fisico-químicos | 70 |
| 2.6. Análisis de las comunidades bentónicas | 70 |
| 2.7. Análisis de los datos | 71 |
| 3. Resultados | 72 |
| 3.1. Toxicidad | 72 |
| 3.2. Bioacumulación | 73 |
| 3.3. Análisis fisico-químicos | 76 |

| | |
|---|----|
| 3.4. Análisis de las comunidades bentónicas | 78 |
| 4. Discusión | 80 |
| 5. Referencias bibliográficas | 84 |

Capítulo III: Efectos de los residuos mineros en praderas de *Cymodocea nodosa*: acumulación de metales y biodisponibilidad, dinámica de la planta y estructura de las comunidades asociadas

| | |
|--|-----|
| 1. Introducción | 89 |
| 2. Material y Métodos | 90 |
| 2.1. Área de estudio y toma de muestras | 90 |
| 2.2. Estudio de la fanerógama <i>Cymodocea nodosa</i> | 92 |
| 2.3. Sedimentos | 93 |
| 2.4. Comunidades de invertebrados | 94 |
| 2.5. Análisis de los datos | 94 |
| 3. Resultados | 95 |
| 3.1. Biología de la planta | 95 |
| 3.2. Análisis de sedimentos | 97 |
| 3.3. Acumulación de metales en <i>Cymodocea nodosa</i> y en sedimentos | 97 |
| 3.4. Comunidades de invertebrados | 100 |
| 4. Discusión | 104 |
| 5. Referencias bibliográficas | 110 |

Capítulo IV: Composición isotópica y transferencia trófica de metales en comunidades impactadas por la minería en el Mar Menor

| | |
|---|-----|
| 1. Introducción | 119 |
| 2. Material y Métodos | 121 |
| 2.1. Área de estudio y puntos de muestreo | 121 |
| 2.2. Recolección y procesado de las muestras | 122 |
| 2.3. Análisis de los sedimentos | 123 |
| 2.4. Análisis de metales de las muestras biológicas | 123 |

| | |
|---|-----|
| 2.5. Análisis de isótopos estables | 124 |
| 2.6. Análisis de los datos | 124 |
| 3. Resultados | 124 |
| 3.1. Sedimentos | 124 |
| 3.2. Contenido metales en las muestras biológicas | 125 |
| 3.3. Isótopos estables | 128 |
| 3.4. Transferencia trófica de los metales | 133 |
| 4. Discusión | 140 |
| 5. Referencias bibliográficas | 146 |

Capítulo V: Establecimiento del estado de calidad ecológico de los fondos del Mar Menor y Portmán impactados por la minería en el ámbito de la Directiva Marco del Agua

| | |
|---|-----|
| 1. Introducción | 155 |
| 2. Material y Métodos | 156 |
| 2.1. Área de estudio y puntos de muestreo | 156 |
| 2.2. Parámetros descriptivos de las comunidades bentónicas | 157 |
| 2.3. Índices biológicos bentónicos | 157 |
| 2.4. Pruebas de toxicidad | 159 |
| 2.5. Análisis físico-químicos de los sedimentos | 159 |
| 2.6. Análisis de datos | 160 |
| 3. Resultados | 160 |
| 3.1. Análisis físico-químicos de los sedimentos | 160 |
| 3.2. Pruebas de toxicidad | 164 |
| 3.3. Parámetros descriptivos de la comunidad y análisis multivariantes .. | 166 |
| 3.4. Índices biológicos bentónicos | 168 |
| 4. Discusión | 174 |
| 5. Referencias bibliográficas | 180 |

Conclusiones

| | |
|-------------------------------------|-----|
| Conclusiones del Capítulo I | 187 |
| Conclusiones del Capítulo II | 187 |
| Conclusiones del Capítulo III | 188 |
| Conclusiones del Capítulo IV | 189 |
| Conclusiones del Capítulo V | 190 |

Resumen

Resumen

Capítulo I: Descarga de residuos mineros en la laguna costera del Mar Menor: comportamiento y distribución de los metales y toxicidad asociada al agua

Gran parte del distrito minero Cartagena-La Unión se encuentra ocupado por residuos mineros procedentes de actividades mineras históricas. En este capítulo se estudia la entrada en el Mar Menor de residuos mineros a través de las ramblas procedentes de la Sierra Minera durante dos lluvias torrenciales y tras un período de sequía de tres meses, así como su distribución y permanencia en la laguna. Las características del agua de escorrentía indicaron la generación de drenajes ácidos mineros. La escorrentía con carácter ácido y la alta carga de metales pesados, tanto en forma disuelta como particulada causó la aparición de toxicidad en las aguas de la laguna. Los metales disueltos desaparecían rápidamente de la columna de agua, afectando sólo a aquellas estaciones cercanas a la desembocadura de las ramblas, mientras que los metales particulados eran transportados a mayor distancia. Finalmente, los metales son acumulados en los sedimentos de la laguna. Los resultados de las pruebas de toxicidad del agua con embriones de erizos, indicaron que la toxicidad del agua desaparecía en pocos días en las estaciones más alejadas, mientras que en las más cercanas las aguas permanecían tóxicas durante más tiempo, donde su duración parece estar relacionada con las condiciones climáticas de los días posteriores a las lluvias.

Capítulo II: Valoración de la contaminación por metales en los sedimentos de la laguna costera del Mar Menor (SE España): distribución de metales, toxicidad y estructura de las comunidades bentónicas.

Las actividades mineras desarrolladas históricamente en las montañas situadas en la orilla sur de la laguna costera del Mar Menor han causado la contaminación por metales de los sedimentos lagunares. La biodisponibilidad de los metales en estos sedimentos fue determinada por medio de bioensayos de toxicidad, empleando tres especies de erizos marinos (*Arbacia lixula*, *Paracentrotus lividus* y *Sphaerechinus granularis*) y dos especies de anfipodos (*Microdeutopus gryllotalpa* y *Siphonoecetes sabatieri*) y por medio de medidas de bioacumulación en la fanerógama marina *Cymodocea nodosa* recolectada en la laguna. Los sedimentos afectados por las actividades mineras presentaron altos niveles de toxicidad en las pruebas de laboratorio con todas las especies empleadas. La biodisponibilidad de los metales en campo fue a su vez demostrada por los altos niveles de metales encontrados en *Cymodocea nodosa*. El efecto de la contaminación de los sedimentos por metales en las

comunidades bentónicas fue valorado a través de análisis de la infauna bentónica, aplicando parámetros descriptivos clásicos y técnicas multivariantes, y aunque los índices bentónicos clásicos no resultaron ser claros indicadores de la perturbación, las técnicas multivariantes aplicadas como el MDS ofrecieron conclusiones más consistentes.

Capítulo III: Efectos de los residuos mineros en praderas de *Cymodocea nodosa*: acumulación de metales y biodisponibilidad, dinámica de la planta y estructura de las comunidades asociadas

En este capítulo se han comparado dos praderas de *Cymodocea nodosa* que crecían en zonas cercanas a la desembocadura de ramblas sobre sedimentos contaminados por metales pesados procedentes de la minería, con dos praderas alejadas de dichas ramblas, todas ellas situadas en la cubeta sur del Mar Menor. Para ello se estudió la acumulación de Zn, Pb y Cd en diferentes compartimentos de la planta: raíces, rizomas, hojas y el biofilm que se desarrollaba sobre las hojas, junto con ciertos parámetros del sedimento que regulan la disponibilidad de los metales. Se determinó también la estructura y dinámica de cada pradera y se estudiaron sus respectivas comunidades de macroinvertebrados asociados. Los resultados indican que *C. nodosa* acumula metales pesados en sus tejidos, reflejando la biodisponibilidad de los mismos para las plantas vasculares que crecen en los fondos contaminados. En todas las estaciones de muestreo, el contenido en metales de los rizomas fue menor que el de las hojas o las raíces. La concentración de sulfuros en los sedimentos parece no tener influencia en la disponibilidad de los metales para la planta, posiblemente debido al transporte de oxígeno que ésta realiza hacia las raíces, aunque pudiera ser la causa de los distintos patrones de acumulación encontrados entre las estaciones. La mayor concentración de metales en las estaciones contaminadas fue encontrado en el biofilm, debido a la formación de complejos entre los metales y las sustancias poliméricas extracelulares que lo forman.

Todas las praderas se encontraron en expansión, acumulando gran cantidad de metales aquellas que crecían en fondos contaminados próximos a las ramblas y mostrando a su vez mayor superficie fotosintética por hoja y mayor biomasa foliar. Sin embargo, estos parámetros estructurales parecen no ser los responsables de las diferencias encontradas en sus comunidades de invertebrados asociadas. En este sentido, el análisis multivariante identificó la concentración de metales en las hojas, en el biofilm y en el sedimento como las principales variables que podían ser responsables de dichas diferencias faunísticas. Este estudio demuestra como tanto la fanerógama marina *C. nodosa* como el biofilm que crece sobre sus hojas, pueden ser usadas como herramientas ambientales en la laguna costera

del Mar Menor. *C. nodosa* como indicador de la contaminación de los sedimentos y el biofilm de las hojas como un centinela de la calidad del agua.

Capítulo IV: Composición isotópica y transferencia trófica de metales en comunidades impactadas por la minería en el Mar Menor

El presente trabajo analiza y compara los poblamientos de invertebrados y peces de dos zonas del Mar Menor a través del análisis de isótopos estables (C y N) y de sus concentraciones de metales. La estación directamente influenciada por la descarga de las ramblas presentó una mayor biodisponibilidad de metales, reflejada en las mayores concentraciones de metales en los organismos de esta estación. Al mismo tiempo, se encontraron diferencias tróficas entre ambas estaciones, presentando la estación situada en la parte interna de la laguna influenciada por la descarga de las ramblas niveles enriquecidos en $\delta^{15}\text{N}$ y empobrecidos en $\delta^{13}\text{C}$ frente a la más alejada de los vertidos. Mientras que la fanerógama *Cymodocea nodosa* no parece ser una fuente de alimento directa o indirecta para ambos poblamientos, el biofilm que se desarrolla sobre sus hojas, si parece jugar un papel trófico importante en la estación de la rambla, donde crece en grandes cantidades y acumula elevadas concentraciones de metales, indicando su papel potencial como eslabón en la transferencia trófica de los metales. Las regresiones entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ frente al contenido en metales en los poblamientos de invertebrados indicaron la biodilución del zinc, plomo y cadmio, así como el origen terrestre de los mismos. Para el cobre no observó ninguna tendencia clara posiblemente debido al papel fisiológico que juega en los invertebrados marinos. La presencia de estadios juveniles en los poblamientos ícticos puede ser la causa que no permitió observar tendencias claras en sus regresiones.

Capítulo V: Establecimiento del estado de calidad ecológico de los fondos del Mar Menor y Portmán impactados por la minería en el ámbito de la Directiva Marco del Agua.

El objetivo principal del presente capítulo fue evaluar la calidad ecológica de los fondos blandos de dos ecosistemas acuáticos, la laguna costera del Mar Menor y la costa mediterránea de Portmán, históricamente impactados por las actividades mineras desarrolladas en la Sierra adyacente de Cartagena-La Unión. El segundo objetivo fue evaluar la utilidad de los índices bióticos bentónicos propuestos para su aplicación en la Directiva Europea Marco del Agua (DMA 2000/60/EC) para la clasificación de la calidad

Resumen

ecológica de los cuerpos de agua costeros (AMBI y BENTIX), junto con parámetros descriptores de las comunidades bentónicas (abundancia, diversidad de Shannon-Wiener, riqueza de especies de Margalef, equitatividad de Pielou y dominancia de Simpson), el índice RBI y el método de comparación de la abundancia y la biomasa (ABC).

Los análisis de metales contenidos en los sedimentos, junto con las pruebas de toxicidad de la interfase agua-sedimento empleando embriones de erizos sirvieron para evaluar las clasificaciones obtenidas con los distintos índices. Tanto los análisis químicos como los de toxicidad mostraron la existencia de un gradiente de contaminación en ambos ecosistemas en función de la distancia a la zona de descarga de los residuos. Los descriptores clásicos indicaron una variación progresiva en las comunidades bentónicas a lo largo del gradiente de contaminación de Portmán, aunque no caracterizaron correctamente el estado ambiental de las estaciones de la laguna costera. Aunque el RBI fue el índice que mejor clasificó las estaciones en función de su grado de contaminación, la selección de especies indicadoras parece estar forzando los resultados obtenidos. Debido a que los índices AMBI, BENTIX así como el método ABC están basados en contaminación producida por enriquecimiento orgánico, su aplicación en el caso de contaminación puramente tóxica parece no ser acertada, al menos en los dos ecosistemas estudiados. Por lo tanto, se propone el desarrollo de nuevas listas de especies indicadoras conforme a cada tipo de contaminación de manera que puedan servir para mejorar los resultados obtenidos con estos índices cuando sean aplicados a otros tipos de contaminación. Finalmente, consideramos las pruebas de toxicidad como herramientas útiles para la valoración ambiental de sistemas acuáticos y recomendamos su inclusión en la DMA.

Visión global de la situación:

La laguna sigue recibiendo de forma esporádica y a pulsos la entrada de residuos mineros a través de las ramblas que drenan la Sierra Minera durante las lluvias torrenciales características de la zona. Los metales son rápidamente eliminados de las aguas lagunares y son acumulados en altas concentraciones en los sedimentos de la laguna principalmente en zonas cercanas a los puntos de descarga. Aunque estos sedimentos se mostraron tóxicos por medio de bioensayos de laboratorio, la elevada producción primaria en la zona interna de la laguna influenciada por la descarga de las ramblas, por las que entran nutrientes procedentes de excedentes agrícolas y aguas residuales urbanas, pueden estar incrementando el potencial trófico en estas zonas contrarrestando parcialmente los efectos tóxicos de los metales. Por otro lado, el desarrollo del biofilm sobre los sedimentos de estas áreas parece favorecer la retención de los metales en los sedimentos al favorecer las condiciones reducidas de los mismos, y conferirles estabilidad frente a la resuspensión por el oleaje. Sin embargo, este biofilm que también crece en grandes cantidades sobre la superficie de fanerógamas, y que presenta gran capacidad para retener metales, parece ser un eslabón importante en la transferencia trófica de los metales. Y aunque dicha transferencia es evidente, no existe un incremento en la concentración de los mismos con el incremento del nivel trófico de los organismos, no produciéndose por tanto la biomagnificación de metales en los poblamientos de invertebrados o peces de la laguna. Los cambios detectados en las comunidades de invertebrados bentónicos y epibentónicos pueden ser debidos al desarrollo de tolerancia de las comunidades inducida por la contaminación (pollution-induced community tolerance), donde especies sensibles son sustituidas por especies tolerantes, junto con cambios tróficos forzados por incremento del potencial trófico en las zonas internas de la laguna. Se considera importante para la salud lagunar eliminar las perturbaciones que sufre como consecuencia de la descarga de residuos mediante la reducción de la entrada de los mismos a través de las ramblas, ya que el sistema parece encontrarse en cierto modo adaptado a las altas concentraciones de metales en los sedimentos. Y puesto que las plantas que crecen sobre los sedimentos contaminados acumulan grandes cantidades de metales en sus tejidos, la eliminación de las grandes masas vegetales (arribazones) que se acumulan en la orilla sur de la laguna como consecuencia del oleaje podría servir para extraer grandes cantidades de metales del sistema así como la eliminación de parte del exceso de nutrientes que a él llegan.

Introducción general

Introducción general.

1. La ecotoxicología

El hombre es parte integrante de los ecosistemas costeros de todo el planeta. Investigar de que forma los cambios asociados al hombre alteran los ecosistemas naturales puede ayudarnos a entender los mecanismos ecológicos implicados en los ecosistemas marinos. Según Margalef (1991) “Nuestra civilización realiza continuamente experimentos a gran escala, que podrían ser más utilizados de lo que son para el desarrollo de una *ecología de la perturbación*”. Uno de los apartados de la “ecología de la perturbación” podría ser la ecotoxicología. La palabra ecotoxicología fue acuñada por Truhaut (1969) y deriva de las palabras ecología y toxicología, y nace como respuesta a la preocupación por los problemas de contaminación de las aguas epicontinentales, interesándose por el medio marino, solo a mediados de los años 80, cuando se hace patente la capacidad limitada de dilución del mismo y, como fenómenos como la bioacumulación y la adsorción de algunas sustancias xenobióticas, podían aumentar los problemas de toxicidad ambiental (Moriarty, 1983). Se trata, por lo tanto, de una ciencia que estudia el origen de los contaminantes, su transporte entre los distintos compartimentos ambientales, las transformaciones que sufren dichos contaminantes y, finalmente, los efectos que estos producen sobre los ecosistemas. La introducción de este término refleja el creciente interés acerca de los efectos causados por los elementos químicos en las especies naturales. La ecotoxicología, por lo tanto, estudia los efectos perniciosos de los elementos químicos (toxicología) dentro del contexto de la ecología (Walker *et al.*, 1998). Las nuevas disciplinas frecuentemente presentan problemas de terminología. La toxicología ambiental tiene un sentido más amplio, abarca tanto los efectos de los elementos químicos sobre los ecosistemas como sobre el hombre. Así pues, la ecotoxicología es una disciplina dentro del amplio campo de la toxicología ambiental.

Establecer relaciones causa-efecto entre las perturbaciones ambientales causadas por el hombre y los efectos observados en sistemas naturales es difícil debido a la existencia de múltiples factores intrínsecos, y, especialmente porque no hay un enfoque único y ampliamente aceptado para la determinación de estas relaciones. En esta memoria asumimos que existen evidencias que indican que ciertos factores ambientales incrementan la probabilidad de que ocurra un daño y que la reducción de uno o más de estos factores disminuye la frecuencia de ese daño (Fox, 1991). Una causa puede ser definida como un estresante que ocurre a una intensidad, duración y frecuencia de exposición que ocasiona un cambio apreciable en la integridad de los ecosistemas (Adams, 2003). La habilidad de establecer relaciones causa-efecto entre factores estresantes derivados de la actividad humana y los efectos ecológicos es particularmente importante en la política ambiental, ya

que afecta a aspectos tales como la regulación de los vertidos, la preservación de espacios protegidos, la biorremediación de ecosistemas, y otros aspectos ambientales y legislativos.

2. La minería, problemas ambientales

Las actividades mineras son conocidas mundialmente por causar importantes efectos adversos al medioambiente asociados principalmente con la deposición de grandes volúmenes de residuos con altas concentraciones de metales pesados en zonas cercanas a donde se desarrollan estas actividades. Estas explotaciones conllevan la extracción a la superficie de grandes depósitos de roca, que se encuentran enterrados en la corteza terrestre donde, posteriormente, son procesados originando dos tipos de residuos principales, por un lado, todo el mineral que hay que excavar y retirar para alcanzar las menas minerales y, por otro, los residuos generados tras los distintos tratamientos a los que son sometidos los minerales para la extracción final de los metales. Aunque ambos son almacenados ocupando extensas superficies de una forma mas o menos aceptable desde el punto de vista ambiental, son los residuos generados tras la extracción de los metales los más problemáticos, ya que están compuestos por roca finamente molida con alto contenido en metales, más una porción residual de los productos químicos empleados durante las operaciones de extracción, lo cual los hace muy susceptibles a ser erosionados especialmente en zonas lluviosas (Jacob y Otte, 2004; Gieré *et al.*, 2003). Estos residuos sufren procesos de meteorización cuando están expuestos al aire y son oxidados generando un tipo de contaminación conocida como “drenajes ácidos mineros” (DAM) (Saínz *et al.*, 2002). Estas reacciones de oxidación que ocurren sobre la superficie de las piritas de los residuos mineros están basadas en complejos procesos biogeoquímicos que también ocurren de forma natural sobre las rocas expuestas a la atmósfera. La gran diferencia radica en la superficie de mineral expuesta a tales reacciones, de manera que la generación de contaminantes en el caso de los residuos mineros es enormemente superior a la que ocurre de forma natural sobre las rocas expuestas (EMCBC, 1996) debido a la reducción del tamaño de las partículas durante el procesado de los minerales, lo cual aumenta en gran medida la superficie sobre la que se producen estos procesos (Tiwary, 2001). Este tipo de contaminación se origina cuando los minerales que contienen piritas (FeS_2) entran en contacto con el oxígeno y la humedad atmosférica, de manera que se activan una serie de mecanismos complejos sobre la superficie de los minerales. Factores como el pH, la presión parcial de oxígeno, la morfología y superficie específica de las piritas, la presencia o ausencia de bacterias oxidantes de sulfuro y hierro (p. e. *Leptospirillum ferrooxidans*, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans*), de minerales arcillosos así como varios factores hidrológicos, determinan las tasas y la extensión de la oxidación de las piritas (Johnson, 2003; Kovács *et al.*, 2006; Saínz *et al.*, 2005). Esta erosión oxidativa libera en último término protones (H^+), que causan una disminución en el pH de los residuos y por lo tanto un incremento en la solubilidad de los minerales que contienen a los metales. El

resultado final de estas reacciones es un conjunto de contaminantes solubles acumulados en la superficie de los residuos mineros, que posteriormente son disueltos y arrastrados por las aguas de lluvia y de escorrentía. Se trata de una de las fuentes de contaminación más persistentes de la industria minera ya que estos residuos pueden liberar metales durante cientos de años tras el cese de las actividades mineras (EMCBC, 1996; Gundersen, *et al.*, 2001). Los drenajes ácidos mineros constituyen uno de los tipos de contaminación más peligrosos no solo debido a su naturaleza, alcance y extensión (Azcue, 1999), sino también por la difícil solución que presentan, así como el elevado coste económico de su remediación (Commonwealth of Pennsylvania, 1994; Weatherel *et al.*, 1997).

3. La laguna costera del Mar Menor

La laguna costera del Mar Menor se encuentra localizada entre los paralelos 37° 38' y 37° 50' de latitud Norte, y los meridianos 0° 43' y 0° 52' de longitud Oeste. Se trata de una de las lagunas costeras mayores del área del Mediterráneo, ocupando una superficie de unos 135 Km², con un volumen de agua de unos 580 millones de m³ (Arévalo, 1988). Se encuentra aislada del Mediterráneo por una barra arenosa de 22 Km que forma su orilla este, atravesada por cinco canales someros (golas) que restringen la comunicación de sus aguas con las mediterráneas. Por ello y por las escasas precipitaciones (<300 mm) y elevadas tasas de evaporación asociadas a las altas temperaturas (media anual de 18°C) características del clima semiárido de la zona, sus aguas presentan elevados niveles de salinidad en comparación con las adyacentes del Mediterráneo. Las precipitaciones en la zona presentan un carácter torrencial al concentrarse a lo largo de pocos días, esto hace que los cursos de agua que vierten en la laguna (ramblas) se encuentren secos la mayoría del año, fluyendo entonces con gran intensidad debido tanto al carácter torrencial como a la impermeabilidad de estos sectores margosos, y la escasa vegetación que presentan (Lillo Carpio, 1979).

Las ramblas que desembocan en la laguna son, en su lado oeste, la rambla de Los Alcázares con una red difusa desde la sierra de Escalona; la rambla de El Albuñón, la más extensa que atraviesa toda la llanura prelitoral al Mar Menor; y la rambla de Miranda de longitud próxima a los 8 Km, con un tributario de 4 km con el que converge de forma difusa en la marina de El Carmolí donde descargan sus aguas a la laguna. Debido a la existencia de un sistema montañoso en las proximidades de la orilla meridional de la laguna, la red de drenaje resulta más densa en la mitad sur del Mar Menor, donde destacan tres ramblas. La Rambla de El Beal, es la más importante de las existentes pues canaliza las aguas procedentes de El Llano y de los montes de San Ginés, presentando un cono de deyección muy amplio por el que no solo se acarrean sedimentos en medio hídrico, sino que también en momentos de fuerte intensidad eólica. La Rambla de Ponce, es de menor recorrido pero de notable importancia por los aportes que canaliza procedentes de los altos de Los Blancos.

La rambla de Carrasquilla que forma en su desembocadura un prisma aluvial de carácter prodeltaico (Díaz del Río, 1993).

La laguna constituye un importante enclave ambiental de reconocida vulnerabilidad y singularidad ecológica. Recoge un elevado número de figuras de protección en los ámbitos regional, nacional e internacional. Entre ellos destacar que se encuentra incluida en la Lista Ramsar de Humedales de Importancia Internacional, es Zona de Especial Protección de Interés para el Mediterráneo (ZEPIM), Zona de Especial Protección para las Aves (ZEPA) y Lugar de Importancia Comunitaria (LIC) en virtud de la Directiva Habitats (92/43/CEE). Sin embargo, la laguna sufre importantes impactos ambientales directos e indirectos relacionados, principalmente, con la diversidad e intensidad de usos y actividades que se desarrollan en ella y su entorno. Uno de estos impactos está relacionado con las actividades mineras que de forma histórica se desarrollaron en la sierra cercana a su orilla sur.

4. La Sierra Minera de Cartagena-La Unión

El distrito minero de Cartagena-La Unión se encuentra localizado cercano a la orilla meridional de la laguna costera del Mar Menor cubriendo un área de unos 50 Km², la mayoría perteneciente a la Sierra de Cartagena-La Unión también conocida como Sierra Minera. Se trata de un terreno de poca altura (<400 m) pero con pendientes escalonadas debido a su proximidad a la costa. La zona constituye un importante núcleo minero desde hace más de 2500 años, donde Fenicios, Romanos, Cartagineses e Hispánicos han buscado la pirita y la galena argentífera para lo obtención principalmente de plata, plomo y zinc (Oen *et al.*, 1975). Hasta el siglo XX se emplearon métodos rudimentarios tanto para la extracción del mineral, como para su procesado a favor de la configuración topográfica del terreno, de manera que antes de 1930, el mineral era molido solo hasta diámetros de 5 mm y clasificados por gravedad. Posteriormente, con la instalación de la Sociedad Minera y Metalúrgica de Peñarroya, en 1930, el molturado de los minerales se fue haciendo más fino (0,2-0,3 mm), y la utilización de la tensión superficial en el procesado de los minerales por flotación mejoró sustancialmente los procesos de extracción. Es a partir del año 1957 y, sobre todo, del 1962 cuando la explotación se realiza a cielo abierto, alcanzando en gran parte el manto de piritas con niveles en metales más elevados que las capas que lo precedían más cercanas a la superficie del suelo (Simoneau, 1973). A lo largo de todo ese tiempo, las operaciones para transformar el mineral bruto en un concentrado de mayor contenido específico en el metal, es decir, el lavado del mineral, produjo grandes cantidades de residuos de diversa condición física y química, siendo los principales cuantitativamente en forma de pulpa o lodos que se enviaban a zonas donde sedimentaban los componentes sólidos, formando los pantanos, y el agua separada era eliminada a través de las ramblas que drenan la sierra. Toda esta intensa actividad minera ha dado como resultado uno de los

paisajes más alterados por la mano del hombre, donde enormes volúmenes de residuos mineros de toda índole ocupan gran parte de la superficie de la sierra.

En la actualidad hay unos 48 pantanos mineros (Ortega *et al.*, 1993) que cubren acerca de 160 ha (Martínez-Orozco *et al.*, 1993). La mayoría de los cuales no han experimentado ningún tipo de restauración ambiental, por lo que presentan problemas de erosión ya que sus superficies se encuentran expuestas a los agentes erosivos. De hecho, se han determinado elevadas tasas de erosión en uno de dichos pantanos (García, 2004), indicando que grandes volúmenes de residuos pueden ser trasladados a otros lugares por las lluvias torrenciales de la zona. Estos residuos además contienen elevadas cantidades de metales pesados como plomo, zinc, cobre y cadmio, que exceden los niveles críticos Europeos (Conesa *et al.*, 2001). Al mismo tiempo, la elevada movilidad potencial de estos metales ha sido demostrada a través de pruebas de lavado y de extracciones secuenciales (Marguí *et al.*, 2004). Lo que podría ser la causa de las elevadas concentraciones de metales descritas en los suelos adyacentes a la sierra (García *et al.*, 2003), en los lechos de las principales ramblas de la zona (Simoneau, 1973), e incluso en los sedimentos del humedal de Lo Poyo adyacente a la laguna, y situado entre la desembocadura de dichas ramblas (Alvarez-Rogél *et al.*, 2004). Por todo lo expuesto podríamos preguntarnos si: **¿Entran los residuos mineros en la laguna del Mar Menor a través de las ramblas que drenan la Sierra Minera por el arrastre de las lluvias torrenciales?** Por otro lado, debido a las características climáticas de la zona, con lluvias de carácter torrencial y largos periodos de sequía que favorecen la oxidación de los residuos y, por lo tanto, la formación de drenajes ácidos mineros, no surge también la cuestión, como se verá reflejado en el capítulo I, de si: **¿Existe la formación de drenajes ácidos con el consecuente transporte de los metales en estado disuelto hacia el interior de la laguna?**

5. Biodisponibilidad de metales: toxicidad y bioacumulación

Cuando los metales que son transportados en agua dulce se encuentran con agua marina se producen una serie de procesos que determinan la distribución de los metales entre las fases disueltas y particulada, afectando por lo tanto a su transporte, así como a los efectos que puedan ocasionar en el ecosistema lagunar (Zwolsman *et al.*, 1997). Mediante el estudio de la distribución y comportamiento de los elementos metálicos en estuarios de todo el mundo en las últimas décadas, principalmente desde un punto de vista geoquímico (p. e. Foster *et al.*, 1978; Turner, 1996; Dassenakis *et al.*, 1997; Hatje *et al.*, 2001; Millward y Liu, 2003), se ha generado gran cantidad de conocimiento que evidencia la complejidad del proceso por la gran cantidad de factores biogeoquímicos que afectan a la dinámica de los metales en su llegada al medio marino. De entre estos factores destacan el pH, la salinidad, el contenido en sólidos, principalmente arcillas y la presencia de compuestos orgánicos como las sustancias húmicas (Hatje *et al.*, 2003; Achterberg *et al.*, 2003; Turner *et al.*, 2004).

De esta forma nos surgen nuevas cuestiones que serán abordadas en el primer capítulo de esta tesis: **¿En que estado y concentraciones son transportados los metales de los residuos mineros por las aguas de escorrentía? y ¿Cómo se comportan cuando se encuentran con las aguas salinas de la laguna y durante su transporte en el interior de la misma?**

La especiación de los metales va a determinar en gran medida la biodisponibilidad de los mismos y aunque se encuentra controlada por condiciones ambientales también está influenciada por propiedades intrínsecas de los organismos así como por la existencia de fuertes ligandos complejadores (Janssen *et al.*, 2003). Esto hace que los análisis químicos por si solos no proporcionen evidencia de los efectos biológicos que pueden causar sobre los organismos, no permitiendo por lo tanto determinar el grado de contaminación que producen sobre los ecosistemas (Chapman *et al.*, 2003). Los ensayos de toxicidad en condiciones de laboratorio se realizan con el propósito de determinar la relación entre la exposición de contaminantes y los efectos ocasionados sobre organismos individuales. De manera que el empleo de ensayos de toxicidad, que miden los efectos biológicos a través de las respuestas de organismos marinos, particularmente en sus estadios más tempranos de desarrollo, ha sido propuesto como una herramienta apropiada para la valoración de la contaminación (His *et al.*, 1999). Estas pruebas se realizan en condiciones bien definidas, controladas y reproducibles, existiendo gran variedad de bioensayos de toxicidad crónica y aguda, principalmente para cuantificar la calidad de las aguas con el objeto de respaldar normas o políticas ambientales. Sin embargo, los bioensayos de laboratorio tienen sus limitaciones ya que, por ejemplo, las especies utilizadas no necesariamente forman parte de las comunidades objeto de estudio. Por otro lado, no tienen en cuenta otros posibles factores que típicamente ocurren en sedimentos o aguas contaminadas como la bioacumulación a través de las cadenas tróficas, los efectos de los nutrientes, la alteración de hábitats, las relaciones Inter- e intraespecíficas de depredación o competencia (DeMaagd, 2000; Gentile *et al.*, 2001). Además, los bioensayos de toxicidad no predicen los efectos indirectos que a menudo caracterizan las respuestas de los ecosistemas al estrés (Perry y Troelstrup, 1988). Y aunque los bioensayos de laboratorio han mejorado nuestra comprensión de los efectos de los contaminantes, sus resultados son difíciles de extrapolar en el ambiente natural porque carecen de “realismo” ecológico (Munkittrick y McCarty 1995). No obstante, estos estudios en laboratorio son simples y de bajo coste, valoran el rango de acción de las sustancias químicas y predicen su peligro y riesgo, determinan relaciones causa-efecto en estudios post-impacto y establecen los niveles de dilución de sustancias o efluentes antes de la descarga dentro de las aguas receptoras (Chapman, 1995). Por lo tanto otra de las cuestiones que abordaremos en el primer capítulo será: **¿Presentan toxicidad las aguas de la laguna por la entrada de residuos mineros a través de las ramblas? ¿Qué alcance y duración presentan?**

Gran parte de los contaminantes que llegan al medio marino terminan secuestrados en los sedimentos donde alcanzan concentraciones que suelen ser varios ordenes de magnitud mayores que en las aguas (Burton, 1991). De esta forma, resulta evidente que en los sistemas litorales, los sedimentos constituyan el lugar donde se acumulan los metales que les llegan, resultando imprescindible su caracterización en los estudios ambientales (Luoma y Ho, 1992; DelValls, 2001). Históricamente, la caracterización de los contaminantes en los sedimentos estaba limitada sobre todo a la realización de análisis fisico-químicos (Ingersoll, 1995). En este sentido, existen estudios precedentes, acerca de la contaminación por metales pesados en los sedimentos de la laguna costera del Mar Menor. Simoneau (1973) realizó un estudio sobre la evolución sedimentológica y geoquímica de los sedimentos lagunares, destinado en origen a reconocer las posibilidades de explotación del plomo y zinc de los mismos. El trabajo concluye que aún encontrándose niveles elevados de metales pesados en los sedimentos, estimando las reservas de plomo y cinc sensiblemente iguales y próximas a las 73.10^3 toneladas, dichos valores no justifican su explotación industrial. Una década después, De León *et al.* (1982) analizaron la concentración de varios metales pesados en los sedimentos superficiales de la laguna, y concluyeron que las actividades mineras son las responsables de las altas concentraciones de metales encontradas, siendo los valores similares a los encontrados una década antes por Simoneau. En base a estos antecedentes, surge una nueva pregunta que dará origen a uno de los objetivos del Capítulo II de la presente tesis doctoral: **¿Qué concentraciones de metales presentan en la actualidad los sedimentos de la cubeta sur de la laguna?**

Sin embargo, las altas concentraciones de metales en sedimentos marinos no se encuentran necesariamente relacionadas con la biodisponibilidad de los mismos, al considerarse ésta ligada a procesos biogeoquímicos del sedimento que le confieren un carácter dinámico (Chapman *et al.*, 1998; Loring, 1991). La partición o reparto de los metales entre los distintos componentes del sedimento y, por lo tanto, su disponibilidad, va a depender de muchos factores como son la temperatura, el oxígeno disuelto, la solubilidad, el potencial hidrogeniónico, el potencial redox, el contenido en carbono orgánico total, la granulometría, la constitución mineral del sedimento o la concentración de sulfuros, entre otros (Chapman y Wang 2001; Mahoney *et al.*, 1996; Krumgalz, 1989; Di Toro, *et al.* 1991). En este sentido, los análisis químicos sólo identifican y cuantifican aisladamente los contaminantes y difícilmente generan información sobre los efectos sinérgicos de la mezcla de contaminantes y como pueden afectar a la biota presente. La contaminación por metales de los sedimentos es por lo tanto un problema ambiental muy extendido y que generalmente supone una amenaza potencial para los ecosistemas acuáticos y para la salud humana (USEPA, 1994). Y puesto que tanto el destino, como la distribución y el comportamiento de estos contaminantes en los sedimentos naturales, así como sus efectos a largo plazo sobre

la biota no son aun bien comprendidos, la contaminación de los sedimentos constituye un área donde debe enfocarse un esfuerzo considerable (Crane, *et al.* 1996; Burton, 1994; Ingersoll, 1994). En contrapartida, mediante las pruebas de toxicidad se pueden detectar las respuestas de organismos frente a una situación global como puede ser una muestra de sedimento contaminado. De manera que los tests de toxicidad con organismos marinos, entre otros métodos biológicos de evaluación ecotoxicológica, son utilizados como complemento a los análisis fisico-químicos como una aproximación a la biodisponibilidad y a los posibles efectos de los contaminantes a las comunidades biológicas (Ingersoll, 1995). Surge así otra de las preguntas que serán afrontadas en el Capítulo II, **¿Presentan toxicidad en laboratorio los sedimentos de la cubeta sur de la laguna? ¿Se encuentran relacionadas las concentraciones de metales con los posibles efectos tóxicos observados?**

Otra de las aproximaciones que se han mostrado apropiadas a la hora de estudiar la biodisponibilidad de los metales contenidos en los sedimentos han sido las medidas de bioacumulación tanto en organismos recolectados en campo como expuestos en laboratorio (Sundelin y Eriksson, 2001). En este sentido los macrófitos marinos se presentan como buenos centinelas ambientales, de hecho, varios programas de vigilancia ambiental han utilizado macrófitos marinos para cuantificar la contaminación por metales (Constantini *et al.*, 1991; Haritonidis y Malea, 1999). Su amplio uso como indicadores de contaminación marina está justificada por la capacidad que presentan para acumular gran variedad de elementos (Lytle y Lytle, 2001), y al ser productores primarios, pueden ser usados como indicadores de primer nivel para el seguimiento de los niveles de metales en los ambientes marinos costeros (Prange y Dennison, 2000). Luego otro de los objetivos del Capítulo II del presente trabajo será contestar la hipótesis de si: **¿Acumulan las plantas de *Cymodocea nodosa*, que crecen en el Mar Menor sobre sedimentos contaminados por residuos mineros, metales en sus tejidos?, ¿En qué concentraciones?**

Como se ha comentado anteriormente, desde un punto de vista ecológico, uno de los mayores problemas al estudiar la contaminación de los sedimentos por metales pesados es la biodisponibilidad de los mismos. Por lo tanto resulta importante determinar que fracción del contenido total de metales de los sedimentos se encuentra biodisponible, así como los mecanismos que regulan esta disponibilidad (Mountouris *et al.*, 2002). En esta línea, uno de los objetivos del Capítulo III de la presente tesis intentará responder a la cuestión: **¿Que características fisico-químicas del sedimento afectan a la acumulación de metales a *C. nodosa*?**

A pesar de que las fanerógamas marinas constituyen importantes ecosistemas costeros y presentan valiosas funciones socioeconómicas (Costanza *et al.*, 1997), cada día se

hace más evidente su deterioro así como su regresión a nivel mundial (Duarte, 2002). Los macrófitos marinos no solo juegan un papel fundamental en el reciclado de elementos dentro de los ecosistemas costeros, sino que a su vez son afectados de forma adversa por estos contaminantes. Con el fin de detectar de forma temprana cambios en las praderas de fanerógamas, se han desarrollado distintas aproximaciones para evaluar sus dinámicas poblacionales, de manera que permitan evaluar su estado ecológico así como predecir sus futuras tendencias (Fourqurean *et al.*, 2003). En el Capítulo III se aplican algunas de estas aproximaciones para constatar si: **¿Resulta negativamente afectado el estado de salud de las praderas que crecen sobre sedimentos contaminados por metales? ¿Y sus dinámicas poblacionales?**

6. Las comunidades de macroinvertebrados

Las comunidades bentónicas de macroinvertebrados, como componentes vivos del sedimento, han generado otra de las líneas de aproximación para investigar los posibles efectos de los contaminantes ambientales. Estas investigaciones están basadas en el estudio de dichas comunidades bajo el supuesto de que estas comunidades de organismos representan la respuesta integrada de los efectos biológicos de los contaminantes contenidos en dichos sedimentos (Pearson y Rosenberg, 1978). En general los estudios ecológicos de comunidades los podemos dividir en tres grandes grupos: estudios de observación, estudios de gradientes y estudios de bioindicadores (Adams, 2003). Algunos de ellos como los parámetros o índices clásicos descriptores de las comunidades se basan en la abundancia de especies; otros, sin embargo, combinan datos de abundancia y biomasa de las especies, mientras que otros integran la presencia y/o abundancia de especies o grupos indicadores. Estos estudios están diseñados *a priori* para establecer una relación entre los factores ambientales y las respuestas de los organismos utilizando una amplia serie de técnicas estadísticas como correlaciones, regresiones múltiples, técnicas multivariantes paramétricas y no paramétricas con el fin de establecer relaciones entre uno o varios factores ambientales y la composición de especies u otros factores biológicos. De manera que otro de los objetivos del Capítulo II será la realización de un estudio ecológico de las comunidades bentónicas de la cubeta sur de la laguna con en fin de determinar si: **¿Se ven reflejados efectos adversos en las comunidades de invertebrados bentónicos por la contaminación por residuos mineros?**

Hay metales que resultan imprescindibles en pequeñas concentraciones para la vida ya que desempeñan papeles fisiológicos vitales (p. e. Zn y Cu), sin embargo, otros resultan tóxicos para los seres vivos aun en pequeñas cantidades (Pb y Cd). En cualquier caso, cuando los metales se encuentran biodisponibles por encima de determinadas concentraciones, ambos esenciales o no, pueden producir efectos adversos en los organismos. Por su parte, los macrófitos y los productores primarios marinos que en general

juegan un papel fundamental en el reciclado de elementos dentro de los ecosistemas costeros, pueden a su vez incrementar la biodisponibilidad de sustancias tóxicas para sus consumidores. En este sentido, la fanerógama marina *Cymodocea nodosa*, ampliamente distribuida en el Mediterráneo, se encuentra frecuentemente en el Mar Menor formando pequeñas praderas en las zonas someras de la laguna (Lloret *et al.*, 2005; Terrados y Ros, 1992). De forma general, las praderas albergan comunidades animales con alta diversidad biológica debido, entre otros factores, a su alta producción primaria y a su complejidad estructural (Edgar, 1990; Edgar y Robertson, 1992; Edgar *et al.*, 1994; Frost *et al.*, 1999), que proporcionan recursos alimenticios para los organismos que en ellas se albergan (Parker *et al.*, 2001; Orth y Van Montfrans, 1984). Estas ricas comunidades son importantes tanto desde el punto de vista de la biodiversidad global como para el mantenimiento de la funcionalidad de estos ecosistemas, de manera que la capacidad que presentan las fanerógamas para acumular elementos metálicos podría tener consecuencias negativas sobre las comunidades biológicas asociadas al incrementar la disponibilidad de los metales a través del alimento. Por lo tanto, la valoración de las comunidades que refleja la sensibilidad de múltiples especies a la exposición a larga plazo a contaminantes y su interacción con diversos factores ambientales, puede servir como un indicador sensible del significado biológico que tienen los niveles de contaminantes observados (Hyland *et al.*, 1999). A la luz de lo comentado anteriormente nos surge la pregunta que genera una de la hipótesis de trabajo de Capítulo III: **¿Se ven alteradas las comunidades de invertebrados asociados a las praderas que crecen sobre los fondos contaminados? ¿Cuáles son los principales factores ambientales que afectan a las estructuras de dichas comunidades?**

7. Transferencia trófica de metales, la biomagnificación

La acumulación de metales en la planta, así como en otros productores primarios y en los sedimentos no sólo tienen importancia en la estructuración de las comunidades de invertebrados asociadas sino, que a su vez sugieren la transferencia trófica potencial de dichos contaminantes. Un estudio del Instituto Español de Oceanografía (De León *et al.*, 1982) evaluó el impacto de la explotación de la Sierra Minera sobre el Mar Menor analizando los tejidos de algunos organismos de la laguna. El trabajo concluye que mientras el plomo y el zinc son acumulados por los bivalvos y se encuentran en altas concentraciones en los sedimentos, sus concentraciones en los peces y en el agua lagunar no son diferentes a las de otras áreas del Mediterráneo. El Capítulo IV de esta tesis trata, por lo tanto, de analizar los organismos de dos zonas distintas del Mar Menor con el fin de dar respuesta a la siguiente pregunta: **¿Qué concentraciones de metales presentan en la actualidad los organismos de la laguna? ¿Reflejan las concentraciones en los organismos el gradiente de metales encontrado en los sedimentos?**

Los invertebrados bentónicos marinos presentan gran flexibilidad tanto en su tipo de alimentación como en sus hábitos alimenticios, siendo un gran número de ellos oportunistas, lo que significa que tanto sus dietas como sus niveles tróficos pueden cambiar a lo largo de su periodo de crecimiento y por lo tanto variar de un individuo a otro dentro de una misma especie (Triple y Beamish, 1993). Esta flexibilidad alimenticia, que es función de entre otros factores de la disponibilidad de recursos alimenticios, hace muy difícil asignar de forma teórica un nivel trófico a un organismo específico, incluso más cuando se trata de comparar relaciones tróficas entre distintas comunidades. Por ello, de forma general los investigadores que estudian la acumulación de metales por invertebrados acuáticos con respecto a su alimentación o a su posición trófica (p. e. Farag *et al.*, 1998; Barwick y Maher, 2003), han deducido dicha posición de la literatura general basada en el conocimiento de sus dietas y, por lo tanto, han habido pocas oportunidades para diferenciar animales de acuerdo con sus niveles tróficos de dieta reales, ya que los organismos han sido clasificados en sentido amplio como detritívoros, herbívoros o predadores. Sin embargo, recientemente se está empleando con éxito el estudio de las proporciones de isótopos estables (carbono y nitrógeno) en ecosistemas costeros con el fin de explorar tanto las relaciones tróficas como las rutas de la materia orgánica dentro de las redes tróficas (p. e. Yamamuro 1999; Kharlamenko *et al.*, 2001, Vizzini y Mazzola, 2003; Vizzini *et al.*, 2005; Moncreiff y Sullivan, 2001), de manera que se ha mejorado sustancialmente el conocimiento en ecología trófica de ecosistemas marinos. Mediante el uso de los isótopos del nitrógeno, es ahora posible determinar de forma más precisa los niveles tróficos ocupados por los organismos y mediante los isótopos del carbono estimar la importancia relativa que tiene cada fuente de carbono para los organismos en dichas redes tróficas (DeNiro y Epstein, 1981; Fry, 1991). Gracias a ello, mediante el conocimiento tanto de las relaciones tróficas interespecíficas dentro de una comunidad como de las posiciones tróficas de las especies dentro de las cadenas alimenticias, se puede mejorar sensiblemente la interpretación de las concentraciones de contaminantes en organismos marinos y determinar de forma más precisa la posible biomagnificación o biodilución que pudieran presentar los contaminantes. En el Capítulo IV mediante el análisis de las concentraciones de metales en los organismos del Mar Menor y sus relaciones con los contenidos en isótopos estables de carbono y nitrógeno se pretende obtener respuestas a la pregunta: **¿Existe evidencia de biomagnificación de metales en las cadenas tróficas de la cubeta sur de la laguna del Mar Menor contaminada por metales pesados?**

8. La Directiva Marco del Agua

La Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000, establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas (Diario Oficial n° L 327 de 22/12/2000 p. 0001 – 0073). El Parlamento Europeo y el Consejo de la Unión Europea han adoptado esta Directiva con el objeto de establecer un marco para

la protección de las aguas superficiales continentales, las aguas de transición, las aguas costeras y las aguas subterráneas que contribuya, entre otras cosas, a proteger las aguas territoriales y marinas, y lograr los objetivos de los acuerdos internacionales pertinentes, incluidos aquellos cuya finalidad es prevenir y erradicar la contaminación del medio ambiente marino, mediante medidas comunitarias previstas en el apartado 3 del artículo 16, a efectos de interrumpir o suprimir gradualmente los vertidos, las emisiones y las pérdidas de sustancias peligrosas prioritarias, con el objetivo último de conseguir concentraciones en el medio marino cercanas a los valores básicos por lo que se refiere a las sustancias de origen natural y próximas a cero por lo que respecta a las sustancias sintéticas artificiales. En resumen, la Directiva Marco del Agua Europea establece un marco para la protección de todos los cuerpos del agua con el fin de prevenir su deterioro, planteando como objetivo principal que, antes del 2015, alcancen un buen estado de calidad ecológico. Este estado de calidad ecológico se basa en el estado de, entre otros factores, aquellos elementos que reflejen calidad biológica, incluyendo la composición y la abundancia de la fauna invertebrada bentónica. Se establece en función de cinco clases (alto, bueno, moderado, pobre y malo). Por lo tanto, para conseguir la realización de los objetivos establecidos en la Directiva, se hace necesario determinar en las fases iniciales de su implantación cual es el estado de calidad ecológico actual de los cuerpos de agua. Con este fin, en el 2001 se creó una “estrategia común de implantación”, con el grupo de trabajo COAST encargado de las aguas costeras. De manera que para establecer la calidad ecológica de fondos blandos y clasificar los cuerpos de aguas costeras, este grupo de trabajo ha sugerido que los métodos que combinan la composición, la abundancia y la sensibilidad puedan ser los más prometedores (Vincent *et al.*, 2002), y ha propuesto entre otras herramientas ambientales la aplicación de dos índices bióticos marinos, AMBI (Borja *et al.*, 2000) y BENTIX (Simboura y Zenetos, 2002), que se basan en la sensibilidad/tolerancia de la fauna bentónica a gradientes de estrés causados por enriquecimiento orgánico. De esta manera surge el Capítulo V de esta tesis con el fin de ayudar en la implantación de la Directiva y con el fin de responder con ello a las siguientes preguntas: **¿Cuál es el estado de calidad ecológico en el ámbito de la Directiva Marco del Agua de dos ecosistemas marinos, la laguna costera del Mar Menor y la costa mediterránea de Portmán, contaminados por metales pesados procedentes de actividades mineras?, ¿Resultan útiles para tal fin las herramientas de clasificación propuestas como los índices bióticos bentónicos basados en contaminación orgánica?**

9. Síntesis

En síntesis, la presente tesis doctoral nace y se gesta como una aproximación al problema de la contaminación por metales en la laguna costera del Mar Menor causado por actividades mineras. El objetivo de la misma es obtener una visión de la situación actual del ecosistema lagunar en relación con la contaminación por metales pesados. La clasificación de la presente tesis como una aproximación ecotoxicológica surge no solo del empleo de herramientas ecotoxicológicas, sino también de la filosofía en la que se basa esta ciencia. Así, al pretender determinar el efecto que esta contaminación causa sobre el ecosistema, se parte desde el origen y generación de los contaminantes, cómo estos entran en el sistema lagunar, su transporte en el interior del mismo y los cambios que estos experimentan, cual es el reparto de dichos contaminantes entre los distintos compartimentos ambientales de la laguna, y la biodisponibilidad que presentan en cada uno de ellos, y finalmente sus efectos sobre organismos individuales y sobre las comunidades. Como se ha comentado con anterioridad, establecer relaciones causa-efecto en estudios ambientales como el presente es extremadamente complejo por la diversidad de factores que influyen, así como por la incidencia de distintos tipos de perturbaciones que confluyen en el entorno lagunar y que interaccionan entre ellos para finalmente determinar el estado real del ecosistema. Por lo tanto, obtener conclusiones directas sobre el efecto de la contaminación por metales sobre el Mar Menor de forma global es un paradigma más de la dificultad con la que se encuentran los estudios ambientales de contaminación. Los trabajos que conforman esta tesis generan un conocimiento importante de cara al estado actual de la laguna en relación a esta contaminación y abre nuevas líneas de investigación al respecto.

Los capítulos de esta tesis presentan un formato de artículo científico traducido del inglés. Por otra parte, el hecho de estar compuesta por artículos independientes fuerza a la repetición de metodologías y descripciones o definiciones a lo largo de los capítulos. La estructura de esta introducción general en la que se intercalan las preguntas que son la base de los objetivos específicos de cada capítulo, se ha empleado con la intención de generar un hilo conductor entre los distintos trabajos individuales que componen la presente tesis de manera que ayude a generar una visión global de la misma.

Las publicaciones científicas que han salido de esta tesis son:

Marin-Guirao, L., Lloret, J., Marin, A., García, G., García, A.J. Pulse-discharges of mining wastes into a coastal lagoon during torrential rains in a semiarid European region: water chemistry and associated toxicity. *Chemistry and Ecology*, (en revisión).

Marín-Guirao, L., Cesar, A., Marín, A., Vita, R. 2005. Assessment of sediment metal-contamination in the Mar Menor coastal lagoon (SE Spain): metal distribution, toxicity, bioaccumulation and benthic community structure. *Ciencias Marinas*, 31(2): 413-428.

Marín-Guirao, L., Marín, A., Lloret, J., Martínez, E., García, A.J. 2005. Effects of mining wastes on a seagrass ecosystem: metal accumulation and bioavailability, seagrass dynamics and associated community structure. *Marine Environmental Research*, 60, 317-337.

Marín-Guirao, L., Cesar, A., Marín, A., Lloret, J., Vita, R. 2005. Establishing the ecological quality status of soft-bottom mining-impacted coastal water bodies in the scope of the Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 374-387.

Referencias bibliográficas

- Achterberg, E.P., Herlz V.M.C., Braungardt, C.B., Millward, G.E. 2003. Metal behaviour in an estuary polluted by acid mine drainage: the role of particulate matter. *Environmental Pollution*, 121: 283-292.
- Adams, S.M. 2003. Establishing causality between environmental stressors and effects on aquatic ecosystems. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 9(1): 17-35.
- Álvarez-Rogel, J., Ramos-Aparicio, M.J., Delgado-Iniesta, M.J., Arnaldos-Lozano, R. 2004. Metals in soils and above-ground biomass of plants from a salt marsh polluted by mine wastes in the coast of the Mar Menor lagoon, SE Spain. *Fresenius Environmental Bulletin*, 13: 274-278.
- Azcue, J.M. 1999. Environmental impacts of mining activities. Springer, Berlin, Heidelberg New York.
- Barwick, M., Maher, W. 2003. Biotransference and biomagnification of selenium, copper, cadmium, zinc, arsenic and lead in a temperate seagrass ecosystem from Lake Macquarie Estuary, NSW, Australia. *Marine Environmental Research*, 56: 471-502.
- Borja, A., Franco, J., Pérez, V. 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 1100-1114.
- Chapman, P.M. 1995. The role of ecotoxicology testing in assessing water quality. *Aust. J. Ecol.*, 20: 20-27
- Chapman, P.M., Wang F. (2001). Assessing sediment contamination in estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 3-22.
- Chapman, P.M., Wang, F., Janssen, C., Persoone, G., Allen, H.E. 1998. Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 55: 2221-2243.
- Chapman, P.M., Wang, F., Janssen, C.R., Goulet, R.R., Kamunde, C.N. 2003. Conducting ecological risk assessments of inorganic metals and metalloids: Current status. *Human and Ecological Risk Assessment*, 9: 641-697.
- Commonwealth of Pennsylvania. 1994. Water quality assessment in western Pennsylvania watershed. Commonwealth of Pennsylvania, Department of Environmental Protection, Pennsylvania.
- Conesa, H.M., Faz, A., Arnaldos, R. 2006. Heavy metal accumulation and tolerance in plants from mine tailings of the semiarid Cartagena-La Unión mining district (SE Spain). *Science of the Total Environment*, 366: 1-11.
- Costanza, R., d'Arge, de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B. and others. 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387: 253-260.
- Dassenakis, M., Scoullou, M., Gaitis, A. 1997. Trace metals transport and behaviour in the Mediterranean estuary of Acheloos River. *Marine Pollution Bulletin*, 34: 103-111.

- DeMaagd, P.G.J. 2000. Bioaccumulation tests applied in whole effluent assessment: a review. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19: 25-35.
- DeNiro, M.J., Epstein, S. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 45: 341-351.
- Díaz del Río, V. 1993. Estudio Geoambiental del Mar Menor. Monografías del Instituto Español de Oceanografía, N.º 4. Madrid. 223 pp.
- Di Toro, D.M., Zarba, C.S., Hansen, D.J., Berry, W.J., Swartz, R.C., Cowan, C.E., Pavlou, S.P., Allen, H.E., Tomas, N.A. and Paquin, P.R. 1991. Technical basis for establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals using equilibrium partitioning. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 10: 1541-1583.
- Duarte, C.M. 2002. The future of seagrass meadows. *Environmental Conservation*, 29: 192-206.
- Edgar, G.J. 1990. The influence of plant structure on the species richness, biomass and secondary production of macrofaunal assemblages associated with Western Australian seagrass beds. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 137: 215-240.
- Edgar, G.J., Robertson, A.I. 1992. The influence of seagrass structure on the distribution and abundance of mobile epifauna: pattern and process in a Western Australian *Amphibolis* bed. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 160: 13-31.
- Edgar, G.J., Shaw, C., Watson, G.F., Hammond, L.S. 1994. Comparisons of species richness, size-structure and production of benthos in vegetated and unvegetated habitats in Western Port, Victoria. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 176: 201-226.
- EMCBC. 1996. The perpetual pollution machine. Acid mine drainage. BC Mining Control, Canada
- Farag, A.M., Woodward, D.F., Goldstein, J.N., Brumbaugh, W., Meyer, J.S. 1998. Concentrations of metals associated with mining waste in sediments, biofilm, benthic macroinvertebrates, and fish from the Coeur d'Alene River Basin, Idaho. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34: 119-127.
- Feasby, D.G., Tremblay, G.A. 1995. New technologies to reduce environmental liability from acid generating mine waste. En: Hyne, T.P., Blanchette, M.V. (eds). Proc. of Subury 95. Mining and the Environ, Ontario, vol 2, pp 643-647.
- Foster, P., Hunt, D.T.E., and Morris, A.W. 1978. Metals in an acid mine streams and estuary. *Science of the Total Environment*, 9: 75-86.
- Fox, G.A. 1991. Practical causal inference for ecoepidemiologists. *J. Toxicol. Environ. Health*, 33: 359-373.
- Fourqurean, J.W., Marbá, N., Duarte, C.M. 2003. Elucidating seagrass population dynamics: Theory, constraints, and practice. *Limnology and Oceanography*, 48: 2070-2074.

- Frost, M.T., Rowden, A.A., Attrill, M.J. 1999. Effect of habitat fragmentation on the macroinvertebrate infaunal communities associated with the seagrass *Zostera marina* L. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 9: 255-263.
- Fry, B. 1991. Stable isotope diagrams of freshwater food webs. *Ecology*, 72: 2293-2297.
- García, C. 2004. *Impacto y riesgo ambiental de los residuos minero-metalúrgicos de la Sierra de Cartagena-La Unión (Murcia-España)*. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, Spain.
- García, G., Faz, Á. and Conesa H.M. 2003. Selection of autochthonous plant species from SE Spain for soil lead phytoremediation purposes. *Water, Air and Soil Pollution*, 3: 243-250.
- Gentile, J.H., Harwell, M.A., Cropper, W., Harweel, C.C., De Angelis, D., Davis, S., Ogden, J.C., Lirman, D. 2001. Ecological conceptual models: a framework and case study on ecosystem management for South Florida sustainability. *Sci. Total Environ.*, 274: 231-253.
- Gieré, R., Sidenko, N.V., Lazareva, E.V. 2003. The role of secondary minerals in controlling the migration of arsenic and metals from high-sulfide wastes (Berikul gold mine, Siberia). *Applied Geochemistry*, 18: 1347-1359.
- Grande, J.A., Beltrán, R., Saínz, A., Santos, J.C., de la Torre, M.L., Borrego, J. 2005. Acid mine drainage and acid rock drainage processes in the environment of Herrerías Mine (Iberian Pyrite Belt, Huelva-Spain) and impact on the Andevalo Dam. *Environmental Geology*, 47: 185-196.
- Gundersen, P., Olsvik, P.A., Steinnes, E. 2001. Variations in heavy metal concentration in two minig-polluted streams in central Norway. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 978-984.
- Hatje, V., Birch, G.F. and Hill, D. M. 2001. Spatial and temporal variability of particulate trace metals in Port Jackson estuary, Australia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 53: 63-77.
- Hatje, V., Payne, T.E., Hill, D.M., McOrist, G., Birch, G.F., Szymczak, R. 2003. Kinetics of trace element uptake and release by particles in estuarine waters: effects of pH, salinity, and particle loading. *Environment International*, 29: 619-629.
- Hyland, J.L., Van Dolah, R.F., Snoots, T.R. 1999. Predicting stress in benthic communities of southeastern U.S. estuaries in relation to chemical contamination of sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 2557-2564.
- Ingersoll, C.G. 1995. Sediment tests. En: Rand, G.M. (ed.), *Fundamentals of toxicology, effects, environmental fate and risk assessment*, 2nd ed. Taylor & Francis. pp.231-255.
- Jacob, D.L., Otte, M.L. 2004. Long-term effects of submerged and wetland vegetation on metals in a 90-year old abandoned Pb-Zn mine tailings pond. *Environmental Pollution*, 130: 337-345.

- Janssen, C.R., Heijerick, D.G., De Schamphelaere, K.A.C. 2003. Environmental risk assessment of metals: tools for incorporating bioavailability. *Environment International*, 983: 1-8.
- Johnson, D.B. 2003. Chemical and microbiological characteristics of mineral spoils and drainage water at abandoned coal and metal mines. *Water Air Soil Pollution, Focus* 2003; 3: 47-66.
- Kharlamenko, V.I., Kiyashko, S.I., Imbs, A.B. Vyshkavartzev, D.I. 2001. Identification of food sources of invertebrates from the seagrass *Zostera marina* community using carbon and sulfur stable isotope ratio and fatty acid analyses. *Marine Ecology Progress Series*, 220: 103-117.
- Kovács, E., Dubbin, W.E., Tamás, J. 2006. Influence of hydrology on heavy metal speciation and mobility in a Pb-Zn mine tailing. *Environmental Pollution*, 141: 310-320.
- Lillo Carpio, M. 1979. Geomorfología litoral del Mar Menor y del bajo Segura. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia. En: Mas Hernández J. 1994. *El Mar Menor: relaciones, diferencias y afinidades entre la laguna costera y el Mar Mediterráneo adyacente*. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Lloret, J., Marin, A., Marin-Guirao, L., Velasco, J. 2005. Changes in macrophytes distribution in a hypersaline coastal lagoon associated with the development of intensively irrigated agriculture. *Ocean & Coastal Management*, 48, 828-842.
- Margalef, R. 1991. *Teoría de los sistemas ecológicos*. Publicaciones de la Universitat de Barcelona.
- Marguí, E., Salvadó, V., Queralt, I., Hidalgo, M. 2004. Comparison of three sequential extraction and toxicity characteristic leaching tests to evaluate metal mobility in mining wastes. *Analytica Chimica Acta*, 524: 151-159.
- Martínez-Orozco, J.M., Valero-Huete, F., González-Alonso, S. 1993. Environmental problems and proposals to reclaim the areas affected by mining exploitations in the Cartagena mountains (southeast Spain). *Landsc Urban Plan*, 23: 195-207.
- Millward, G.E., Liu, Y.P. 2003. Modelling metal desorption kinetics in estuaries. *The Science of the Total Environment*, 314-316: 613-623.
- Moncreiff, C.A., Sullivan, M.J. 2001. Trophic importance of epiphytic algae in subtropical seagrass beds: evidence from multiple stable isotope analyses. *Marine Ecology Progress Series*, 215: 93-106.
- Moriarty, F. 1983. *Ecotoxicology the study of pollutants in ecosystems*, Academic Press, London. p. 233.
- Munkittrick, K.R. McCarty, L.S. 1995. An integrated approach to aquatic ecosystem health: top-down, bottom-up or middle-out? *J. Aquat. Ecosyst.*, 4: 77-90.
- Oen, I.S., Fernandez, J.C. and Manteca, J.I. 1975. The Lead-Zinc and Associated Ores of La Union. Sierra de Cartagena, Spain. *Economic Geology*, 70: 1295-1278.

- Ortega M., Nicolás, E., Esteve, M.A., Torres, A., Ramírez-Díaz, L. 1993. Prioridades en la restauración e integración paisajística de la Sierra Minera de La Unión y Cartagena (Murcia, Sureste de España): inventario, cartografía y tipología de cortas, balsas y escombreras. En: Ortiz-Silla R, editor. *Problemática ambiental y desarrollo*. Murcia, Spain: Sociedad Española de Geología Ambiental y Ordenación del Territorio; pp. 307–316.
- Orth, R.J., Van Montfrans, J. 1984. Epiphyte-seagrass relationships with an emphasis on the role of micrograzing: a review. *Aquatic Botany*, 18: 43-69.
- Parker, J.D., Duffy, J.E., Orth, R.J. 2001. Plant species diversity and composition: experimental effects on marine epifaunal assemblages. *Marine Ecology Progress Series*, 224: 55-67.
- Pearson, T.H., Rosenberg, R. 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology: An annual review*, 39: 229-311.
- Sáinz, A., Grande, J.A., de la Torre, M.L., Sanchez-Rodas, D. 2002. Characterization of sequential leachate discharges of mining waste rock dumps in the Tinto and Odiel rivers. *Journal of Environmental Management*, 64: 345-353.
- Simboura, N., Zenetos, A. 2002. Benthic indicators to use in Ecological Quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new Biotic Index. *Mediterranean Marine Science*, 3(2): 77-111.
- Simoneau, J. 1973. *Mar Menor; Evolution Sedimentologique et Geochimique recente du remplissage*. These présenté à l'Université Paul Sebatier de Toulouse (Sciences). France.
- Terrados, J., Ros, J. D. 1992. Growth and primary production of *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson in a Mediterranean coastal lagoon. *Aquatic Botany*, 43: 63-74.
- Tiwary, R.K. 2001. Environmental impact of coal mining on water regime and its management. *Water, Air and Soil Pollution*, 132: 185-199.
- Trippel, E.A., Beamish, F.W.H. 1993. Multiple trophic level structuring in *Salvelinus-Coregonus* assemblages in boreal forest lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50: 1442–1455.
- Turner, A. 1996. Trace metal partitioning in estuaries: Importance of salinity and particle concentration. *Marine Chemistry*, 54: 27-39.
- Turner, A., Le Roux, S.M., Millward, G.E. 2004. Speciation and partitioning of cadmium and zinc in two contrasting estuaries : The role of hydrophobic organic matter. *Limnology and Oceanography*, 49: 11-19.
- Vincent, C., Heinrich, H., Edwards, A., Nygaard, K., Haythornthwaite, J., 2002. Guidance on typology, reference conditions and classification systems for transitional and coastal waters. Produced by: CIS Working Group 2.4 (Coast), Common Implementation Strategy of the Water Framework Directive, European Commission, 119 pp.

- Vizzini, S., Benedetto, S., Thang, D.C., Mazzola, A. 2005. Spatial variability of stable carbon and nitrogen stable isotope ratios in a Mediterranean coastal lagoon. *Hydrobiologia*, 550: 73-82.
- Vizzini, S., Mazzola, A. 2003. Seasonal variations in the stable carbon and nitrogen isotope ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) of primary producers and consumers in a western Mediterranean coastal lagoon. *Marine Biology*, 142: 1009-1018.
- Weatherell, C.J., Feasby, D.G., Tremblay, G.A. 1997. The mine environment natural drainage program. En: Proc of PMI 97, 28th annual seminars and Symp., Chicago.
- Yamamuro, M. 1999. Importance of epiphytic cyanobacteria as food sources for heterotrophs in a tropical seagrass bed. *Coral Reefs* 18, 263-271.
- Zwolsman, J.J.G., Van Eck, B.T.M., Van Der Weijden, C.H. 1997. Geochemistry of dissolved trace metals (cadmium, copper, zinc) in the Scheldt estuary, southwestern Netherlands: Impacts of seasonal variability. *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 61: 1635-1652.

Objetivos

Objetivos

El objetivo general de este trabajo es estudiar los efectos de la contaminación por metales pesados procedentes de actividades mineras en las comunidades del Mar Menor. Los objetivos específicos de cada capítulo son:

Capítulo I.- Descarga de residuos mineros en la laguna costera del Mar Menor: comportamiento y distribución de los metales y toxicidad asociada al agua.

- Comprobar y determinar la entrada de residuos mineros en la laguna a través de las ramblas que drenan la Sierra Minera durante fenómenos de lluvias torrenciales.
- Estudiar el comportamiento y distribución de los metales durante su entrada y transporte en la laguna.
- Determinar la existencia de toxicidad en las aguas lagunares debida a la entrada de residuos mineros.
- Comparar un período de lluvias con un período de sequía a través de los niveles de metales en las aguas de la laguna y la toxicidad asociada.

Capítulo II.- Valoración de la contaminación por metales en los sedimentos de la laguna costera del Mar Menor (SE España): distribución de metales, toxicidad y estructura de las comunidades bentónicas.

- Evaluar la calidad ambiental de los fondos blandos de la cubeta sur de la laguna del Mar Menor influenciados por actividades mineras.
- Determinar las concentraciones de zinc, plomo, cobre y cadmio en los sedimentos de la laguna.
- Determinar la disponibilidad de los metales acumulados en los sedimentos de la laguna mediante pruebas de toxicidad agudas y crónicas empleando distintas especies de anfipodos y erizos marinos.
- Evaluar la biodisponibilidad de los metales acumulados en los sedimentos por medio de pruebas de bioacumulación en distintos tejidos de la fanerógama *Cymodocea nodosa*.
- Determinar la existencia de cambios en las estructuras de las comunidades de invertebrados bentónicos asociados con los sedimentos contaminados por metales pesados de la cubeta sur de la laguna.

Capítulo III.- Efectos de los residuos mineros en praderas de *Cymodocea nodosa*: acumulación de metales y biodisponibilidad, dinámica de la planta y estructura de las comunidades asociadas

- Determinar y cuantificar la acumulación de zinc, plomo y cadmio en distintas fracciones de la fanerógama marina *Cymodocea nodosa* (raíces, tallos y hojas) y en el biofilm que se desarrolla sobre las hojas, de praderas de la cubeta sur del Mar Menor.
- Comparar los niveles y patrones de acumulación de metales entre praderas desarrolladas sobre sedimentos contaminados por metales bajo la influencia de la descarga de residuos mineros a través de las ramblas y praderas alejadas de dicha influencia.
- Analizar las relaciones entre parámetros físico-químicos del sedimento que afectan la disponibilidad de los metales y las concentraciones de metales en los distintos tejidos de la planta.
- Determinar el estado de salud de las praderas estudiadas por medio de sus parámetros estructurales y de la reconstrucción de sus dinámicas poblacionales.
- Examinar los poblamientos de invertebrados asociados a las praderas y determinar los principales factores ambientales que afectan a sus composiciones y estructuras.

Capítulo IV.- Composición isotópica y transferencia trófica de metales en comunidades impactadas por la minería en el Mar Menor

- Determinar y comparar las concentraciones de zinc, plomo, cobre y cadmio de los sedimentos, productores primarios, invertebrados y peces de dos zonas de la cubeta sur del Mar Menor que difieren en la distancia a la desembocadura de las ramblas procedentes de la Sierra Minera.
- Determinar y comparar la composición isotópica de carbono y nitrógeno de los sedimentos, productores primarios, invertebrados y peces de ambas zonas del Mar Menor.
- Interpretar las concentraciones de metales en los componentes de ambas redes tróficas
- Evaluar las interacciones tróficas entre los componentes de ambas estaciones con la ayuda de los isótopos estables de carbono y nitrógeno.
- Evaluar la posible biomagnificación de metales en ambas redes tróficas, así como el origen de los mismos, por medio de las relaciones entre los metales bioacumulados y el contenido en isótopos estables.

Capítulo V.- Establecimiento del estado de calidad ecológico de fondos del Mar Menor y Portmán impactados por la minería en el ámbito de la Directiva Marco del Agua.

- Establecer el estado de calidad ecológico en el ámbito de la Directiva Marco del Agua de un sistema marino, la costa mediterránea de Portmán, y otro lagunar, la laguna costera del Mar Menor, impactados por residuos metales pesados procedentes de actividades mineras.
- Evaluar la aplicabilidad de los índices bióticos bentónicos propuestos para su aplicación en la Directiva Marco del Agua junto con otras herramientas ambientales en la valoración ambiental de sistemas marinos impactados por contaminación tóxica (metales pesados).
- Comparar las valoraciones ambientales obtenidas a través de diversas herramientas ambientales en estos dos sistemas impactados por una misma actividad (la minería).

Capítulo I

Descarga de residuos mineros en la laguna costera del Mar Menor: comportamiento y distribución de los metales y toxicidad asociada al agua

Capítulo I. Descarga de residuos mineros en la laguna costera del Mar Menor: comportamiento y distribución de los metales y toxicidad asociada al agua

1. Introducción

Las actividades mineras generan una de las fuentes de contaminación por metales pesados más persistentes del planeta, generando grandes volúmenes de residuos que suelen ser almacenados ocupando normalmente grandes superficies de terreno. Puesto que estos residuos están compuestos por una mezcla fangosa de roca finamente molida con altos contenidos en metales y restos de los productos químicos empleados durante las operaciones de molturado y lavado del mineral, sus características son muy distintas a las de los suelos propiamente dichos. Por este motivo se trata de un tipo de residuo muy susceptible de ser erosionado, especialmente en áreas donde las lluvias presentan un carácter torrencial (Jacob y Otte, 2004; Gieré *et al.*, 2003). Estos residuos pueden, por lo tanto, liberar metales durante cientos de años tras el cese de la actividad minera (Gundersen *et al.*, 2001; Tiwary, 2001). Por otro lado, una de las causas más importantes en la contaminación de las aguas es la generación de drenajes ácidos por la oxidación de los minerales con sulfuros como son las piritas (Tiwary, 2001; Sainz *et al.*, 2003; Grande *et al.*, 2005). Los bajos valores de pH resultantes, favorecen la dilución de los minerales y la liberación de metales tóxicos y otros elementos en los cuerpos de agua (Sainz *et al.*, 2004). Estos procesos ocurren en la superficie de los pantanos y de los residuos mineros siendo uno de los impactos ambientales más persistentes de la industria minera (Gundersen *et al.*, 2001).

La Sierra de Cartagena-La Unión ha sido sometida a explotación minera durante milenios para la obtención de plomo, plata y zinc. Dichas actividades han generado enormes cantidades de residuos que en la actualidad ocupan gran parte de la sierra. Aunque, toda actividad minera cesó en 1991, la explotación realizada a cielo abierto durante la segunda mitad del siglo pasado ha dado como resultado un paisaje fuertemente alterado y degradado que contiene un gran número de pozos, grandes balsas y pantanos mineros. En la cara norte de la Sierra de Cartagena-La Unión se encuentra la laguna costera del Mar Menor, hipersalina y relativamente somera, se trata de un área especialmente sensible y una de las mayores lagunas costeras del Mediterráneo. Debido al clima semiárido de la región, los cursos de agua en la zona, ramblas, presentan extremos hidrológicos de inundación y sequía, permaneciendo secos durante largos períodos de tiempo, y fluyendo hacia la laguna durante los fenómenos de lluvias torrenciales.

El presente capítulo estudia la descarga de residuos mineros en la laguna del Mar Menor como resultado del arrastre de los mismos por las aguas de escorrentía durante episodios de lluvias torrenciales, y en sus potenciales efectos tóxicos. Cuando ocurren

lluvias torrenciales las ramblas transportan drenajes y residuos asociados con las antiguas actividades mineras y suelos mineros abandonados al interior de la laguna, de manera que el ecosistema lagunar se verá afectado en un grado que depende de la fase en la que los metales sean transportados. Esto es debido a que la biodisponibilidad y la toxicidad de los metales se encuentran influenciadas por la distribución de los mismos entre las fases disuelta y particulada (Campbell, 1995, Baeyens *et al.*, 1998a; 1998b). Por lo tanto, junto con el análisis de la entrada de metales pesados en la laguna, valoramos los efectos biológicos de dichas descargas, determinando la toxicidad asociada a las aguas de la laguna por medio de pruebas de toxicidad empleando embriones de erizos marinos. Los análisis químicos por si solos no ofrecen evidencia de los efectos biológicos que causa la contaminación (Chapman *et al.*, 1987), por lo tanto a la hora de establecer dichos efectos el empleo de bioensayos puede ser muy útil (His *et al.*, 1999), ya que estas pruebas integran los datos químicos, y juntos constituyen una herramienta para la valoración de la contaminación.

No existen trabajos previos que hayan estudiado la descarga de residuos mineros en el Mar Menor como resultado del arrastre de los mismos por las escorrentías de las lluvias torrenciales y sus potenciales efectos tóxicos. Los objetivos del presente trabajo fueron: i) caracterizar el comportamiento y distribución de los metales descargados en la cubeta sur de la laguna; ii) determinar la potencial toxicidad de las aguas lagunares causada por dichas descargas; y iii) comparar un período lluvioso, estudiando dos episodios de lluvias, con un período seco.

2. Material y Métodos

2.1. Área de estudio, estaciones y períodos de muestreo

El área de estudio está localizada en el Mar Menor, sudeste de España, una de las mayores lagunas costeras en Europa y del área mediterránea. Debido a la escasa entrada de aguas continentales y a los altos niveles de evaporación, los valores de salinidad de la laguna varían entre 42 y 47 unidades prácticas de salinidad (ups). La masa de agua se mantiene verticalmente homogénea, incluso en períodos durante los cuales las ramblas introducen gran cantidad de agua dulce, no habiéndose descrito fenómenos de hipoxia. Las estaciones de muestreo se seleccionaron en la cubeta sur de la laguna, zona afectada por la descarga de las principales ramblas procedentes de la sierra minera. El presente trabajo se centrará en las ramblas de El Beal y Ponce (figura 1). Se seleccionaron dos estaciones para la rambla de El Beal, una localizada en la boca de dicha rambla (BO) y la otra aproximadamente 100 m hacia el interior de la laguna (BL). A una distancia similar pero enfrente de la rambla de Ponce, se muestreaba la estación PL. La estación Los Urrutias (UR) situada al norte de ambas ramblas recibe la influencia de la rambla de Miranda y del Miedo que descargan de forma difusa en los humedales del Carmolí. Por último las estaciones PH y

CI situadas en la zona de Playa Honda y la Isla del Ciervo respectivamente, ambas en la cubeta sur de la laguna y relativamente alejadas de ambas ramblas.

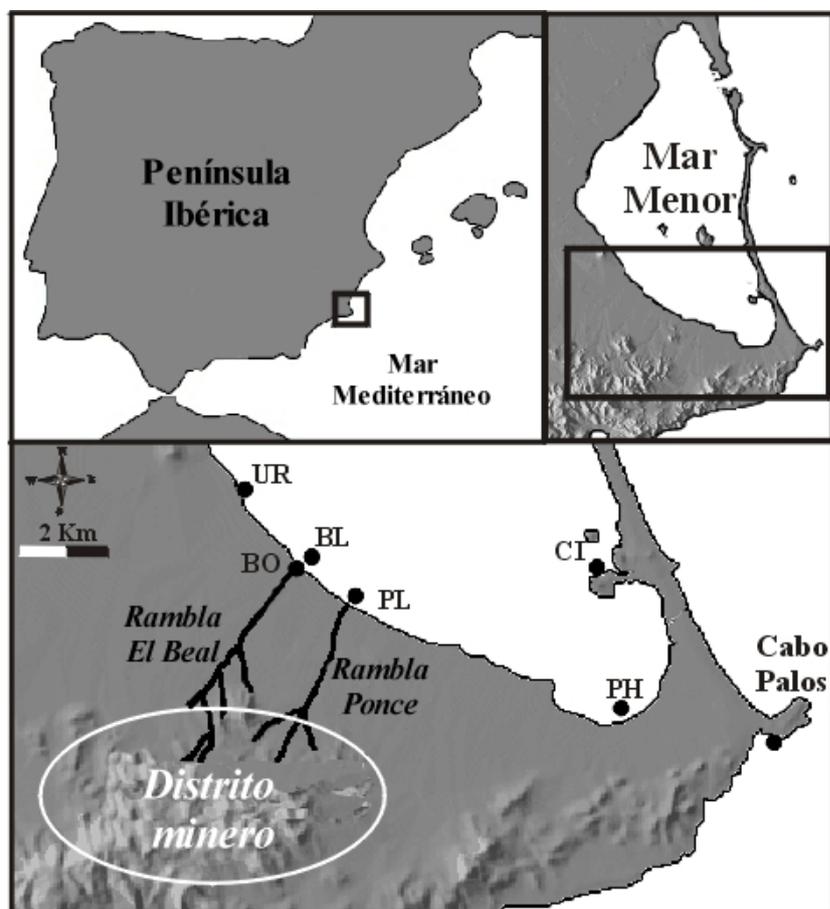


Figura 1.- Mapa de la zona de estudio y localización de las estaciones de muestreo.

Las cuencas de las ramblas de El Beal y Ponce están formadas por una densa red de canales efímeros. La rambla de El Beal tiene una superficie de 7,6 Km², un perímetro de 17,3 Km y una longitud total de 7,2 Km. Presenta una altura respecto al nivel del mar de 242 m con una pendiente media de 1,9%. Por otro lado, la rambla de Ponce tiene una superficie de 11,9 Km², un perímetro de 16,6 Km y una longitud de lecho de 6,4 Km. La diferencia en altura respecto al nivel del mar es de 384 m con una pendiente media de 3,1%. Estas cuencas tienen decenas de pantanos mineros con diversas propiedades físico-químicas como resultado de las actividades extractivas, de las fundiciones y de los lavaderos para la concentración de mineral (García, 2004).

Los datos de precipitaciones se obtuvieron de la estación meteorológica de Roche, Cartagena, localizada aproximadamente 15 km del área de estudio, y 70 metros sobre el nivel del mar. Se encuentran representados en la figura 2 y aunque los datos no reflejan la cantidad real de lluvia que es recogida en cada una de las cuencas, se consideran

representativos de la zona. Ambas tormentas muestreadas en este estudio fueron de moderada a alta intensidad para la región (CREM, 2002).

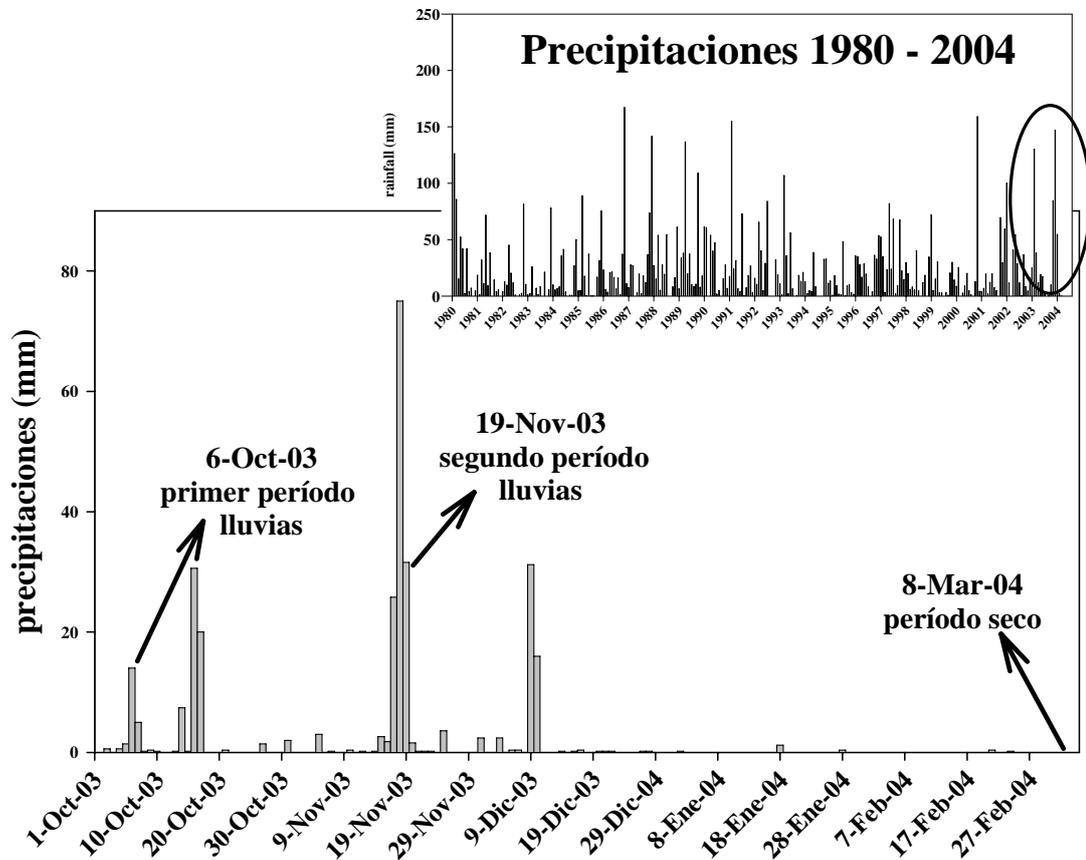


Figura 2.- Representación gráfica de los datos de precipitaciones correspondientes al período desde octubre 2003 hasta marzo 2004. Las flechas negras indican las fechas de muestreo: dos episodios de lluvias a lo largo del período de lluvias y un muestreo en el período de sequía. Fuente: Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA).

Con el fin de caracterizar el período de lluvias, se muestrearon dos episodios de lluvias correspondientes con la noche del 6 de octubre y la noche del 19 de noviembre del año 2003 (figura 2). La mañana del día 6 de octubre comenzamos muestreando ambas estaciones de la rambla de El Beal, el lecho de la rambla apenas llevaba un pequeño hilo de agua debido a las lluvias de la noche anterior. Tras la recogida de las muestras vuelve a llover torrencialmente provocando una nueva crecida, dándonos, de esta manera, la oportunidad de muestrear el agua que fluye por la rambla antes de alcanzar la laguna en un punto situado unos 200 m antes de su desembocadura. En este momento, con la rambla descargando, ambas estaciones de El Beal (BO y BL) son de nuevo muestreadas. Cuatro horas tras la crecida, que dura a penas una hora, ambas estaciones son muestreadas nuevamente. Estas muestras de ambas estaciones de El Beal se corresponden, por lo tanto,

con una hora antes de la crecida (-1 h), durante la crecida (0 h) y cuatro horas después (4 h) respectivamente. El resto de estaciones de la laguna son muestreadas solamente durante la crecida. Finalmente los muestreos se repiten en todas las estaciones tras 24 horas (7 de octubre) y tras 48 horas (8 de octubre).

El segundo episodio de lluvias torrenciales estudiado corresponde con las lluvias torrenciales del día 18 de noviembre de 2003 que continúan durante parte de la noche del 19 de noviembre, el muestreo se realiza en todas las estaciones la mañana del día 19 aunque no conocemos exactamente el tiempo transcurrido entre la crecida y la toma de muestras (12-14 horas). Finalmente, con el fin de caracterizar un período seco sin lluvias ni descarga de las ramblas, el día 8 de marzo de 2004, las estaciones son de nuevo muestreadas tras un período de tres meses sin lluvias.

2.2. Análisis físico-químicos del agua

Las medidas de salinidad y pH se realizaron *in situ* en cada estación de muestreo empleando una sonda multiparamétrica (WTW, MultiLine P4). Todas las muestras de agua eran recogidas en botellas de polietileno a medio metro de la superficie. Antes de los muestreos todas las botellas y contenedores empleados para el almacenamiento de las muestras eran lavadas con ácido (10% HNO₃). Todas las muestras fueron transportadas al laboratorio y almacenadas en oscuridad a 4°C. Las muestras son filtradas empleando filtros GF/F de fibra de vidrio, previamente quemados y pesados para estimar el contenido de sólidos en suspensión.

2.3. Análisis de metales

Inmediatamente al llegar al laboratorio, un volumen de 100 ml de muestra era filtrada a través de un filtro de 0,45 µm de tamaño de poro nominal de nitrato de celulosa (Whatman®) previamente lavado con ácido nítrico (10%) y enjuagado con agua bidestilada. Tras el filtrado, las muestras eran acidificadas (pH<2) con ácido nítrico (1 ml suprapur Merck®) y almacenadas a 4°C hasta su análisis. Se tomaron precauciones para hacer las muestras representativas y para evitar alteraciones durante su manipulación y transporte al laboratorio. A lo largo de este capítulo, el término “metales disueltos” se refiere al material que pasa a través del filtro de 0,45 µm, incluyendo los metales verdaderamente disueltos así como los coloidales. Las concentraciones de Zn, Pb, Cu y Cd disueltos fueron determinadas polarográficamente en las muestras filtradas por voltametría anódica (Metrohm 646 VA Processor) con electrodo de gota de mercurio. Se empleó el método de las adiciones estándar para determinar las concentraciones de metales disueltos y verificar la precisión analítica. Para el control de calidad de los análisis se introdujo un blanco cada 8 muestras y en cada

serie de análisis, también se introdujeron al azar muestras en duplicado durante dichos análisis. Los estándares empleados para la calibración fueron analizados periódicamente.

Para la determinación de los metales particulados, los filtros eran digeridos en caliente con ácido nítrico concentrado suprapur de Merck® y diluidos con agua Milli Q (resistividad: 18.2 MΩ) de acuerdo con los procedimientos descritos en los “Métodos Estándar” (APHA, 1995). Las concentraciones de metales particulados se midieron empleando un espectrómetro de plasma de emisión atómica (ICP-AES). A lo largo de los procedimientos analíticos se analizaron filtros en blanco para corregir las concentraciones de metales particulados obtenidas.

Dividiendo las concentraciones de metales disueltos analizados en las muestras entre las concentraciones tóxicas de referencia (EC50) descritas por Novelli *et al.* (2003) para *P. lividus*, calculamos las unidades tóxicas (UT) para cada uno de los cuatro metales (Zn, Pb, Cu y Cd). Las unidades tóxicas totales de una muestra fueron finalmente calculadas como la suma de los UT de cada metal, asumiendo efectos aditivos.

2.4. Toxicidad del agua

Se centrifugaron las muestras para las pruebas de toxicidad con el fin de eliminar el material particulado de las mismas, y las salinidades fueron ajustadas a las del Mediterráneo (37,6) con agua bidestilada o salmuera preparada por congelación de agua natural marina tomada en Cabo de Palos y empleada como control de las pruebas. Un control de salmuera se incluyó también durante el desarrollo de los bioensayos. Erizos adultos de la especie *Paracentrotus lividus* fueron capturados mediante buceo también en la zona de Cabo de Palos (figura 1). Las pruebas de toxicidad crónica de corta duración se llevaron a cabo con dicha especie de erizo de mar, de acuerdo con la metodología descrita por Cesar *et al.* (2004) y el manual de la agencia estadounidense de protección ambiental (U.S. EPA, 2002). Mediante la inyección 5 ml de KCl 0,5 M en la cavidad celómica, a través de la membrana peristómica, los erizos eran inducidos a la liberación de los gametos. Se emplearon cuatro réplicas por tratamiento, añadiendo aproximadamente 300 huevos fertilizados por réplica. Los bioensayos se desarrollaron en tubos de poliestireno de 15 ml dentro de una cámara de temperatura constante (ASL-Snijders) a 20°C con un fotoperíodo de 16h/8h luz/oscuridad. Las pruebas terminaban cuando los embriones en el control alcanzan el estadio de larva de cuatro brazos completamente desarrollados, fijándose entonces cada tubo con formalina tamponada. El período de exposición fue de aproximadamente 38h. Con un microscopio, los primeros cien embriones encontrados de cada tubo eran registrados como normal o anormalmente desarrollados, anotando también otras observaciones generales.

2.5. Análisis de los datos

Los resultados de las pruebas de toxicidad eran transformados (arcsen de la raíz cuadrada) antes de su análisis empleando el programa estadístico Toxstat® V.3.3 (Gulley *et al.*, 1991). Con el fin de comprobar la normalidad y la homogeneidad de varianzas de los datos, se emplearon los tests de Shapiro-Wilk y Hartley's respectivamente. Posteriormente a los datos se les aplicaba un test de Dunnett (ANOVA, $p < 0,05$). Los datos de los análisis físico-químicos fueron transformados mediante el logaritmo y sometidos también a un test de Dunnett (ANOVA, $p < 0,05$) con el fin de buscar diferencias entre estaciones y períodos. Los análisis de correlación de Pearson empleando el paquete estadístico Statistica v4.5, sirvieron para buscar correlaciones entre las concentraciones de metales y los parámetros físico-químicos de agua.

3. Resultados y discusión

Durante los dos eventos de lluvias torrenciales aquí estudiados, correspondientes a los meses de octubre y noviembre 2003, las ramblas de El Beal y Ponce descargaron en la laguna volúmenes de agua de lluvia significativos con una fuerte carga en sólidos provenientes de la erosión de los pantanos mineros y de los suelos contaminados. Los parámetros del agua de la laguna, salinidad, pH y contenido en sólidos en suspensión (tablas 1) indicaron que una cantidad indeterminada de agua dulce acidificada con una fuerte carga en sólidos era repentinamente descargada en el interior de la laguna.

Una hora antes de la crecida (-1h) en Octubre 2003, los valores de pH y salinidad de las aguas de la laguna evidenciaron las lluvias de la noche anterior. Fue durante la crecida (0h) cuando observamos una caída drástica en la salinidad y el pH y un incremento en la concentración de SS en la desembocadura de la rambla de El Beal (BO), cambios que también fueron reflejados en la estación situada frente a la desembocadura de la rambla (BL). Aunque, la descarga a través de El Beal era todavía evidente en su desembocadura 4 h tras la crecida, no lo era en el caso de la estación de la laguna debido a los procesos de mezcla y dilución. Finalmente el 7 y 8 de octubre, uno y dos días después de las lluvias, sólo el valor de pH ligeramente bajo determinado en la estación BO todavía reflejaba la descarga de agua de lluvia, mientras el contenido en SS se mantuvo elevado en todas las estaciones.

Tabla 1.- Resumen de los análisis físico-químicos del agua de la laguna. Sal. = salinidad (ups); SS= contenido en sólidos en suspensión (mg/L). Entre paréntesis: el tiempo transcurrido entre la crecida y el muestreo.

| | 1 ^{er} período lluvias | | | | | | | | | | | | 2 ^o período lluvias | | | Período seco | | | | | |
|-----------|---------------------------------|------|------|--------------|------|------|--------------|------|------|--------------|------|-----|--------------------------------|------|-----|-----------------|------|-----|------------|------|----|
| | 6 Octubre 03 | | | 6 Octubre 03 | | | 6 Octubre 03 | | | 7 Octubre 03 | | | 8 Octubre 03 | | | 19 Noviembre 03 | | | 8 Marzo 04 | | |
| | (-1h) | | | (0h) | | | (4h) | | | (24h) | | | (48h) | | | (12-14h) | | | | | |
| | Sal. | pH | SS | Sal. | pH | SS | Sal. | pH | SS | Sal. | pH | SS | Sal. | pH | SS | Sal. | pH | SS | Sal. | pH | SS |
| UR | -- | -- | -- | 45,9 | 8,09 | 480 | -- | -- | -- | 46,1 | 8,28 | 387 | 46,6 | 8,2 | 400 | 36 | 8,29 | 158 | 43,3 | 8,47 | 38 |
| BO | 14,2 | 6,73 | 1320 | 5 | 4,38 | 3849 | 18,2 | 6,47 | 1502 | 46,7 | 7,88 | 336 | 47,8 | 7,79 | 406 | 33,2 | 8,14 | 536 | 44,9 | 8,54 | 55 |
| BL | 46,5 | 7,86 | 320 | 41,1 | 6,57 | 483 | 47,1 | 8,04 | 406 | 46,2 | 8,15 | 332 | 47,1 | 8,08 | 337 | 35,8 | 8,26 | 230 | 43,9 | 8,51 | 45 |
| PL | -- | -- | -- | 46,7 | 8,3 | 304 | -- | -- | -- | 46,5 | 8,4 | 305 | 46,3 | 8,36 | 292 | 36,1 | 8,16 | 429 | 43,1 | 8,51 | 41 |
| PH | -- | -- | -- | 48,1 | 8,42 | 291 | -- | -- | -- | 46,4 | 8,47 | 288 | 46,8 | 8,33 | 296 | 43,4 | 8,56 | 48 | 42,5 | 8,53 | 37 |
| CI | -- | -- | -- | 48,2 | 8,49 | 306 | -- | -- | -- | 47,4 | 8,58 | 291 | 47,1 | 8,42 | 281 | 44,3 | 8,6 | 61 | 42,9 | 8,52 | 40 |

El segundo evento de lluvias estudiado el 19 de noviembre de 2003 fue mayor que el de octubre (figura 2). Lo que también se vio reflejado en los parámetros físico-químicos de las aguas de la laguna (tabla 1), aquellas estaciones más influenciadas por la descarga de las ramblas (UR, BO, BL y PL) presentaron menores valores de pH y salinidad y mayores en el contenido en SS que aquellas estaciones situadas más alejadas (PH y CI). En esta ocasión, ambas ramblas (Beal y Ponce) descargaron sus aguas en el interior de la laguna.

Por su parte, las muestras tomadas el 8 de marzo de 2004 durante un periodo de sequía, tras tres meses sin lluvias, no mostró claras diferencias entre las estaciones. Aunque en este período la salinidad medida fue menor que durante el período de lluvias, esto es debido al balance natural hidrológico estacional de las aguas de la laguna.

Durante el muestreo correspondiente con el 6 de octubre, la repentina lluvia acompañada por la crecida de la rambla de El Beal, nos ofreció la oportunidad de muestrear el agua de escorrentía que fluía a través de la rambla. Esta escorrentía de lluvia, caracterizada por su alto contenido en sólidos en suspensión y concentraciones de metales particulados (tabla 2), evidenció que el material erosionado rico en metales alcanzaba las aguas de la laguna del Mar Menor a través de las ramblas; mientras que los bajos valores de pH y las altas concentraciones de metales en forma disuelta apuntan a la generación de drenajes ácidos mineros (Akcil y Koldas, 2005).

Tabla 2.- Resumen de las características físico-químicas de las aguas de la rambla de El Beal muestreada el 6 de octubre de 2003. Las concentraciones de metales están dadas en mg/l para metales disueltos y particulados; la salinidad en ups y el contenido en sólidos en suspensión (SS) en mg/l.

| | Rambla de El Beal | | | | | | |
|---------------------|-------------------|--------|------|------|----------------------------|-----|------|
| | Metales (mg/l) | | | | Parámetros físico-químicos | | |
| | Zn | Pb | Cu | Cd | Salinity | pH | SS |
| <i>disueltos</i> | 26,60 | 0,89 | 0,30 | 0,35 | 1,9 | 4,1 | 4901 |
| <i>particulados</i> | 31,65 | 141,41 | 1,64 | 0,15 | | | |

Los residuos mineros procedentes de la explotación de piritas, son oxidados por el agua y el oxígeno, reacciones que se ven favorecidas por la presencia de bacterias del tipo *Thiobacillus*, siendo el resultado final de estas reacciones un conjunto de contaminantes solubles depositados sobre la superficie del mineral (Johnson, 2003; Grande *et al.*, 2005, Tiwary, 2001; Sainz *et al.*, 2003). Este proceso ocurre a lo largo del año, de manera que los contaminantes son acumulados en la superficie de los pantanos y de los suelos mineros para ser posteriormente disueltos y arrastrados por el agua de lluvia y las escorrentías (Tiwary, 2001; Grande *et al.*, 2005). Las eflorescencias amarillas de sales comúnmente

observadas en los lechos de las ramblas durante los periodos de sequía indican la presencia de minerales con sulfatos solubles (Hochella *et al.*, 2005)

Los análisis de metales en el agua de escorrentía de la rambla de El Beal durante el día 6 de octubre indicaron que antes de alcanzar las aguas de la laguna el 54% del zinc y el 28,8% del cadmio eran transportados asociados con partículas, mientras que para el plomo y el cobre dichos porcentajes fueron del 99,4 y 84,3% respectivamente. Una vez que las aguas de la rambla alcanzaron la desembocadura (BO) estos porcentajes se incrementan al 79 y 43% para Zn y Cd respectivamente, manteniéndose elevados para el Pb y Cu (99 y 95% respectivamente). Al mismo tiempo, en la estación situada 100 metros hacia el interior de la laguna (BL), el plomo y el cobre continúan principalmente asociados con partículas (98 y 99% respectivamente), mientras que para el zinc y cadmio los porcentajes disminuyen a 72 y 14% respectivamente. Este incremento en las concentraciones de zinc y cadmio disueltos observados, claramente visible cuatro horas tras la crecida en la desembocadura de El Beal, puede ser explicado por el “choque salino” que ocurre cuando material particulado en suspensión entra en contacto con agua salina. La desorción inicial de zinc y cadmio que ocurre de forma rápida es debida a la competencia entre los principales cationes del agua marina con los metales por los lugares de unión en el material en suspensión (Achterberg *et al.*, 2003; Millward y Liu, 2003; Hatje *et al.*, 2003; Turner, 2003). De forma contraria, debido a su naturaleza reactiva con el material particulado en suspensión, el plomo muestra gran capacidad de ser retirado de la fase disuelta incluso en condiciones de baja salinidad y valores bajos de pH (Braungardt *et al.*, 2003).

El hecho que el plomo transportado en las aguas de escorrentía se encontrara principalmente en forma particulada con bajas concentraciones en estado disuelto, de manera contraria al zinc y cadmio, se encuentra en conformidad con un estudio reciente de movilidad de metales en un pantano minero de la cuenca de El Beal, donde Marguí *et al.* (2005) encontraron que mientras el plomo era bien retenido en los residuos, el zinc y el cadmio se presentaban como los metales más móviles y por lo tanto más propensos a ser liberados en el entorno.

Como ha sido verificado, la hidrografía de las ramblas esta caracterizada por una crecida abrupta de corta duración lo que significa que los drenajes ácido mineros ocurren en forma de pulsos durando apenas algunas horas. Observando las concentraciones de metales en las aguas de la laguna, en todas las fechas de muestreo las mayores concentraciones de metales disueltos fueron las mostradas por el zinc, mientras que el plomo presentó las mayores concentraciones en estado particulado (figuras 3-6). Durante ambos eventos de lluvias torrenciales estudiados, la concentración de metales disueltos en las aguas de la laguna superó los niveles de calidad y las concentraciones naturales de referencia (Manfra y Accornero, 2005; Cole *et al.*, 1999), mientras que durante el período de sequía se encontraron dentro de los rangos encontrados en otras zonas del Mediterráneo

(Manfra y Accornero, 2005), como había sido descrito previamente durante la explotación minera por De León *et al.* (1982).

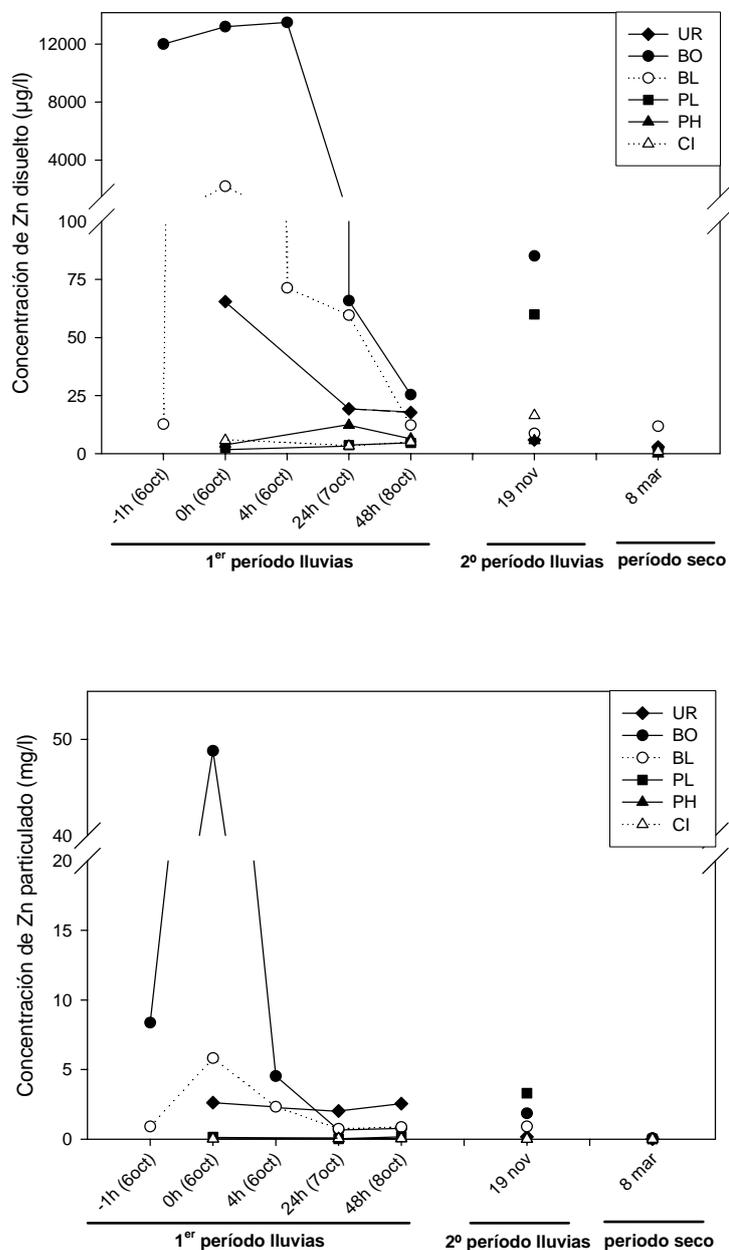


Figura 3.- Representación gráfica de las concentraciones de zinc, disuelto (µg/l) y particulado (mg/l), para los tres períodos estudiados (octubre y noviembre 2003 y marzo 2004).

En el primer episodio de lluvias estudiado (octubre) ambas estaciones de El Beal presentaron las mayores concentraciones de metales en las aguas de la laguna. Un día después de las lluvias, los metales se encontraron principalmente en forma particulada en todas las estaciones de la laguna. El ligero incremento en las concentraciones de metales particulados observados en las estaciones influenciadas por la descarga de las ramblas dos

días después de la crecida, parece estar relacionado con el viento de aquel día proveniente del primer cuadrante que causa la resuspensión de sedimentos por el oleaje que genera en la orilla sur de la laguna.

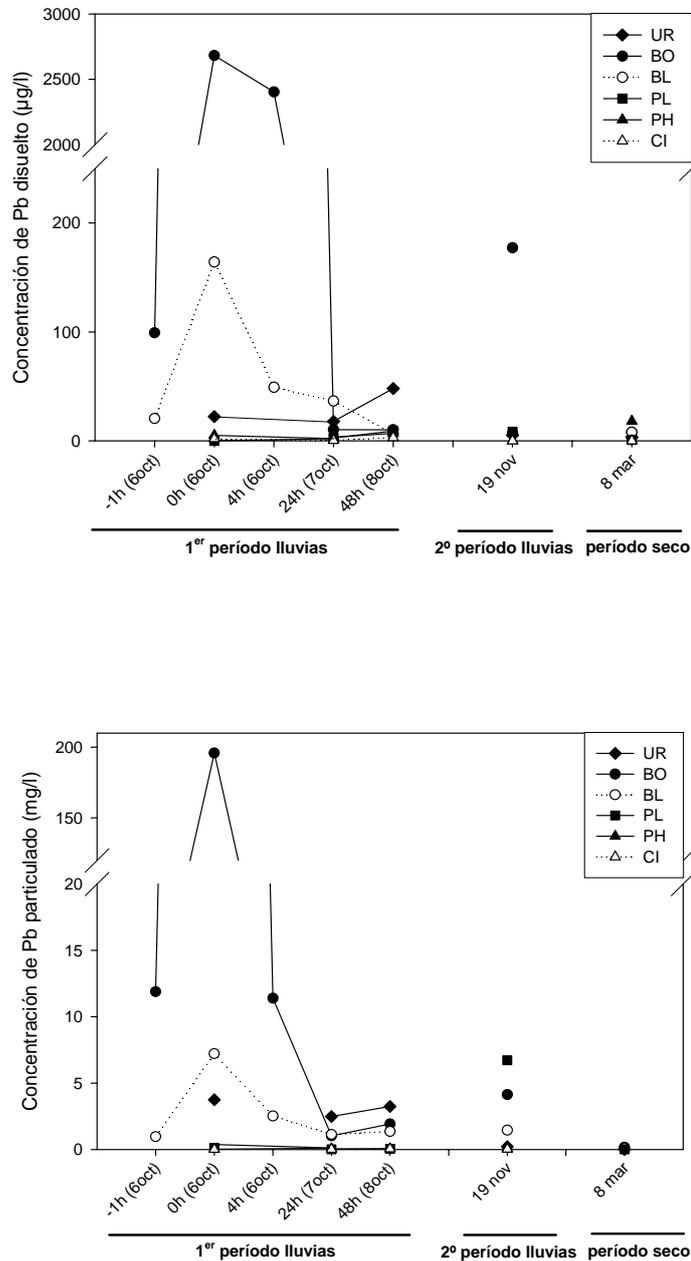


Figura 4.- Representación gráfica de las concentraciones de plomo disuelto (µg/l) y particulado (mg/l), para los tres periodos estudiados (octubre y noviembre 2003 y marzo 2004).

Por su parte, las concentraciones de metales analizadas durante el segundo episodio de lluvias torrenciales, correspondiente al 19 de noviembre de 2003, indicaron una mayor descarga de residuos mineros a través de la rambla de Ponce que a través de la de El Beal, siendo las concentraciones de metales, tanto en estado disuelto como particulado, mayores

en PL que en BL. Los metales en las aguas de la laguna se encontraron principalmente unidos a partículas, siendo las concentraciones de metales disueltos similares a las encontradas 24 horas después de las lluvias anteriores de octubre.

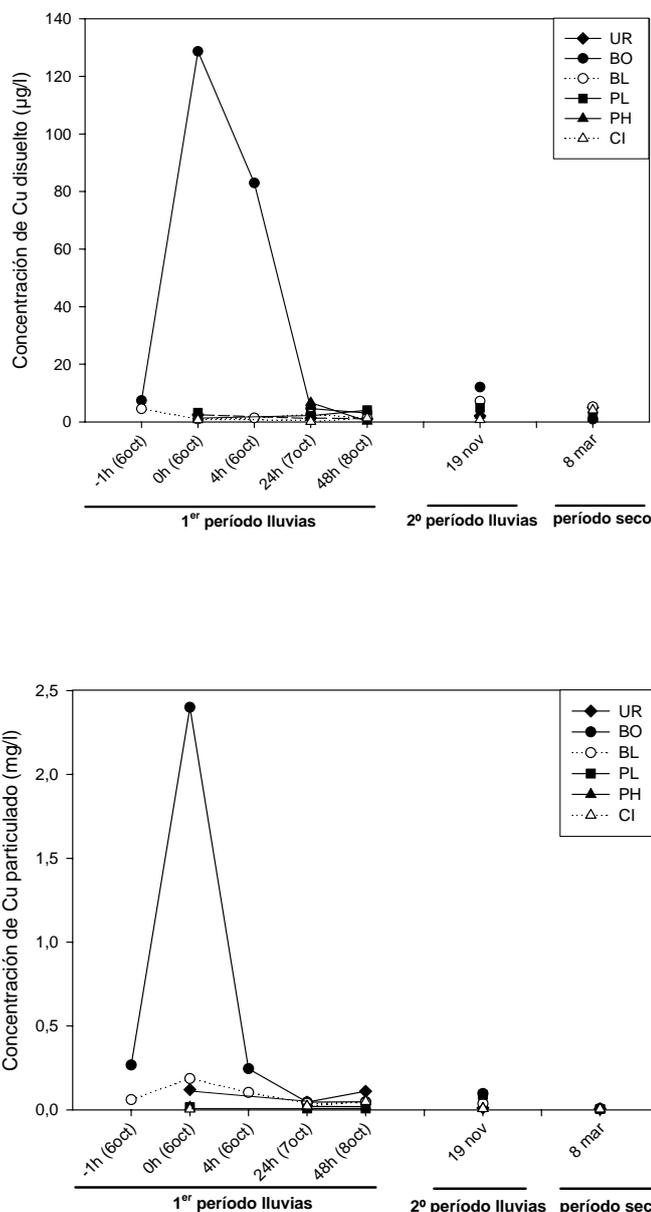


Figura 5.- Representación gráfica de las concentraciones de cobre disuelto (µg/l) y particulado (mg/l), para los tres períodos estudiados (octubre y noviembre 2003 y marzo 2004).

Por otro lado, las concentraciones de metales analizados en el período seco (8 de marzo 2004) presentaron los menores valores de todo el estudio. En esta ocasión, la mayor concentración de metales disueltos fueron encontrados en la estación PH para el plomo (17,9 µg/L) y en BL para el zinc (11,7 µg/L), el resto de estaciones presentaron niveles por debajo de 2 y 7 µg/L para zinc y plomo respectivamente. Por su parte, los metales

particulados exhibieron las mayores concentraciones en las estaciones situadas en la desembocadura y frente a la rambla de El Beal.

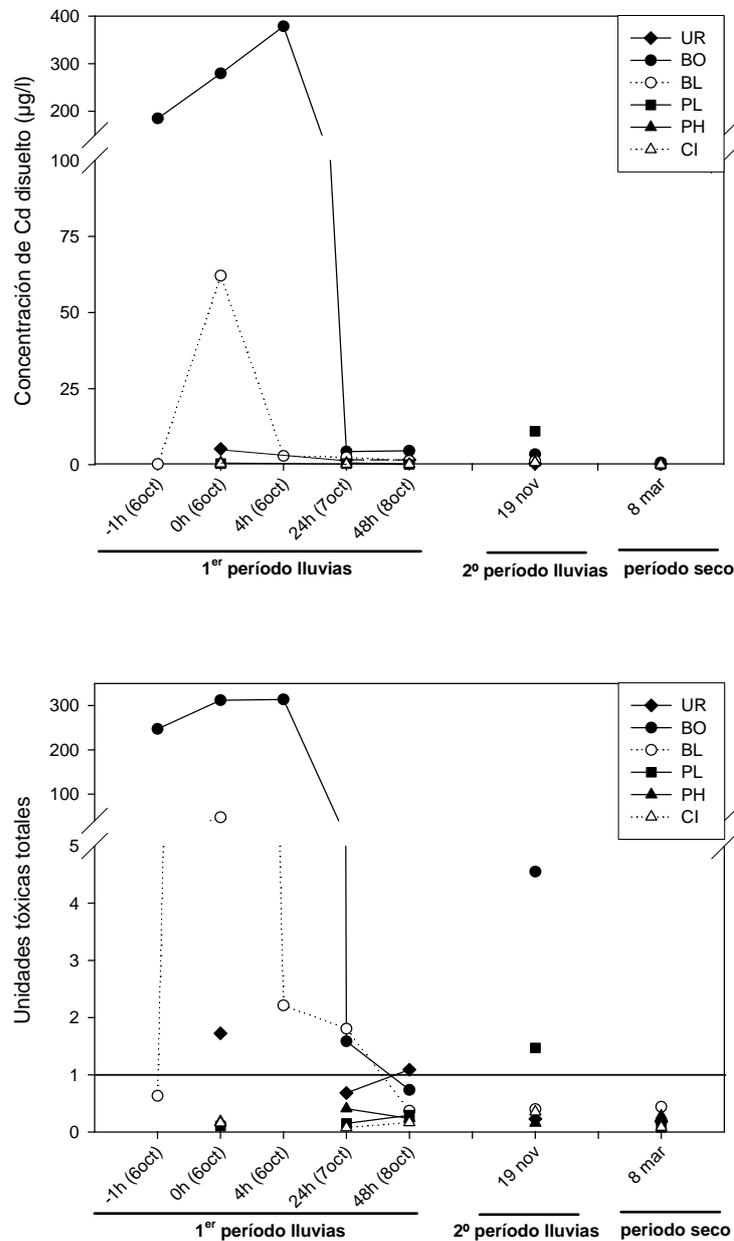


Figura 6.- Representación gráfica de las concentraciones de cadmio disuelto ($\mu\text{g/l}$), y las unidades tóxicas totales (ΣUT) para los tres períodos estudiados (octubre y noviembre 2003 y marzo 2004).

No se han representado los valores de cadmio particulado, al no encontrarse en concentraciones detectables en un gran número de muestras, debido al bajo volumen de muestra filtrado (100 ml) y a las bajas concentraciones de sólidos en suspensión especialmente durante el período seco.

El análisis de correlaciones entre los parámetros físico-químicos del agua y las concentraciones de metales, mostraron que tanto los metales disueltos como los particulados presentaron correlaciones negativas significativas ($p < 0,001$) con los valores de salinidad y pH, mientras que dichas correlaciones fueron significativas y positivas ($p < 0,001$) con respecto a el contenido en sólidos en suspensión (tabla 3).

Tabla 3.- Coeficientes de correlación de Pearson obtenidos entre las concentraciones de metales (disueltos y particulados) y los parámetros físico-químicos del agua de la laguna salinidad, pH y concentración en SS. N= n° de observaciones; Nivel de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

| | | N | Salinidad | pH | SS |
|-----------|--------------------|----|-----------|----------|---------|
| Zn | <i>disuelto</i> | 34 | -0,91*** | -0,86*** | 0,84*** |
| | <i>particulado</i> | 34 | -0,75*** | -0,87*** | 0,95*** |
| Pb | <i>disuelto</i> | 34 | -0,78*** | -0,83*** | 0,87*** |
| | <i>particulado</i> | 34 | -0,56*** | -0,59*** | 0,68*** |
| Cu | <i>disuelto</i> | 34 | -0,80*** | -0,84*** | 0,92*** |
| | <i>particulado</i> | 34 | -0,72*** | -0,85*** | 0,94*** |
| Cd | <i>disuelto</i> | 34 | -0,86*** | -0,83*** | 0,81*** |
| | <i>particulado</i> | 8 | -0,79* | -0,88** | 0,97*** |

Al igual que ocurre en este estudio en el Mar Menor, han sido previamente descritas correlaciones negativas entre las concentraciones de metales disueltos y los valores de salinidad y pH en estuarios influenciados por drenajes ácidos mineros. En dichos sistemas, el comportamiento de los metales parece estar controlado por fuertes variaciones en pH, así como por cambios en la salinidad (Millward y Liu, 2003). Observando nuestros resultados, vemos que cuando el agua de las ramblas acidificada se mezcla con las aguas tamponadas de la laguna, el pH aumenta rápidamente. Este incremento en los valores de pH se traduce en una reducción significativa de la capacidad de disolución de los residuos mineros (Grande *et al.*, 2005), favoreciendo que la carga de metales disueltos precipiten en la laguna. Además, el material particulado juega un papel importante en el transporte y atenuación de los metales, regulando las concentraciones de metales disueltos por medio de procesos de adsorción y desorción (Achterberg *et al.*, 2003, Hatje *et al.*, 2003).

Como resultado de lo anterior, se produce una rápida eliminación de los metales en solución con la neutralización del pH y la alta salinidad. Por lo tanto, los metales disueltos son rápidamente eliminados de la columna de agua afectando solo a aquellas estaciones situadas cerca de la desembocadura de las ramblas; mientras que los metales particulados, que se mantienen durante más tiempo en la columna de agua, son transportados más lejos, afectando por lo tanto un área mayor. De hecho, la influencia de los metales particulados pudo ser detectada en las estaciones más alejadas PH y CI (aproximadamente 6 km), como resultado de la difusión y el transporte de la pluma de turbidez, visualmente apreciable

durante el muestreo por la extensión progresiva de una mancha de color rojizo desde la desembocadura de las ramblas. Un comportamiento similar fue observado por Pohl *et al.* (2002), estudiando el impacto de la descarga de metales pesados en el Mar Báltico durante una inundación excepcional, donde la principal parte de los metales descargados estaban asociados con sólidos en suspensión y eran eliminados de la columna de agua y acumulados en los sedimentos. En este sentido, los altos niveles de metales de los sedimentos de la laguna en las últimas décadas (De León *et al.*, 1982; Rodríguez *et al.*, 2001), indican que gran proporción de metales, tanto disueltos como particulados, son retenidos dentro de la laguna.

Debido al ajuste de salinidad de las muestras para la realización de las pruebas, estas fueron diluidas entre el 1,8 y el 28,3%. Todas las estaciones muestreadas durante la crecida del 6 de octubre, presentaron toxicidad en sus aguas, siendo significativas las diferencias con respecto al control ($p < 0,05$). Los mayores niveles de toxicidad se encontraron en UR y las estaciones de la rambla de El Beal, donde no se observó ninguna larva completamente desarrollada (Tabla 4). Por otro lado, la toxicidad de las aguas en las estaciones PH y CI fue menor que en el resto de estaciones. En estas últimas estaciones, más alejadas de las descargas de las ramblas, la toxicidad del agua disminuyó un día después de las inundaciones y tras dos días, no mostraron evidencia de toxicidad. Por otro lado, dos días tras las lluvias todavía se encontraron altos niveles de toxicidad en las muestras de UR y las estaciones de El Beal. Y aunque la rambla de Ponce parece no haber descargado gran cantidad de agua comparada con la de El Beal, la estación PL también presentó altos niveles de toxicidad durante esta crecida, disminuyendo tras 24 h.

Tabla 4.- Resumen de los resultados obtenidos en las pruebas de toxicidad con erizos. %pluteus = porcentaje de larvas pluteus completamente desarrolladas; \pm DE = desviación estandar. * indica diferencias significativas con el control ($p < 0,05$). Entre paréntesis: el tiempo transcurrido entre la salida de las ramblas y el muestreo.

| | 1 ^{er} período lluvias | | | | | | 2 ^o período lluvias | | Período seco | | | | | |
|-------------------------|---------------------------------|----------|-------------------|----------|-------------------|----------|--------------------------------|----------|--------------------|----------|--------------------------|----------|------------|----------|
| | 6 Octubre 03 (-1h) | | 6 Octubre 03 (0h) | | 6 Octubre 03 (4h) | | 7 Octubre 03 (24h) | | 8 Octubre 03 (48h) | | 19 Noviembre 03 (12-14h) | | 8 Marzo 04 | |
| | %pluteus | \pm DE | %pluteus | \pm DE | %pluteus | \pm DE | %pluteus | \pm DE | %pluteus | \pm DE | %pluteus | \pm DE | %pluteus | \pm DE |
| UR | -- | -- | 0,0* | 0,0 | -- | -- | 0,0* | 0,0 | 0,0* | 0,0 | 85,8* | 5,3 | 87,5* | 1,3 |
| BO | 0,0* | 0,0 | 0,0* | 0,0 | 0,0* | 0,0 | 0,0* | 0,0 | 0,0* | 0,0 | 2,8* | 1,3 | 84,5* | 1,7 |
| BL | 0,3* | 0,5 | 0,0* | 0,0 | 2,5* | 1,7 | 0,5* | 0,6 | 0,3* | 0,5 | 28,5* | 3,3 | 89* | 3,6 |
| PL | -- | -- | 13,5* | 2,5 | -- | -- | 76,5 | 3,1 | 62,3* | 6,4 | 0,0* | 0,0 | 87,3* | 3,9 |
| PH | -- | -- | 58,3* | 2,8 | -- | -- | 74,0* | 2,9 | 82,5 | 2,1 | 96,8 | 1,0 | 84,5* | 2,6 |
| CI | -- | -- | 46,3* | 2,5 | -- | -- | 76,3 | 5,6 | 77,3 | 2,2 | 97,8 | 0,5 | 95,3 | 1,0 |
| Referencia | 89,5 | 4,8 | 89,5 | 4,8 | 89,5 | 4,8 | 89,5 | 4,8 | 90,5 | 5,1 | 98 | 1,6 | 96,5 | 0,6 |
| Control salmuera | 84 | 5,9 | 84 | 5,9 | 84 | 5,9 | -- | -- | -- | -- | 96,7 | 1,3 | -- | -- |

Para los cuatro metales analizados, los niveles en estado disuelto obtenidos en la desembocadura de El Beal durante la crecida y cuatro horas después fueron mayores que la concentración media efectiva (EC50), aquella concentración que causa efecto al 50% de los embriones, según los valores encontrados en la bibliografía para *P. lividus* (Tabla 5)(Cesar *et al.*, 2002; Fernández y Beiras, 2001; Novelli *et al.*, 2003; Warnau *et al.*, 1996). Y excepto en ese momento, las concentraciones de Cu y Cd disuelto no volvieron a presentar concentraciones mayores a sus EC50. En BL, 24 h tras la crecida la concentración de Zn disuelto fue mayor que su EC50, y tras 48 h, ambos Pb y Zn se encontraron en concentraciones mayores que sus correspondientes concentraciones de efecto no observable (NOEC) (Novelli *et al.*, 2003).

Tabla 5.- Resumen de las concentraciones medias afectivas (EC50), concentraciones de efecto no observable (NOEC) y las menores concentraciones de efectos observados (LOEC) encontradas en la literatura para pruebas de toxicidad con embriones de erizo *Paracentrotus lividus*. Las concentraciones de metales están dadas en mg/l.

| | Warnau <i>et al.</i> , 1996 | | Fernandez y Beiras 2001 | | Cesar <i>et al.</i> , 2002 | Novelli <i>et al.</i> , 2003 | |
|-----------|--------------------------------|-------|----------------------------|-------|-------------------------------|---------------------------------|-------|
| | EC ₅₀ | LOEC | EC ₅₀ | LOEC | EC ₅₀ | EC ₅₀ | NOEC |
| Zn | -- | -- | -- | -- | 0,050 | 0,049 | 0,01 |
| Pb | -- | -- | 0,509 | 0,250 | -- | 0,068 | 0,002 |
| Cu | 0,047<EC ₅₀ <0,635 | 0,032 | 0,0667 | 0,016 | -- | 0,062 | 0,037 |
| Cd | 3,372<EC ₅₀ <11,240 | 1,124 | 9,240 | 0,050 | 2,060 | 0,230 | 0,010 |

En noviembre 2003, la estación localizada frente de la rambla de Ponce (PL) presentó los mayores niveles de toxicidad no observándose ninguna larva totalmente desarrollada. Aunque en esta ocasión y de forma contraria a las lluvias de octubre, la rambla de Ponce parece haber descargado más agua que la de El Beal, las dos estaciones de El Beal también mostraron altos niveles de toxicidad, especialmente la de la desembocadura. Estas estaciones mostraron concentraciones de plomo y zinc disuelto mayores que sus correspondientes EC50. Por otro lado, a pesar de que la estación UR mostró bajos niveles de toxicidad, solo las estaciones más distantes (PH y CI) no presentaron diferencias significativas con el control (p<0,05).

Los resultados de toxicidad de las aguas de la laguna del período de sequía, correspondiente al 8 de marzo de 2004, mostraron que aunque todas las estaciones presentaron porcentajes de larvas totalmente desarrolladas mayores al 84,5%, solo la alejada estación CI no presentó diferencias con el control (p<0,05).

Todos los metales analizados en el presente estudio han sido descritos como causantes de efectos embriotoxicos al erizo marino *Paracentrotus lividus* (Novelli *et al.*, 2003). Debido a la consideración de un efecto aditivo en la mezcla de metales para el cálculo de las unidades tóxicas (UT), hemos observado como muestras con $\sum UT < 1$ (figura 6)

presentaron altos niveles de toxicidad, y esto pueda ser debido al posible efecto sinérgico de dicha mezcla de metales (Fernández y Beiras, 2001; Phillips *et al.*, 2003), así como a la existencia de otros elementos tóxicos no analizados (ejem. Ni y As). De todas formas, los análisis de correlaciones mostraron correlaciones significativas negativas ($p < 0,05$; $N=34$) entre el porcentaje de pluteus y las unidades tóxicas totales, las UT de Zn y las UT de Cd.

Aunque se estableció como criterio de toxicidad el estadio de larva pluteus de cuatro brazos totalmente desarrollada, hemos observado efectos inhibitorios en el estado de desarrollo de los embriones entre ambas estaciones de El Beal (BO y BL), a las recientemente descritas por Kobayashi y Okamura (2004) en un efluente minero. Durante la crecida de octubre, las muestras de la desembocadura de El Beal (BO) mostraron que la mayoría de los huevos fertilizados no habían llegado a alcanzar ninguna división celular, mientras que los cigotos correspondientes a BL se encontraban en la primera y segunda división celular. Es después de 24 horas cuando se observaron la presencia de algunos cigotos en el estadio de blástula en la estación BO, incrementándose su proporción 48 horas tras las inundaciones. Por otro lado, tras 24 horas la estación BL mostró la mayoría de los embriones en el estadio de gastrula, alcanzando algunos el estadio de prisma, e incrementándose la proporción de estos transcurridas 48 horas. Por otra parte, como parece ser nuestro caso, Kobayashi y Okamura concluyen en un trabajo posterior (2005) que el zinc es uno de los elementos responsables de causar las malformaciones encontradas viéndose sus efectos intensificados por la presencia de otros metales como el plomo y el cobre, entre otros.

Puesto que tanto los tiempos de recuperación entre exposiciones, como la concentración de exposición previa, y la duración de los efectos de la exposición afectan al destino de los organismos durante las exposiciones subsecuentes (Zhao y Newman, 2006), en nuestro caso, ya que los tres factores son ampliamente variables, se hace difícil averiguar los efectos finales de las descargas de las ramblas sobre las comunidades afectadas del Mar Menor. Además, varios estudios de toxicidad han mostrado que con la misma duración de exposición, y suficiente tiempo de recuperación, múltiples exposiciones a pulsos resultan menos tóxicas que una exposición continua (ejem. Kallander *et al.*, 1997; Naddy y Klaine, 2001), pudiéndose además producir una tolerancia de la comunidad inducida por la contaminación crónica por metales (Millward y Grant, 1995).

4. Conclusiones

En conclusión, el presente trabajo examina la entrada a pulsos de residuos mineros en el Mar Menor durante eventos de lluvias torrenciales características de la región. El carácter torrencial de las lluvias y el hecho de que sean impredecibles y muy localizadas en el espacio significa que grandes diferencias puedan ocurrir en la cantidad de lluvia que cae en pocos kilómetros y por lo tanto en la cantidad de agua descargada entre ambas ramblas.

Aunque El Beal y Ponce son las ramblas estudiadas, otras ramblas y cursos difusos de agua en la zona pueden estar contribuyendo a la entrada de residuos mineros. La generación de drenajes ácidos mineros debido a la oxidación de los residuos, implica que junto con los metales en estado particulado gran cantidad de metales en estado disuelto sean descargados en la laguna. Los parámetros del agua de la laguna como la salinidad y el pH restablecen sus valores normales en cuestión de un par de días, provocando la precipitación de los metales disueltos; mientras que los metales particulados perduran más tiempo afectando a un área mayor, dependiendo de las condiciones climáticas de los días posteriores a las lluvias. Estas descargas de las ramblas provocan la aparición de toxicidad en las aguas lagunares afectando negativamente la salud del ecosistema. Aunque esta toxicidad de las aguas afecta a la cubeta sur de la laguna, su duración parece ser baja y depende, entre otros factores, de las condiciones climáticas y de la cantidad de lluvia caída. Puesto que la laguna costera es un sistema concentrador, los metales son retenidos en los sedimentos debido a las condiciones salinas y tamponadas de sus aguas y debido a la gran cantidad de metales en estado particulado que son descargados. Por lo tanto, esta entrada de residuos mineros y su acumulación en la laguna implica un riesgo para el ecosistema lagunar en general y en última instancia para la salud humana. Además de los grandes valores ecológicos del Mar Menor, reconocidos a través de distintas medidas de protección en los ámbitos regional, nacional e internacional, las aguas de la laguna proporcionan diversos usos socioeconómicos y actividades de recreo, por lo que es importante eliminar o mitigar la entrada de estos residuos mineros en la laguna a través de estrategias y planes de remediación que deben de desarrollar las autoridades competentes. Varios trabajos científicos se han centrado recientemente en acciones de remediación para disminuir la contaminación causada por residuos mineros (Akcil y Koldas, 2005; Johnson y Hallgerg, 2005). Un posible plan de remediación debería incluir la reducción de las pendientes de los pantanos con el fin de reducir su erosión, y el recubrimiento o encapsulamiento de los mismos con cal (óxido de calcio) con la finalidad de reducir su carácter ácido y minimizar su interacción con las lluvias y la atmósfera. Por otro lado, el dragado de los sedimentos contaminados de las ramblas parece ser necesario para acelerar la restauración de la zona. Finalmente, el recubrimiento de los lechos de las ramblas con calizas de manera que el agua de escorrentía sea tratada conforme fluye hacia la laguna reduciendo el impacto de las inundaciones en esta singular laguna costera.

5. Referencias bibliográficas

Achterberg, E.P., Herlz V.M.C., Braungardt, C.B., Millward, G.E., 2003. Metal behaviour in an estuary polluted by acid mine drainage: the role of particulate matter. *Environmental Pollution*, 121: 283-292.

Akcil, A., Koldas, S., 2005. Acid Mine Drainage (AMD): Causes, treatment and case studies. *Journal of Cleaner Production*, 14: 1139-1145.

Álvarez-Rogel, J., Ramos-Aparicio, M.J., Delgado-Iniesta, M.J., Arnaldos-Lozano, R. 2004. Metals in soils and above-ground biomass of plants from a salt marsh polluted by mine wastes in the coast of the Mar Menor lagoon, SE Spain. *Fresenius Environmental Bulletin*, 13: 274-278.

APHA (American Public Health Association). 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington, DC.

Braungardt, C.B., Achterberg, E.P., Elbaz-Poulichet, F., Morley, N.H. 2003. Metal geochemistry in mine-polluted estuarine system in Spain. *Applied Geochemistry*, 18: 1757-1771.

Baeyens, W., Elskens, M., Gillain, G., Goeyens, L., 1998a. Biogeochemical behaviour of Cd, Cu, Pb and Zn in the Scheldt estuary during the period 1981-1983. *Hydrobiologia*, 366: 15-44.

Baeyens, W., Parmentier, K., Goeyens, L., Ducastel, G., De Gieter, Leermakers, M., 1998b. Biogeochemical behaviour of Cd, Cu, Pb and Zn in the Scheldt estuary: results of the 1995 surveys. *Hydrobiologia*, 366: 45-62.

Campbell, P.G.C. 1995. Interactions between trace metals and aquatic organisms: a critique to the free ion activity model. En *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*, eds. A. Tessier & D.R. Turner, p. 45. John Wiley & Sons, Chichester.

Cesar, A., Marín, A., Marín-Guirao, L., Vita, R. 2004. Amphipod and sea urchin tests to assess the toxicity of Mediterranean sediments: the case of Portmán bay. *Scientia Marina*, 68: 205-213.

Cesar, A., Marín-Guirao, L., Vita, R., Marín, A. 2002. Sensitivity of Mediterranean amphipods and sea urchins to reference toxicants. *Ciencias Marinas*, 28: 407-417.

Chapman, P.M., Dexter, R.N., Long E.R., 1987. Synoptic measures of sediment contamination, toxicity and infaunal community composition (the Sediment Quality Triad) in San Francisco Bay. *Marine Ecology Progress Series*, 37: 75-93.

Cole, S., Codling, I.D., Parr, W., Zabel, T. 1999. Guidelines for managing water quality impacts within UK European marine sites. UK Marine SACs Project.

CREM. 2002. Anuario estadístico de la Región de Murcia. Consejería de Economía y Hacienda. Dirección General de Economía y Estadística. Centro Regional de Estadística de Murcia. Tomo 1, 633 pp.

De Leon A.R., Guerrero J., Faraco, F. 1982. Evolution of the pollution of the coastal lagoon of Mar Menor. *VI Journées Étud. Pollutions*, Cannes, C.I.E.S.M.

Fernández, N., Beiras, R. 2001. Combined toxicity of dissolved mercury with copper, lead and cadmium on embryogenesis and early larval growth of the *Paracentrotus lividus* sea-urchin. *Ecotoxicology*, 10: 263-271.

Foster, P., Hunt, D.T.E., Morris, A.W. 1978. Metals in an acid mine streams and estuary. *Science of the Total Environment*, 9: 75-86.

García, C., 2004. *Impacto y riesgo ambiental de los residuos minero-metalúrgicos de la Sierra de Cartagena-La Unión (Murcia-España)*. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, Spain.

García García, C., Manteca Martínez, J.I., Queralt Mitjans I. 2003b. Caracterización e inventario de los depósitos de residuos mineros en la Sierra de Cartagena (Murcia). En: Actas del IV Congreso Internacional sobre Patrimonio Geológico y Minero. p. 519-530. Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, Spain.

Gieré, R., Sidenko, N.V., Lazareva, E.V., 2003. The role of secondary minerals in controlling the migration of arsenic and metals from high-sulfide wastes (Berikul gold mine, Siberia). *Applied Geochemistry*, 18: 1347-1359.

Grande, J.A., Beltrán, R., Sainz, A., Santos, J.C., de la Torre, M.L. and Borrego, J. 2005. Acid mine drainage and acid rock drainage processes in the environment of Herrerías Mine (Iberian Pyrite Belt, Huelva-Spain) and impact on the Andevalo Dam. *Environmental Geology*, 47: 185-196.

Gulley, D.D., Boelter, A.M., Harold, L.B. 1991. TOXSTAT® Computer Program. Version 3.3. Univ. of Wyoming, Laramie.

Hatje, V., Payne, T.E., Hill, D.M., McOrist, G., Birch, G.F., Szymczak. 2003. Kinetics of trace element uptake and release by particles in estuarine waters: effects of pH, salinity and particle loading. *Environment International*, 29: 619-629.

His, E., Heyvang, I., Geffard, O., De Montaudouin, X. 1999. A comparison between oyster (*Crassostrea gigas*) and sea urchin (*Paracentrotus lividus*) larval bioassays for toxicological studies. *Water Research*, 33: 1706-1718.

Hochella Jr., M.F., Moore, J.N., Putnis, C.V., Putnis, A., Kasama, T., Eberl, D.D. 2005. Direct observation of heavy metal-mineral association from the Clark Fork River Superfund Complex: Implications for metal transport and bioavailability. *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 69: 1651-1663.

Jacob, D.L., Otte, M.L. 2004. Long-term effects of submerged and wetland vegetation on metals in a 90-year old abandoned Pb-Zn mine tailings pond. *Environmental Pollution* 130, 337-345.

Johnson, D.B. 2003. Chemical and microbiological characteristics of mineral spoils and drainage water at abandoned coal and metal mines. *Water Air Soil Pollution*, 3: 47-66.

Johnson, D.B. Hallberg, K.B. 2005. Acid mine drainage remediation options: a review. *Science of the Total Environment*, 338: 3-14.

Kallander, D.B., Fisher, S.W., Lydy, M.J. 1997. Recovery following pulsed exposure to organophosphorus and carbamate insecticides in the midge, *Chironomus riparius*. *Archives of Environmental Toxicology and Chemistry*, 33: 29-33.

Kobayashi, N., Okamura, H. 2004. Effects of heavy metals on sea urchin embryo development. 1. Tracing the cause by the effects. *Chemosphere*, 55: 1403-1412.

Kobayashi, N., Okamura, H. 2005. Effects of heavy metals on sea urchin embryo development. Part 2. Interactive toxic effects of heavy metals in synthetic mine effluents. *Chemosphere*, 61: 1198-1203.

Manfra, L., Accornero, A. 2005. Trace metal concentrations in coastal marine waters of the central Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 682-697.

Marguí, E., Salvadó, V., Queralt, I., Hidalgo, M. 2004. Comparison of three sequential extraction and toxicity characteristic leaching tests to evaluate metal mobility in mining wastes. *Analytica Chimica Acta*, 524: 151-159.

Marín-Guirao, L., Cesar, A., Marín, A., Lloret, J., Vita, R. 2005a. Establishing the ecological quality status of soft-bottom mining-impacted coastal water bodies in the scope of the Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 374-387.

Marín-Guirao, L., Marín, A., Lloret, J., Martínez, E., García, A.J. 2005b. Effects of mining wastes on a seagrass ecosystem: metal accumulation and bioavailability, seagrass dynamics and associated community structure. *Marine Environmental Research*, 60: 317-337.

Millward, G.E., Liu, Y.P. 2003. Modelling metal desorption kinetics in estuaries. *Science of the Total Environment*, 314-316: 613-623.

Millward, R.N., Grant, A. 1995. Assessing the impact of copper on nematode communities from a chronically metal-enriched estuary using pollution induced community tolerance. *Marine Pollution Bulletin*, 30: 701-706.

Naddy, R.B., Klaine, S.J. 2001. Effect of pulse frequency and interval on the toxicity of chlorpyrifos to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 41: 1511-1517.

Novelli, A.A., Losso, C., Ghetti, P.F., Ghirardini, A.V. 2003. Toxicity of heavy metals using sperm cell and embryo toxicity bioassays with *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea): comparisons with exposure concentrations in the lagoon of Venice, Italy. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22: 1295-1301.

Phillips, B.M., Nicely, P.A., Hunt, J.W., Anderson, R.S., Tjeerdema, R.S., Palmer, S.E., Palmer, F.H., Puckett, H.M. 2003. Toxicity of cadmium-copper-nickel-zinc mixtures to larval purple sea urchins (*Strongylocentrotus purpuratus*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70: 592-599.

Pohl, C., Hennings, U., Siegel H., Bachor, A. 2002. Trace metal impact into the Baltic Sea during the exceptional Oder flood in summer 1997. *Marine Chemistry*, 79: 101-111.

Rodriguez, C., Guerrero, J., García, I.M., Jornet, A. 2001 Estudio piloto sobre niveles y efectos del Tributilo de estaño (TBT) y metales pesados en el Mar Menor. Convenio de colaboración entre la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, de la Región de Murcia y el Instituto Español de Oceanografía.

Sainz, A., Grande, J.A., de la Torre, M.L. 2003. Odiel River, acid mine drainage and current characterization by means of univariate analysis. *Environment International*, 29: 51-59.

Sainz, A., Grande, J.A., de la Torre, M.L. 2004. Characterization of heavy metal discharge into the Ria of Huelva. *Environment International*, 30: 557-566.

Simoneau J., 1973. *Mar Menor; Evolution Sedimentologique et Geochimique recente du remplissage*. These présenté à l'Université Paul Sebatier de Toulouse (Sciences). France.

Tiwary, R.K. 2001. Environmental impact of coal mining on water regime and its management. *Water, Air and Soil Pollution*, 132: 185-199.

Turner, A. 2003. Salting out chemicals in estuaries: implications for contaminant partitioning and modelling. *Science of the Total Environment*, 314-316: 599-612.

USEPA, 2002. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms. EPA-821-R-02-014. Washington, DC 20460.

Warnau, M, Iaccarino, M, De Biase, A, Temara, A, Jangoux, M, Dubois, P, Pagano, G. 1996. Spermioxicity and embriotoxicity of heavy metals in the echinod *Paracentrotus lividus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15: 1931-1936.

Zhao, Y., Newman, M.C. 2006. Effects of exposure duration and recovery time during pulsed exposures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 1298-1304.

Capítulo II

**Valoración de la contaminación por metales en los
sedimentos de la laguna costera del Mar Menor:
distribución de metales, toxicidad y estructura de
las comunidades bentónicas**

Capítulo II. Valoración de la contaminación por metales en los sedimentos de la laguna costera del Mar Menor: distribución de metales, toxicidad y estructura de las comunidades bentónicas.

1. Introducción

Las lagunas costeras y los estuarios son sistemas con características físico-químicas únicas debido a los fuertes gradientes de salinidad, temperatura, pH, oxígeno disuelto, potencial redox, características químicas de los sedimentos y composición de especies. Por otra parte, estos sistemas pueden ser considerados fundamentalmente como receptores de sedimentos, actuando como una trampa para los materiales que llegarán al medio marino. No sólo van a retener los sedimentos procedentes de tierra, sino que estos sedimentos actúan también como filtro y sumidero para muchos contaminantes, de manera que pueden a su vez actuar como fuente que los transmita a los organismos marinos (Ingersol, 1995). Debido a la singularidad de estos sistemas acuáticos, los métodos de valoración ambiental específicos para sedimentos de lagunas o estuarios como los bioensayos de toxicidad, son escasos y relativamente nuevos, ya que las técnicas marinas y de agua dulce no son generalmente aplicables en estos sistemas. Las lagunas costeras suelen tener un bajo número de especies y una baja diversidad comparadas con aguas continentales o marinas, y es por esta razón que los análisis tradicionales de las comunidades pueden ser difíciles de interpretar en estos ambientes estresados de forma natural. En este sentido, se ha comprobado que el estrés ecológico es determinado de forma más fiable empleando métodos y técnicas multivariantes (Chapman y Wang, 2001).

El área de estudio está localizada en el Mar Menor (SE España), una de las lagunas costeras más grandes de Europa y del mar Mediterráneo. Esta laguna hipersalina es relativamente somera con una profundidad media de 3,5 m y una profundidad máxima de 6 m. La laguna está delimitada por La Manga, una barra arenosa de 22 km de largo que se encuentra atravesada por cinco canales o golos que regulan el intercambio de agua con el mar Mediterráneo. La laguna tiene una salinidad entre 42 y 47 ups debido a un régimen hídrico deficitario con tasas de evaporación que superan la entrada de agua dulce a través de las ramblas. A pesar de su alta salinidad la laguna contiene especies típicamente marinas adaptadas a este rango de salinidad.

El clima semiárido del sudeste ibérico propicia que las ramblas permanezcan secas durante varios años, alcanzando las aguas dulces la laguna sólo cuando ocurren lluvias torrenciales. Durante varias décadas las ramblas de El Beal y Ponce han transportado a la laguna estériles mineros procedentes de las antiguas minas de la Sierra de Cartagena situada al sur de la laguna. Estas actividades mineras fueron de las más significativas en España hace un par de siglos. Aunque toda la actividad minera cesó en 1991, en la actualidad las ramblas siguen transportando los estériles de la minería ricos en metales

durante los episodios de lluvias torrenciales. Los estériles mineros presentan uno de los tipos de contaminación ambiental más persistentes, pudiendo los metales en ellos contenidos liberarse y lixiviarse durante varios cientos de años tras el cese de la actividad minera (Gundersen *et al.*, 2001). Estudios previos realizados en la zona indican que Zn, Pb y Cd son los principales metales que permanecen en la laguna, procedentes de las actividades mineras (Simoneau, 1973; De Leon *et al.*, 1982).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la calidad ambiental de los fondos de la cubeta sur de la laguna del Mar Menor. Para ello se analizaron las concentraciones de metales (Zn, Pb, Cu y Cd) en los sedimentos de la cubeta sur de la laguna. La biodisponibilidad de dicho metales fue analizada por medio de distintas aproximaciones: (i) pruebas de toxicidad empleando tres especies de erizos marinos, *Arbacia lixula*, *Paracentrotus lividus* y *Sphaerechinus granularis* y dos especies de anfipodos, el excavador *Microdeutopus gryllotalpa* y *Siphonocetes sabatieri* empleado por primera vez en bioensayos de toxicidad; (ii) medidas de acumulación de metales en diferentes fracciones (hojas, tallos y raíces) y en el biofilm de las hojas de la fanerógama marina *Cymodocea nodosa*; (iii) análisis fisicoquímicos midiendo los sulfuros ácidos volátiles y los metales extraídos de forma simultánea. Finalmente, con el fin de determinar si los residuos mineros contenidos en los sedimentos de la laguna afectaban a la estructura y composición de las comunidades bentónicas, se emplearon descriptores clásicos como los índices de riqueza (Margalef), diversidad (Shannon-Wiener), equitatividad (Pielou) y dominancia (Simpson); junto con análisis multivariantes (Cluster, MDS).

2. Material y Métodos

2.1. Área de estudio y estaciones de muestreo

Las estaciones de muestreo fueron seleccionadas en la cubeta sur de la laguna, con salinidad y grado de confinamiento similares, con el propósito de minimizar cualquier posible diferencia en la estructura y composición entre poblaciones debido a gradientes naturales característicos de las lagunas costeras. La localización de los puntos de muestreo y las estaciones se muestran en la figura 1. La estación UR (Los Urrutias) recibe entradas difusas durante los episodios de lluvias y se encuentra influenciada por la rambla de Miranda localizada varios cientos de metros al norte. La estación BW (Beal wadi) se encuentra localizada en la desembocadura de la rambla del Beal, históricamente utilizada para descargar los estériles mineros y debido a la existencia de gran cantidad de residuos mineros en su cabecera, gran cantidad de metales son introducidos en la laguna durante las lluvias torrenciales. La estación de la rambla de Ponce (PW) situada en la desembocadura de la rambla de la que recibe el nombre, más corta que la del Beal, canaliza el agua de lluvia de zonas mineras donde existen antiguos restos mineros. La estación PH (Playa Honda) está situada cerca de un área urbanizada y de unas salinas, a una distancia

intermedia entre las estaciones de las ramblas y las estaciones más alejadas situadas en el entorno de la Isla del Ciervo (CI y CII), que se encuentra localizada en la cubeta sur de la laguna y lejos de la influencia de las ramblas. La estación del lado sur de la Isla del Ciervo (CII) fue muestreada únicamente para las medidas de fauna. Para las pruebas de toxicidad con anfipodos seleccionamos una estación de referencia adicional en el canal de las Encañizadas, donde el anfipodo *Microdeutopus gryllotalpa* era abundante. El canal de las Encañizadas, que permite la comunicación de las aguas de la laguna con el mar Mediterráneo, presenta características muy diferentes al resto de puntos seleccionados en la cubeta sur, por lo tanto la estructura de sus comunidades bentónicas no fue estudiada.

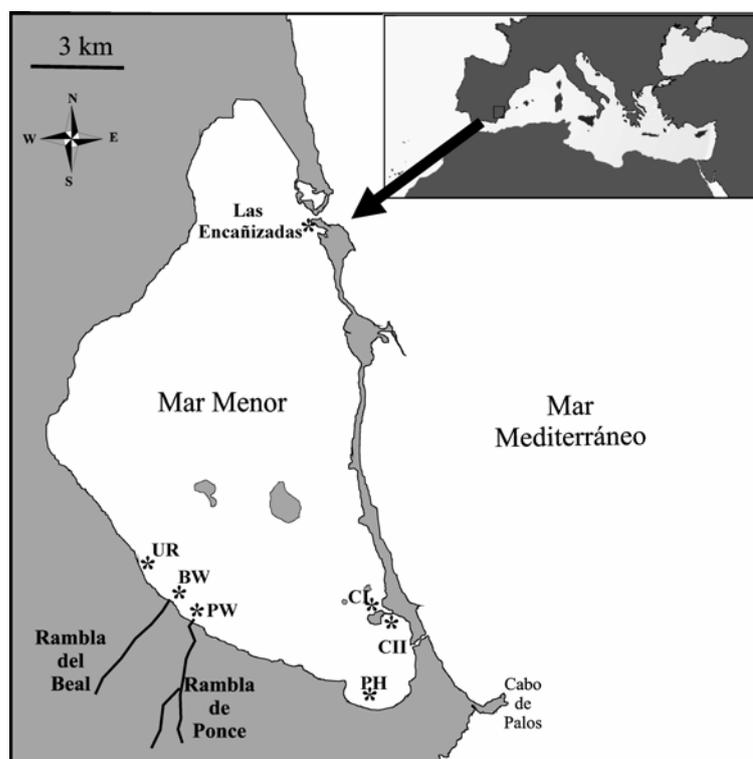


Figura 1.- Mapa del área de estudio y localización de las estaciones de muestreo.

2.2. Recogida de sedimentos, plantas y organismos

Las muestras de sedimento fueron recogidas con una draga de mano, tomando los 5 cm superficiales y almacenándolas en botes de polietileno de 0,5 L. Las muestras de *Cymodocea nodosa* fueron recogidas por buceadores, para ello se recolectaron plantas enteras y los 5 cm superficiales de sedimento en las estaciones BW, PW, CI y CII donde se encontró la fanerógama. Antes de la recogida de muestras y entre usos, todos los recipientes fueron lavados con ácido (10% HNO₃). Las muestras fueron refrigeradas durante su transporte al laboratorio, donde fueron almacenadas en la oscuridad a 4°C, y subdivididas para los análisis químicos y la caracterización toxicológica. Las muestras de sedimento

fueron homogeneizadas y tamizadas antes de emplearlas en las pruebas de toxicidad, con el fin de descartar grandes restos vegetales o potenciales depredadores. Las muestras de fauna bentónica fueron recolectadas con una draga de mano de 0,09 m², tomando los 5 cm superficiales del sedimento (n=4). Para facilitar la separación de los invertebrados las muestras fueron tamizadas con una malla 0,5 mm de luz y fijadas con formaldehído tamponado al 10%. Los erizos adultos de las especies *A. lixula*, *P. lividus* y *S. granularis* fueron recogidos buceando en un área no contaminada del Mediterráneo lejos de la laguna (Isla del Fraile, Águilas). En el laboratorio los erizos eran mantenidos en acuarios alimentados con algas hasta su utilización. Los anfípodos *M. gryllotalpa* y *S. sabatieri* fueron recolectados en Las Encañizadas y la Isla del Ciervo, respectivamente, dos áreas localizadas dentro de la laguna y seleccionadas como referencias para los bioensayos con anfípodos. Los organismos fueron transportados en contenedores de polietileno junto con sedimento y agua del lugar de recolección. Antes de las pruebas de toxicidad los organismos fueron aclimatados a las condiciones de las mismas.

2.3. Bioensayos de Toxicidad

Los pruebas de toxicidad de desarrollo embrio-larval empleando larvas de erizos marinos se desarrollaron siguiendo la metodología estandarizada y las recomendaciones U.S. EPA (1995). El erizo *A. lixula* fue inducido a la liberación de los gametos mediante un estímulo eléctrico tocando la piel con dos electrodos conectados a un transformador de 35 V (aproximadamente 10 segundos cada vez). En el caso de las especies *Paracentrotus lividus* y *Sphaerochinus granularis* la liberación de gametos fue estimulada con una inyección de 5 ml de KCl 0,5 M a través de la membrana peristómica dentro de la cavidad celómica. Se utilizaron cuatro réplicas por tratamiento y aproximadamente 400 huevos fertilizados eran introducidos en cada réplica. Los experimentos fueron realizados en una cámara de incubación (ASL-Snijders) con temperatura constante de 20 ± 0,5 °C y un fotoperíodo de 16-h/:8-h luz:oscuridad. Los bioensayos finalizaban cuando los embriones de los tubos control alcanzaban la etapa larval de pluteus con los cuatro brazos totalmente desarrollados, fijando en ese momento cada tubo con formaldehído tamponado. Los 100 primeros embriones sacados de cada tubo eran examinados utilizando un microscopio óptico para cuantificar los embriones con desarrollo normal o anormal. Se realizaron bioensayos con sustancias de referencia para valorar la sensibilidad de cada lote de organismos empleando sodio dodecil sulfato (C₁₂H₂₅NaSO₄). Al inicio y final de cada ensayo se medían la temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, pH y amonio para como control de calidad de los ensayos. Los bioensayos, de interfase agua-sedimento, se realizaron en tubos de ensayo de poliestireno de 15 ml, introduciendo 2 ml de sedimento con una jeringuilla y 8 ml de agua control siguiendo el procedimiento descrito por Cesar *et al.* (2003). Los tubos se dejaron reposar durante toda la noche para permitir la deposición de sedimento

resuspendido y se colocaba una malla (0,45 μm) en la interfase entre el agua y el sedimento. Se utilizaron sedimentos de control que consistían en arena comercial químicamente pura (PANREAC 211160).

Los ensayos de 10 días con los anfipodos *M. gryllotalpa* y *S. sabatieri* fueron realizados siguiendo los protocolos descritos en el manual de toxicidad U.S. EPA (1994). Las cámaras de incubación consistían en recipientes de polietileno de 1 L en las que se introducían 10 anfipodos seleccionados al azar. Se utilizaron cinco réplicas por cada tratamiento. Una vez finalizado el período de exposición a $20 \pm 0,5$ °C, los anfipodos eran tamizados y transferidos a otro recipiente con sedimento control para comprobar si los animales eran capaces de enterrarse de nuevo. Las medidas finales obtenidas eran mortalidad y efectos subletales como incapacidad para enterrarse e inmovilidad. Los parámetros como la temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, pH y amonio al inicio y al final de cada ensayo se determinaron como control de calidad de las pruebas. Durante el desarrollo de los ensayos de toxicidad con sedimento se realizaron bioensayos de 48 h con agua de referencia utilizando la sustancia de referencia sodio dodecil sulfato (SDS) para evaluar el estado de salud de los anfipodos.

2.4. Bioacumulación

Con el fin de determinar si los metales de los sedimentos se encontraban biodisponibles para las plantas acuáticas, analizamos las concentraciones de metales en la fanerógama marina *C. nodosa*. Las muestras vegetales se transportaron con hielo al laboratorio en bolsas de polietileno. En el laboratorio, las hojas eran raspadas con un portaobjetos de cristal para separar el material particulado, las sustancias poliméricas extracelulares y los epibiontes que forman el biofilm sobre la superficie de las hojas. En el resto de tejidos de la planta, el material particulado adherido y los sedimentos fueron separados frotando los tejidos con un cepillo de dientes blando, posteriormente los tejidos eran lavados con ácido nítrico ultrapuro (aproximadamente al 2%) y enjuagados con agua destilada. Las plantas fueron divididas en las siguientes fracciones: raíces, tallos y hojas. Cada muestra era secada a 60°C hasta alcanzar un peso constante. Antes de la digestión, las muestras de tejidos eran pulverizadas en un mortero de porcelana y homogeneizadas. Las digestiones se realizaron por triplicado. Aproximadamente 0,2 g de muestra eran digeridos, añadiendo 1 mL de una mezcla de ácidos nítrico, perclórico y sulfúrico (8:8:1). Las muestras eran digeridas en caliente con incrementos de temperatura hasta los 380°C hasta la evaporación total, entonces eran rediluidas con agua desionizada en un baño de ultrasonidos y acidificadas con ácido clorhídrico suprapuro. Las concentraciones de Zn, Pb y Cd eran analizadas polarográficamente con un voltamperímetro de gota de mercurio (Metrohm 646 VA Processor). Los procedimientos para asegurar la calidad de los análisis incluían el uso de material de referencia certificado NIST 1577b. Para los metales seleccionados el porcentaje de recuperación fue mayor del 90%.

2.5. Análisis físico-químicos

Las medidas de la salinidad del agua intersticial fueron realizadas utilizando una sonda multiparamétrica (WTW, MultiLine P4) una vez extraída el agua intersticial del sedimento por centrifugación. La granulometría del sedimento era determinada tamizando el sedimento a través de una serie de tamices dentro del rango 2000-62 μm (Buchanan, 1984). El contenido en materia orgánica era determinado como el porcentaje de pérdida de peso del sedimento seco al introducirlos en un horno 6 h a 450 °C. El sedimento seco era tamizado a través de una malla 63 μm para determinar el carbono orgánico total (TOC) con un analizador elemental Carlo Erba Instruments (EA1108) después de un tratamiento de la muestra con HCl 1 N para eliminar los carbonatos (Verdardo *et al.*, 1990). Las muestras de sedimento, para la determinación simultánea de los sulfuros volátiles ácidos (AVS) y los metales (SEM), fueron congeladas sin aire para minimizar la oxidación de los sulfuros. Las muestras de sedimento (n=4) eran analizadas para AVS utilizando un destilador con ácido según la técnica descrita en detalle por Allen *et al.* (1993). Los sulfuros de los sedimentos eran transformados en sulfuro de hidrógeno al añadir ácido hidroclicórico 6 M al recipiente de reacción. El sulfuro de hidrógeno era purgado con nitrógeno y atrapado en una solución NaOH 2 M. La cantidad de sulfuro fue determinada con la ayuda de un electrodo de ión selectivo plata/sulfuro (ThermoOrion, model 9616). El líquido ácido que permanecía en el recipiente de reacción era inmediatamente filtrado y las concentraciones Zn, Pb y Cd eran determinadas por voltametría anódica con ánodo de gota de mercurio (Metrohm 646 VA Processor). Esta fracción SEM es la más apropiada para evaluar las interacciones metal/AVS en los sedimentos (Allen *et al.*, 1993).

2.6. Análisis de las comunidades bentónicas

Los macroinvertebrados fueron separados del sedimento con la ayuda de una lupa binocular. Los invertebrados una vez separados fueron clasificados y preservados en alcohol al 70%. Las identificaciones taxonómicas se realizaron al nivel más bajo posible. La estructura de las comunidades bentónicas fue analizada en términos de composición de especies y abundancia, diversidad y equitatividad. Se calcularon los siguiente parámetros descriptivos para cada muestra (n=4) y resumida para cada estación: abundancia total, riqueza de especies (Índice de Margalef, S), diversidad de Shannon-Wiener (\log_2 , H), equitatividad (Índice de Pielou, J) y el índice de dominancia de Simpson (D). La contribución numérica de los mayores grupos taxonómicos (Poliquetos, Moluscos y Crustáceos) fue calculada como la proporción de abundancia de un taxón entre la abundancia total de la muestra y la estación; las proporciones medias fueron también determinadas y expresadas como porcentajes.

2.7. Análisis de los datos

Los datos de los ensayos de toxicidad, expresados como porcentaje de supervivencia de anfipodos y larvas de erizos normalmente desarrolladas, eran analizadas utilizando el programa estadístico Toxstat® V.3.3 (Gulley *et al.*, 1991). Los resultados de los ensayos de erizos eran transformados aplicando el arc seno de la raíz cuadrada antes del análisis estadístico. Los datos eran analizados para comprobar su normalidad y homogeneidad de la varianza con los tests de Shapiro-Wilk y Hartley respectivamente. Una vez que los datos pasaban los mencionados tests, eran posteriormente sometidos a un test de Dunnet (ANOVA, $p < 0,05$). Los valores $EC(50)_{48h}$ para los ensayos de sensibilidad con anfipodos eran calculados con el programa estadístico Trimmed Spearman-Kärmbler, aplicando la corrección de Abbott (Hamilton *et al.*, 1977). Los valores $IC(50)$ para los ensayos con erizos con sustancia de referencia fueron estimado con el método IC_p (U.S.EPA, 1993). Los datos de bioacumulación en la planta fueron transformados con el logaritmo y posteriormente sometidos al test de Dunnet (ANOVA, $p < 0,05$) para determinar diferencias en la acumulación de metales entre estaciones.

Los resultados de las pruebas de toxicidad con el anfípodo *S. sabatieri* fueron correlacionadas a través de un análisis de correlaciones de Spearman con los datos de abundancia del mismo anfípodo encontrados en las estaciones de muestreo. Los análisis descriptivos y los análisis multivariantes aplicados a la fauna de invertebrados fueron realizados utilizando el programa estadístico PRIMER (Plymouth Routines In Multivariate Ecological Research, v5) (Clarke y Gorley, 2001; Clarke y Warwick, 2001). Con el propósito de investigar similitudes faunísticas entre estaciones se utilizó una técnica de ordenación multivariante no paramétrica (MDS) basada en la matriz de datos originales a las que se había calculado el índice de similitud de Bray-Curtis (Clarke, 1993). Las matrices de similitud de Bray-Curtis eran obtenidas de los datos originales a los que se había aplicado una transformación raíz cuarta. El MDS fue empleado para producir una ordenación en dos dimensiones de las estaciones de estudio. Las asociaciones entre variables ambientales y los patrones de la composición multivariante de la comunidad fueron exploradas utilizando el procedimiento BIOENV (Sommerfield *et al.*, 1994), el cual busca exhaustivamente la combinación de variables ambientales que produce la matriz de similaridad más altamente correlacionada a la matriz de similaridad de los sitios basados en la biota. Dichas matrices de similaridad ambientales fueron calculadas utilizando distancias Euclídeas normalizadas y las correlaciones fueron calculadas empleando el coeficiente de correlación armónico de Spearman.

Las relaciones multivariantes entre los parámetros físico-químicos del sedimento fueron evaluadas utilizando un análisis de componentes principales (PCA). Las asociaciones era evaluadas entre las ocho variables físico-químicas del sedimento (fracción de finos, materia orgánica, contenido de carbono orgánico y concentraciones de zinc, plomo, cobre,

cadmio y sulfuros volátiles ácidos). Se utilizó un componente de corte de 0,40 para seleccionar las variables para la inclusión en factores basándose en las recomendaciones de Tabachnick y Fidell (1996).

3. Resultados

3.1. Toxicidad

Erizos. Los bioensayos de toxicidad con erizos presentaron resultados similares entre las tres especies de erizos empleadas (figura 2). Todas las estaciones, excepto la estación CI para *S. granularis*, presentaron diferencias significativas (Test de Dunnet, $p < 0,05$) con respecto a la estación de referencia. Estos resultados indican que hay elementos tóxicos que se transfieren de los sedimentos a la columna de agua afectando negativamente a los embriones de erizos. Generalmente *S. granularis* era la especie que presentaba mayor porcentaje de larvas pluteus normalmente desarrolladas en cada estación. La IC_{50} para *A. lixula*, *P. lividus* y *S. granularis* en los tests de toxicidad con SDS fueron de $1,63 \text{ mg L}^{-1}$ ($\pm \text{DE } 0,23$), $1,71 \text{ mg L}^{-1}$ ($\pm \text{DE } 0,28$) y $1,87 \text{ mg L}^{-1}$ ($\pm \text{DE } 0,01$) respectivamente, concentraciones similares a las encontradas por Cesar *et al.*, (2002).

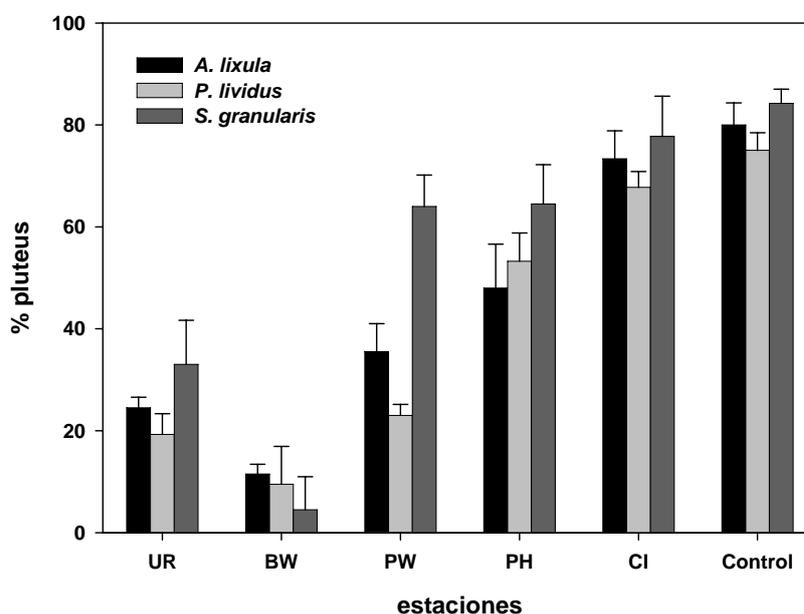


Figura 2.- Porcentaje de larvas pluteus normalmente desarrolladas (% pluteus) de las especies de erizos de mar *Arbacia lixula*, *Paracentrotus lividus* y *Sphaerechinus granularis* en los pruebas de toxicidad con la interfase agua-sedimento.

Anfipodos. Los bioensayos con ambas especies de anfipodos con sedimento presentaron patrones de toxicidad similares entre ellos y a los observados con los bioensayos con larvas de erizos (figura 3). Todas las estaciones, excepto la Isla del Ciervo

(CI), presentaban diferencias significativas con respecto a la estación de referencia (Test de Dunnet, $p < 0.05$). Para *M. gryllotalpa* el porcentaje medio de mortalidad durante los 10 días de duración de la prueba oscilaba entre el 2-8% en las estaciones CI y de referencia, y el 46-54% en las estaciones PW y BW (figura 3). El máximo porcentaje de mortalidad para el anfípodo *S. sabatieri* fue registrado en la estación BW (88%). EL valor medio para la concentración de efecto (EC_{50}) en las pruebas empleando SDS fue de $2,98 \text{ mg L}^{-1}$ ($\pm \text{DE } 0,26$) para *M. gryllotalpa*, similares a los obtenidos por otros autores (Cesar *et al.*, 2000; Cesar *et al.*, 2002) y a los obtenidos con *S. sabatieri*, el cual mostró EC_{50} medio de $3,10 \text{ mg L}^{-1}$ ($\pm \text{DE } 0,09$).

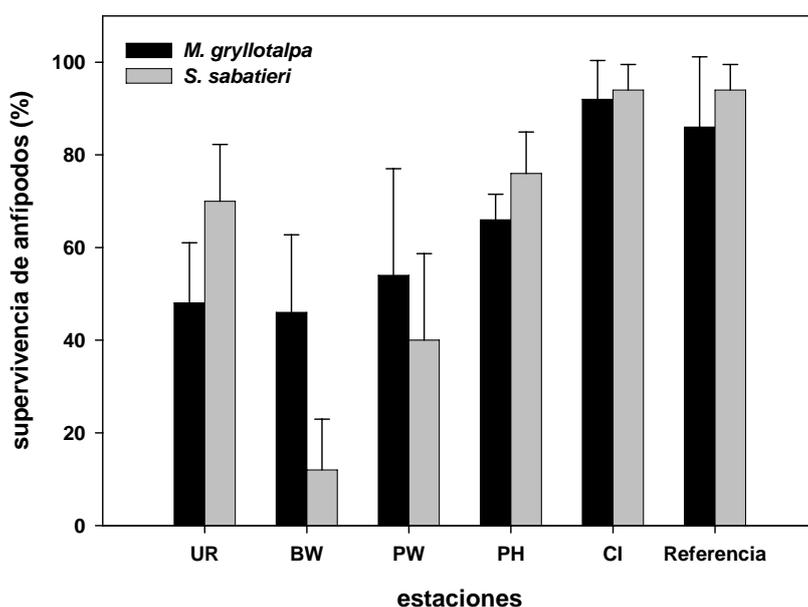


Figura 3.- Porcentaje de supervivencia de los anfípodos *Microdeutopus gryllotalpa* y *Siphonoecetes sabatieri* en los ensayos de toxicidad con sedimentos. Las estaciones de referencia corresponden con los sitios de recolección de los anfípodos.

3.2. Bioacumulación

Las plantas de *C. nodosa* recogidas del Mar Menor contenían Zn, Pb y Cd indicando la biodisponibilidad de los mismos para plantas acuáticas. Las concentraciones de metales en raíces, tallos, hojas y en el biofilm de las hojas, están representadas junto con las concentraciones totales en los sedimentos en la figura 4. Las concentraciones de metales en cada fracción de la planta presentaron diferencias significativas (test de Dunnet, $p < 0,05$) entre las estaciones muestreadas. Las estaciones BW y PW, localizadas en la desembocadura de ambas ramblas, presentaron los mayores contenidos de metales en sedimentos y en las fracciones de la planta analizadas, siendo BW la estación que presentó los mayores valores. Ambas estaciones de referencia (CI y CII) presentaron concentraciones de metales similares en cada fracción de planta analizada. A excepción de la estación BW,

donde la concentración de plomo fue mayor en las raíces que en los sedimentos, las concentraciones de metales determinadas en los sedimentos fueron mayores que en las fracciones de la planta (hojas, tallos y raíces) para los tres metales analizados. La mayor concentraciones de metales en las plantas de las estaciones contaminadas fue encontrada en el biofilm de las hojas (3913 ± 326 mg Zn/g p.s. y 1568 ± 191 mg Pb/g p.s. para la estación BW, y 12489 ± 2592 ng Cd/g p.s. en la estación PW), posiblemente debido a su habilidad para formar complejos entre los metales y los polímeros extracelulares que forman el biofilm. Para los tres metales estudiados se observaron patrones diferentes en las concentraciones de metales entre ambas estaciones de las ramblas (BW y PW); el mayor contenido en metales de la planta fue encontrado en las raíces de la estación BW, mientras que en la estación PW éste correspondía a las hojas. La concentración de metales en los tallos fue menor que en hojas y raíces para todas las estaciones y metales investigados.

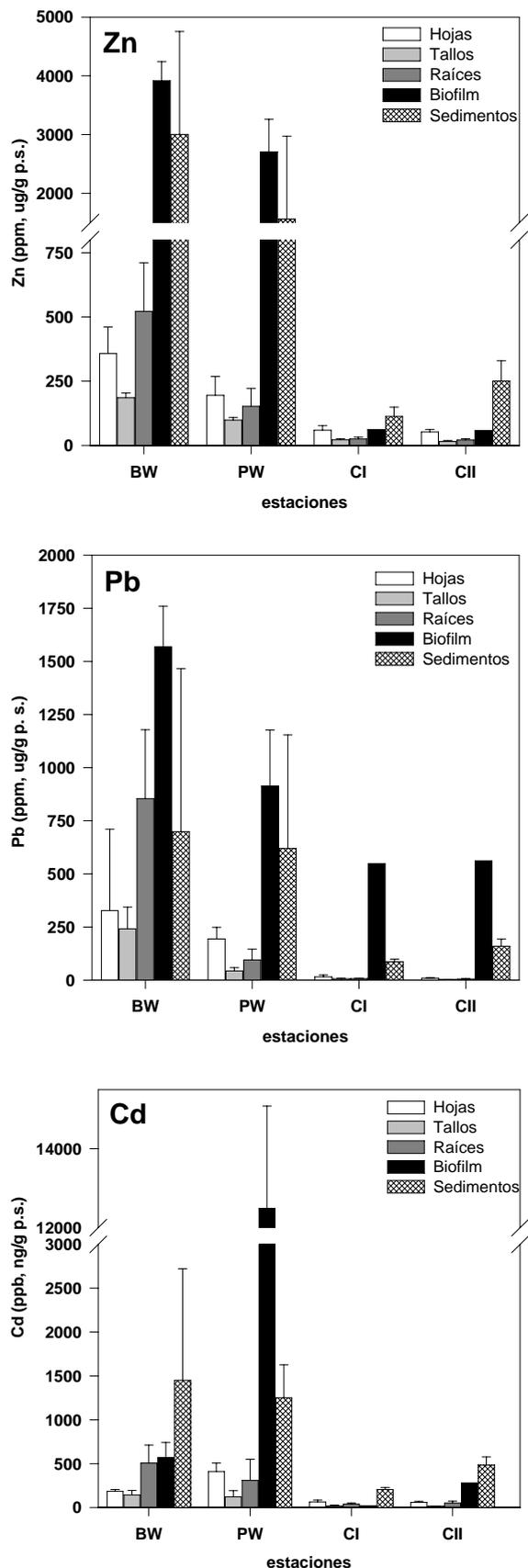


Figura 4. Concentración de Zn, Pb y Cd en diferentes fracciones de *Cymodocea nodosa* (raíces, tallos, hojas y biofilm de las hojas) y concentración total en sedimentos.

3.3. Análisis físico-químicos

Los análisis de granulometría mostraron que los sedimentos estaban principalmente compuestos por arenas finas (Tabla 1). La estación BW localizada en la desembocadura de la rambla del Beal presentó los contenidos más altos en limos y arcillas (10,5%), porcentaje similar a la estación CII (8,4%).

La materia orgánica varió entre 2,23 y 8,17 % del sedimento seco en las estaciones PH y BW, respectivamente. La estación BW exhibió a su vez el contenido en carbono orgánico más alto, siendo a su vez la estación que presentó los mayores niveles de metales en los sedimentos medidos de forma simultánea a los sulfuros. Sin embargo, la mayor concentración de sulfuros fue obtenida en la estación PW. La relación SEM-AVS fue positiva en PH, UR, PW y BW, siendo mayor en la última estación. Las estaciones CI, CII y la estación de referencia presentaron valores negativos.

La aplicación del análisis PCA a las variables del sedimento identificó tres nuevas variables o factores principales que explicaban el 90,7% de la varianza en los datos originales. La primera variable, PC1, fue la predominante abarcando el 47,5% de la varianza. Este factor combinó las concentraciones de Zn, Pb, materia orgánica y el contenido en limos-arcillas del sedimento. La segunda variable, PC2, abarcó el 29,4% de la varianza y combinaba las concentraciones de Cu y Cd extraídos de forma simultánea a los sulfuros. La tercera variable, PC3, abarcó el 13,8% de la varianza y era una combinación de sulfuros volátiles ácidos y el contenido en carbón orgánico.

Tabla 1. Resumen de los análisis físico-químicos del sedimento: salinidad del agua intersticial (ups), porcentaje de limos y arcillas (< 63µm), porcentaje de materia orgánica (OM), porcentaje de carbono orgánico total (TOC), concentración de metales simultáneamente extraídos a los sulfuros (Zn, Pb, Cu y Cd), los metales simultáneos totales (SEM), contenido en sulfuros ácidos volátiles (AVS) y la diferencia molar SEM-AVS (concentraciones en µmol/g sedimento seco).

| Parámetros físico-químicos del sedimento | UR | BW | PW | PH | CI | CII | Referencia (Encañizadas) |
|---|--------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------------------------|
| Salinidad agua intersticial (ups) | 46,2 ± 0,5 | 46 ± 0,7 | 45,4 ± 0,9 | 46,2 ± 0,5 | 45,5 ± 0,7 | 46 ± 0,3 | 43 ± 1,2 |
| < 63 µm (%) | 0,4 ± 0,19 | 10,5 ± 5,29 | 0,6 ± 0,10 | 0,2 ± 0,12 | 0,16 ± 0,02 | 8,4 ± 0,57 | 3,8 ± 0,09 |
| OM (%) | 3,08 ± 0,17 | 8,17 ± 0,32 | 2,43 ± 0,41 | 2,23 ± 0,08 | 3,17 ± 0,14 | 3,05 ± 0,03 | 4,99 ± 0,19 |
| TOC (%) | 0,85 ± 0,03 | 1,60 ± 0,24 | 1,38 ± 0,05 | 0,90 ± 0,01 | 1,16 ± 0,08 | 1,29 ± 0,61 | 1,51 ± 0,07 |
| Zn | 6,37 ± 1,09 | 62,07 ± 4,36 | 4,12 ± 0,43 | 0,81 ± 0,02 | 1,14 ± 0,14 | 0,97 ± 0,23 | 0,01 ± 0,004 |
| Pb | 6,62 ± 0,21 | 45,98 ± 13,1 | 1,25 ± 0,15 | 1,21 ± 0,09 | 0,29 ± 0,01 | 0,25 ± 0,04 | 0,007 ± 0,002 |
| Cu | 0,06 ± 0,02 | 0,55 ± 0,02 | 0,18 ± 0,02 | 0,02 ± 0,003 | 0,02 ± 0,004 | 0,03 ± 0,01 | 0,15 ± 0,06 |
| Cd | 0,01 ± 0,001 | 0,02 ± 0,01 | 0,005 ± 0,001 | 0,002 ± 0,0 | 0,003 ± 0,001 | 0,004 ± 0,001 | 0,005 ± 0,0 |
| SEM | 13,04 ± 1,02 | 108,62 ± 4,36 | 5,56 ± 0,51 | 2,04 ± 0,10 | 1,46 ± 0,14 | 1,26 ± 0,27 | 0,17 ± 0,01 |
| AVS | 1,48 ± 0,67 | 2,44 ± 2,72 | 5,46 ± 1,10 | 0,50 ± 0,03 | 1,47 ± 0,33 | 2,83 ± 0,97 | 0,55 ± 0,03 |
| SEM-AVS | 11,57 ± 0,80 | 106,18 ± 5,18 | 0,10 ± 0,08 | 1,54 ± 0,14 | -0,02 ± 0,02 | -1,58 ± 0,78 | -0,38 ± 0,54 |

El gráfico en dos dimensiones del PCA está representado en la figura 5, con las estaciones ordenadas a lo largo del primer eje según las concentraciones de zinc y plomo, la materia orgánica y el contenido en finos. Todas las muestras de la estación BW presentaron valores de PC1 más grandes de 3,5 los que indicó que se encontraban severamente contaminadas con zinc y plomo, y que a su vez presentaban un alto contenido en sedimentos finos y materia orgánica.

Las estaciones CI y CII presentaban valores de PC1 y PC2 cercanos a 0, señalando niveles de metales bajos o moderados. Sin embargo, las estaciones BW, PW y UR, con puntuaciones PC2 entre 1 y 2 tenían niveles moderados de cobre y cadmio. Los resultados del análisis PCA estaban en correspondencia con los obtenidos en la ordenación del análisis MDS.

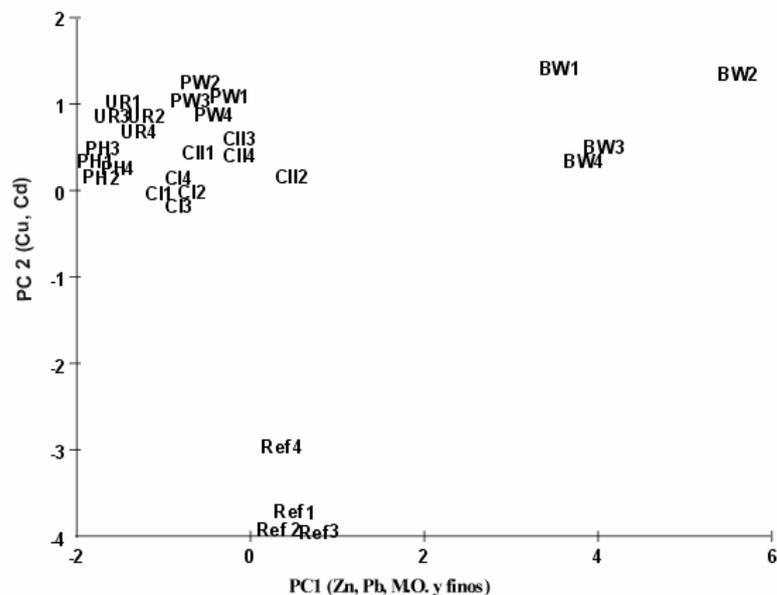


Figura 5. Gráfico de Análisis de Componentes Principales (PCA) para las estaciones UR, BW, PW, PH, CI, CII y Ref (Las Encañizadas); 1, 2, 3 y 4 indican el número de réplicas en cada estación.

3.4. Análisis de las comunidades bentónicas

Los resultados de los análisis descriptivos están presentados en la Tabla 2, junto con la contribución numérica de los mayores grupos taxonómicos. Los poliquetos constituyeron el grupo taxonómico dominante en las estaciones próximas a las ramblas (BW y PW) mientras que en las estaciones más alejadas (CI, CII y PH) los crustáceos fueron los predominantes. La especie más abundante fue el anfípodo *Siphonoctes sabatieri*, seguido de los poliquetos miembros de la familia Cirratulidae, los bivalvos *Cerastoderma edule* y *Mytilaster minimus*, y el isópodo *Cymodoce truncata*. En general todas las muestras del Mar Menor contenían un bajo número de especies presentando una baja diversidad. Las

estaciones CI y CII exhibían el número más alto de especies, aunque la estación CI presentaba los valores de diversidad y equitatividad más bajos y la más alta dominancia debido a la alta densidad del anfípodo *S. sabatieri*.

Tabla 2. Valores medios de diferentes parámetros descriptores de la comunidad bentónica: número de especies (N° de especies), riqueza (Margalef *d*), diversidad (Shannon-Wiener *H'*), equitatividad (Pielou *J*), dominancia (Simpson *S*) y el porcentaje de la abundancia de los principales taxones (Crustacea, Mollusca y Polychaeta).

| Parámetro | UR | BW | PW | PH | CI | CII |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| N° de especies | 7 ± 3 | 4 ± 1 | 7 ± 4 | 5 ± 2 | 9 ± 2 | 11 ± 2 |
| Riqueza (Margalef <i>S</i>) | 1,81 ± 0,16 | 1,10 ± 0,56 | 1,77 ± 1,03 | 0,63 ± 0,41 | 1,42 ± 0,33 | 2,31 ± 0,14 |
| Diversidad (Shannon-Wiener <i>H'</i>) | 1,52 ± 0,08 | 1,03 ± 0,57 | 1,24 ± 0,73 | 0,50 ± 0,12 | 0,31 ± 0,22 | 1,31 ± 0,34 |
| Equitatividad (Pielou <i>J</i>) | 0,80 ± 0,07 | 0,71 ± 0,27 | 0,62 ± 0,21 | 0,39 ± 0,12 | 0,14 ± 0,10 | 0,55 ± 0,18 |
| Dominancia (Simpson <i>D</i>) | 0,28 ± 0,04 | 0,46 ± 0,29 | 0,47 ± 0,06 | 0,74 ± 0,06 | 0,89 ± 0,09 | 0,47 ± 0,16 |
| % Crustacea | 35,8 | 6,9 | 11,6 | 94,4 | 66,1 | 84,8 |
| % Mollusca | 54,5 | 13,4 | 9,7 | 2,1 | 2,3 | 5,05 |
| % Polychaeta | 9,8 | 79,7 | 78,7 | 3,5 | 25,2 | 13,40 |

El análisis MDS (figura 6), basado en la composición de las comunidades de invertebrados, ordenaba las estaciones en tres grandes grupos (Similitud Bray Curtis entre grupos de aproximadamente 45%). El primer grupo contenía las estaciones CI, CII y PH, cuyas réplicas se encontraban consistentemente agrupadas, excepto CII3 representada fuera del grupo. El segundo grupo incluía las cuatro réplicas de la estación UR, y un tercer grupo compuesto por las estaciones de las ramblas (BW y PW) cuyas réplicas se encontraban mezcladas y dispersas en el lado derecho del gráfico, presentando la mayor variabilidad entre réplicas.

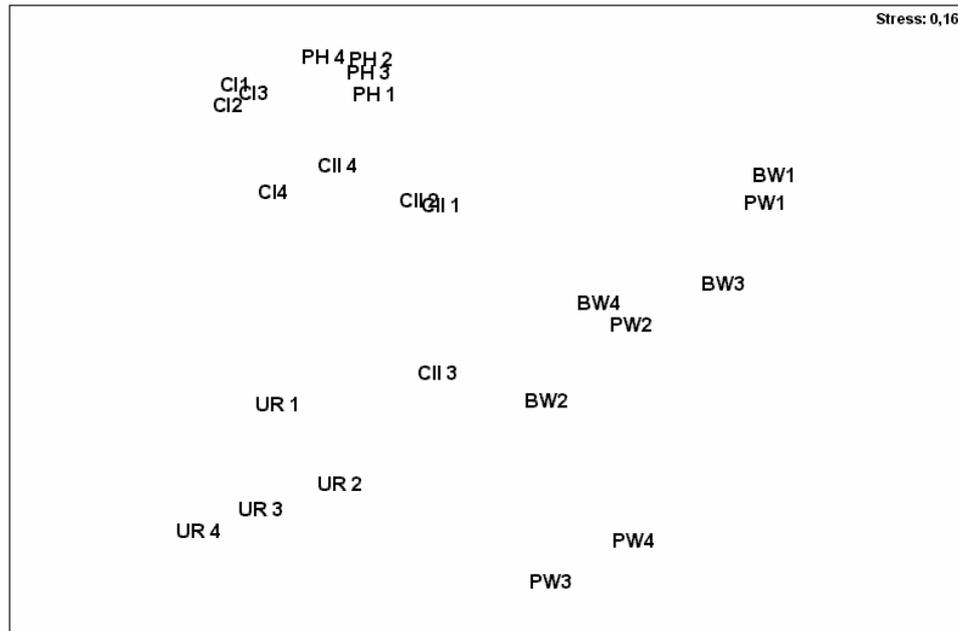


Figura 6. Ordenación bidimensional MDS de los datos de abundancia de fauna bentónica para las estaciones UR, BW, PW, PH, CI y CII; 1, 2, 3 y 4 indican el número de réplicas en cada estación.

El análisis BIOENV obtuvo correlaciones óptimas entre las ocho variables y la matriz biótica. Las variables relacionadas con las concentraciones de metales en los sedimentos eran las que mejor explicaban la composición de la comunidad de invertebrados con una correlación máxima de 0,371 para Pb y Cu, seguida por la agrupación de las tres variables Zn, Pb y Cd con una correlación de 0,364.

4. Discusión

Los resultados obtenidos indicaron que los sedimentos de la cubeta sur de la laguna costera del Mar Menor se encontraban influenciados por las actividades mineras desarrolladas desde antiguo en las montañas adyacentes, presentando altos niveles de metales. Los sedimentos influenciados por la descarga de residuos mineros a través de ambas ramblas (Beal y Ponce) presentaron contenidos en metales que se encontraban disponibles para los invertebrados bentónicos (bioensayos de toxicidad) y para las fanerógamas marinas (bioacumulación). Las mayores concentraciones de metales en los sedimentos junto con los mayores niveles de toxicidad fueron encontrados en las muestras tomadas cerca de la desembocadura de la rambla de El Beal, a través de la cual los residuos mineros eran descargados directamente durante la explotación minera.

Los sedimentos del Mar Menor presentaron concentraciones de Zn, Pb, Cu y Cd mayores que otras áreas costeras contaminadas (p. e. Ambatsian *et al.*, 1997; Byrne y O'Halloran, 2000). Por el contrario, dichas concentraciones fueron parecidas a las encontradas en estudios previos realizados en la zona durante las últimas décadas

(Simoneau, 1973; De Leon *et al.*, 1982; Rodriguez *et al.*, 2001), y aunque las técnicas analíticas empleadas fueron distintas, no parece que estas concentraciones hayan experimentado cambios significativos durante este periodo. Aunque los metales no se degradan y se mantienen indefinidamente en los sedimentos lagunares, sus concentraciones no aumentan ya que se van añadiendo sobre estas nuevas capas de material terrígeno que entra por las ramblas con concentraciones de metales similares al tener estas un mismo origen en los residuos de la Sierra Minera.

Las pruebas de toxicidad de los sedimentos empleando los anfípodos *M. gryllotalpa* y *S. sabatieri*, y las pruebas de toxicidad de la interfase agua-sedimento empleando las tres especies de erizos marinos *P. lividus*, *A. lixula* y *S. granularis*, ofrecieron resultados concordantes e identificaron como tóxicos aquellos sedimentos influenciados por la descarga de ambas ramblas. Los resultados de las pruebas de toxicidad se mostraron en correspondencia con los valores negativos de SEM-AVS, que indican la ausencia de toxicidad. Ya que se ha demostrado que la disponibilidad de metales divalentes para los organismos que viven en los sedimentos se encuentra directamente relacionada con el contenido en sulfuros (Di Toro *et al.*, 1990; Allen *et al.*, 1993); los sulfuros y los metales divalentes se unen formando sulfuros metálicos no biodisponibles, de manera que cuando las concentraciones de los primeros superan las de los metales, los sedimentos no suelen mostrar toxicidad (Hansen *et al.* 1996).

Los valores de la relación SEM-AVS también parecen estar en cierto modo relacionados con la bioacumulación de metales en la fanerógama marina *Cymodocea nodosa*. La gran diferencia en los valores de SEM-AVS entre las estaciones de las ramblas podría ser la responsable de los diferentes patrones observados en la acumulación de metales entre las hojas y las raíces. La estación de la rambla de El Beal (BW), que presentó valores muy altos de SEM-AVS indicando que la mayoría de los metales no estaban unidos a sulfuros, encontrándose por lo tanto potencialmente biodisponibles, presentó las mayores concentraciones de metales en las raíces de la planta. Por otro lado, el resto de estaciones (PW, CI y CII) mostraron valores de SEM-AVS cercanos a cero indicando que la mayoría de los metales contenidos en los sedimentos estaban asociados a AVS formando sulfuros metálicos insolubles no disponibles biológicamente, estas estaciones presentaron mayores concentraciones de metales en las hojas indicando que, posiblemente, su absorción haya ocurrido principalmente del agua de la columna.

Aunque la relación metales-sulfuros (SEM-AVS) influye en la disponibilidad de los metales para los invertebrados, su papel puede ser menor en el caso de plantas acuáticas con raíces, ya que éstas transportan oxígeno a los tejidos enterrados oxidando los sulfuros que se encuentran en el entorno inmediato a la raíces, reduciendo por lo tanto el efecto de los mismos en la disponibilidad de los metales (Marbá y Duarte, 2001). Las concentraciones de metales encontradas en *C. nodosa* de las estaciones BW y PW en este estudio pueden considerarse por encima de los niveles base para áreas no contaminadas (Moore y

Ramamoorthy, 1984), y son mucho mayores que las encontradas en otros estudios con *C. nodosa* (Malea y Haritonidis, 1994; Prange y Dennison, 2000; Sanchiz *et al.*, 2000). Muchos iones metálicos como Cd^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{3+} , Pb^{2+} , etc., son eficientemente quelados por las sustancias poliméricas extracelulares secretadas cuando bacterias y microalgas se asocian con superficies (p. e., partículas de sedimento o superficies de plantas) formando un biofilm o tapete microbiano (Decho, 2000). El hecho de que los sedimentos presenten concentraciones de zinc y plomo similares a las del biofilm en las estaciones de las ramblas, puede deberse a la deposición de metales sobre el biofilm por el arrastre de aguas de tormenta que introduce gran cantidad de metales asociados con finos a través de estas dos ramblas, así como por la deposición de sedimentos finos resuspendidos por efecto del oleaje.

En los últimos años han aparecido entre la bibliografía científica trabajos en los que la aplicación de descriptores clásicos en el estudio de las comunidades bentónicas estuarinas no han resultado buenos indicadores del estado de perturbación antrópica ya que estos sistemas se encuentran estresados de forma natural (DeValls y Chapman, 1998; DeValls *et al.*, 1998; Drake *et al.*, 1999). Estos descriptores, riqueza de Margalef, diversidad de Shannon-Wiener, equitatividad de Pielou y dominancia de Simpson, tampoco resultaron buenos indicadores del “estado de salud” de la laguna del Mar Menor, al presentar aquellas estaciones fuertemente contaminadas por metales (BW, PW y UR) los mayores valores de diversidad frente a las estaciones con baja o moderada contaminación por metales (CI y PH). En nuestro caso, esta inconsistencia se debió principalmente a la gran abundancia de una especie (*S. sabatieri*) en las estaciones no impactadas, luego se trata de un artificio matemático en el cálculo de este índice; ya que sin embargo, se ha encontrado un mayor número de especies en las estaciones menos impactadas. La contaminación por metales probablemente ha causado efectos adversos al anfípodo *S. sabatieri*, disminuyendo su dominancia y por tanto incrementando los valores de diversidad en las estaciones contaminadas.

La abundancia de *S. sabatieri* se encontró correlacionada con los porcentajes de supervivencia obtenidos con esta especie en los ensayos de toxicidad con sedimento (correlación de Spearman $r = 0,62$; $p < 0,01$). Esta es la primera vez que el anfípodo *S. sabatieri* ha sido empleado para evaluar la toxicidad de sedimentos y se presenta como un organismo conveniente para la determinación de toxicidad de sedimentos en la laguna, no sólo por la consistencia de los resultados sino también el mayor significado ecológico de estas pruebas al emplear un organismo que se encuentra ampliamente distribuido en el área de estudio.

Las técnicas multivariantes aplicadas en este estudio ofrecen conclusiones más consistentes que las obtenidas con los análisis descriptivos y parecen ser herramientas útiles para evaluar la calidad ambiental del Mar Menor. La técnica de ordenación MDS agrupó las estaciones en tres grupos diferentes y podrían ser clasificadas como no

impactadas (PH, CI y CII), moderadamente impactadas (UR) y severamente impactadas (BW y PW).

Las estaciones de las ramblas (BW y PW) mostraron una mayor presencia de poliquetos y menor de crustáceos. En ambas estaciones, la abundancia de cirratúlidos (Polychaeta), tolerantes de un amplio rango de condiciones ambientales (Fauvel, 1975) fue elevada, de hecho algunas especies de esta familia de poliquetos han sido descritas como comunes en estuarios, incluyendo aquellos que drenan regiones mineras (Geoffrey y Gibbs, 1987). El alto porcentaje de crustáceos, el grupo taxonómico más sensible a la contaminación, en las estaciones PH, CI y CII, indica un bajo o moderado nivel de perturbación.

De esta forma, las concentraciones de metales en los sedimentos parece ser uno de los principales parámetros que determinan la estructura de al menos, los poblamientos bentónicos estudiados en la cubeta sur del Mar Menor, aunque otros contaminantes no analizados en este estudio podrían estar influenciando también a estas comunidades.

En conclusión, este estudio evidencia la alta carga de metales de los sedimentos de la cubeta sur del Mar Menor influenciada por residuos mineros. La disponibilidad de los metales para los organismos bentónicos ha sido demostrada en laboratorio a través de pruebas de toxicidad con anfipodos y erizos; y en campo por medio de medidas de bioacumulación en los tejidos de la fanerógama *C. nodosa*. Aunque la toxicidad parece estar correspondida con la relación molar SEM-AVS y parece influir en las asociaciones faunísticas bentónicas de los sedimentos contaminados analizados, su efecto sobre la biodisponibilidad de los metales para la planta parece ser menor.

5. Referencias bibliográficas

Allen, H.E., Gongmin, F., Deng, B. 1993. Analysis of acid volatile sulfide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) for estimation of potential toxicity in aquatic sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12: 1441-1453.

Ambatsian, P., Fernex, F., Bernat, M., Parron, C., Lecolle, J. 1997. High metal inputs to closed seas: the New Caledonian lagoon. *Journal of Geochemical Exploration*, 59: 59-74.

Buchanan, J.B. 1984. Sediment analysis. En N. A. Holme & A. D. McIntyre. (Eds.), *Methods for the Study of Marine Benthos*. Blackwell Scientific Publications. pp. 41-65.

Byrne, P.A., O'Halloran, J. 2000. Acute and sublethal toxicity of estuarine sediments to the Manila clam, *Tapes semidecussatus*. *Environmental Toxicology*, 15: 456-468.

Cesar, A., Marín, A., Marín-Guirao, L., Vita, R. 2004. Amphipod and sea urchin tests to assess the toxicity of Mediterranean sediments: the case of Portman bay. *Scientia Marina*, 68: 205-213.

Cesar, A., Marín, L., Vita, R., Gomez, M., Jiménez, B., & Marín, A. 2000. Test de toxicidad con sedimento marino en la costa Mediterránea empleando anfipodos: *Gammarus aequicauda* y *Microdeutopus gryllotalpa*. En G. Espindola, R. Paschoal, O. Rocha, C. Bohrer & L. Neto (Eds.), *Ecotoxicología: Perspectivas para o século XXI*. Sao Carlos, RiMa. pp. 17-27.

Cesar, A., Marín-Guirao, L., Vita, R., Marín, A. 2002. Sensitivity of Mediterranean amphipods and sea urchins to reference toxicants. *Ciencias Marinas*, 28: 407-417.

Chapman, P.M., Wang F. 2001. Assessing sediment contamination in estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 3-22.

Clarke, K.R. 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*, 18: 117-143.

Clarke, K.R., Gorley, R.N. 2001. PRIMER v5: User Manual/Tutorial. Plymouth, United Kingdom.

Clarke, K.R., Warwick, R.M. 2001. Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. 2nd edition. Plymouth Marine Laboratory, UK.

Decho, A.W. 2000. Microbial biofilms in intertidal systems: An overview. *Continental Shelf Research*, 20: 1257-1273.

De Leon, A.R., Guerrero, J., Faraco, F. 1982. Evolution of the pollution of the coastal lagoon of Mar Menor. VI Journées Étud. Pollutions, Cannes, C.I.E.S.M.

DelValls, T.A., Chapman, P.M. 1998. The use of multivariate analysis to link the sediment quality triad components to site-specific sediment quality values in the Gulf of Cádiz (Spain) and in San Francisco Bay (USA). *Ciencias Marinas*, 24: 313-336.

DelValls, T.A., Conradi, M., García-Adiego, E., Forja, J.M., Gomez-Parra, A. 1998. Analysis of macrobenthic community structure in relation to different environmental sources of contamination in two littoral ecosystems from the Gulf of Cádiz (SW Spain). *Hydrobiologia*, 385: 59-70.

Di Toro, D.M., Mahony, J.D., Hansen, D.J., Scott, K.J., Hicks, M.B., Mayr, S.M., Redmond, M.S. 1990. Toxicity of cadmium in sediments: the role of acid volatile sulfide. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9: 1487-1502.

Drake, P., Baldó, F., Sáez, V., Arias, A. 1999. Macrobenthic Community Structure in Estuarine Pollution Assessment on the Gulf of Cádiz (SW Spain): is the Phylum-level Meta-analysis Approach Applicable?. *Marine Pollution Bulletin*, 38: 1038-1047.

Fauvel, P. 1975. Fauna de France: Polychètes. Fédération Française des Sociétés de Sciences Naturelles. Office Central de Faunistique. Kraus Reprint. Neudeln/ Liechtestein.

Geoffrey, W.B., Gibbs, P.E. 1987. Polychaetes as indicators of heavy-metal availability in marine deposits. En Capuzzo, J.M. & Kester, D.R. (Eds.), *Oceanic Processes in Marine Pollution*, vol. 1, Biological Processes and Wastes in the Ocean. Krieger Publishing Co. Inc., Melbourne, FL, USA. pp. 37-49.

Gulley, D.D., Boelter, A.M., Harold, L.B. 1991. TOXSTAT® Computer Program, Version 3.3. University of Wyoming, Laramie, WY.

Gundersen, P., Olsvik, P.A., Steinnes, E. 2001. Variations in heavy metal concentration in two mining-polluted streams in central Norway. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 978-984.

Hamilton, M.A., Russo, R.C., Thurston, R.V. 1977. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicological bioassays. *Environmental Science and Technology*, 11: 714-719; correction 12: 417, 1978.

Hansen, D.J., Berry, W.J., Mahony, J.D., Boothman, W.S., Di Toro, D.M., Robson, D.L., Ankley, G.T., Ma, D., Yan, Q., Pesch, C.E. 1996. Predicting the toxicity of metal-contaminated field sediments using interstitial concentration of metals and acid-volatile sulfide normalizations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15: 2080-2094.

Ingersoll, C.G. 1995. Sediment test. En: Gary M. Rand (Ed.), *Fundamentals of aquatic toxicology*. Taylor & Francis, USA, pp. 231-255.

Malea, P., Haritonidis, S. 1994. Local distribution and seasonal variation of Fe, Pb, Zn, Cu, Cd, Na, K, Ca and Mg concentrations in the seagrass *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers in the Antikyra Gulf, Greece. *Marine Ecology*, 16: 41-56.

Marbá, N., Duarte, C.M. 2001. Growth and sediment space occupation by seagrass *Cymodocea nodosa* roots. *Marine Ecology Progress Series*, 224: 291-298.

Moore, J. W., Ramamoorthy, S. 1984. Heavy Metals in Natural Waters. Springer, New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo.

Prange, J.A., Dennison, W.C. 2000. Physiological responses of five seagrass species to trace metals. *Marine Pollution Bulletin*, 41: 327-336.

Rodríguez, C., Guerrero, J., García, I.M., Jornet, A. 2001. Estudio piloto sobre niveles y efectos del Tributilo de estaño (TBT) y metales pesados en el Mar Menor. Convenio de colaboración entre la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, de la Región de Murcia y el Instituto Español de Oceanografía.

Sanchiz, C., García-Carrascosa, A.M., Pastor, A. 2000. Heavy metal contents in soft-bottom marine macrophytes and sediments along the Mediterranean coast of Spain. *Marine Ecology*, 21: 1–16.

Simoneau, J. 1973. *Mar Menor: Evolution Sedimentologique et Geochimique recente du remplissage*. Thèse présentée à l'Université Paul Sebatier de Toulouse (Sciences). France.

Somerfield, P.J., Gee, J.M., Warwick, R.M. 1994. Soft sediment meiofaunal community structure in relation to a long-term heavy metal gradient in the Fal estuary system. *Marine Ecology Progress Series*, 105: 79-88.

Tabachnick, B.G., Fidell, L.S. 1996. *Using Multivariate Statistics*. Harper Collins, College Publishers, New York, NY, USA.

U.S. Environmental Protection Agency. 1993. *A Linear Interpolation Method for Sublethal Toxicity: The Inhibition Concentration (ICp) Approach*. Duluth, MN 55804.

U.S. Environmental Protection Agency. 1994. *Methods for assessing the toxicity of sediment-associated contaminants with estuarine and marine amphipods*. EPA/ 600/ R-94/025. Narragansett, RI.

U.S. Environmental Protection Agency. 1995. *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to west coast marine and estuarine organisms*. EPA/ 600/ R-95-136. Cincinnati, Ohio.

Verdardo, D.J., Forelich, P.N., Mc Intyre, A. 1990. Determination of organic carbon and nitrogen in marine sediments using the Carlo Erba NA-1500 analyzer. *Deep Sea Research*, 37: 157-165.

Capítulo III

Efectos de los residuos mineros en praderas de *Cymodocea nodosa*: acumulación de metales y biodisponibilidad, dinámica de la planta y estructura de las comunidades asociadas

Capítulo III. Efectos de los residuos mineros en praderas de *Cymodocea nodosa*: acumulación de metales y biodisponibilidad, dinámica de la planta y estructura de las comunidades asociadas

1. Introducción

Las lagunas costeras son masas de agua relativamente cerradas que se encuentran bajo la influencia de los sistemas marinos y terrestres. Las condiciones ambientales de las lagunas costeras son muy variables debido a su confinamiento y escasa profundidad, pudiendo ser consideradas incluso como ambientes naturalmente estresados. Al encontrarse cercanas a tierra, son muy vulnerables a las perturbaciones humanas (Hodgkin, 1994; Reizopoulou *et al.*, 1996) y al ser relativamente cerradas suelen actuar también como sistemas concentradores de contaminantes. En este sentido, los sedimentos tan importantes en el mantenimiento de las funciones y estructuras de los ecosistemas actúan como el sumidero de los contaminantes insolubles que entran en los ecosistemas acuáticos (Chapman y Wang, 2001). Desde un punto de vista ecológico, uno de los mayores problemas al estudiar la contaminación de los sedimentos por metales pesados es la biodisponibilidad de los mismos. La biodisponibilidad de los contaminantes atrapados en los sedimentos se encuentra ligada a las características del sedimento (composición química, agua intersticial, etc.) así como al comportamiento de los organismos, de modo que debe ser considerada como un proceso dinámico (Loring, 1991). Por esta razón, la valoración de la calidad de los sedimentos en áreas costeras y estuarinas ha sido una línea de investigación prioritaria en los últimos años. Es por lo tanto importante determinar que fracción del contenido total de metales de los sedimentos se encuentra biodisponible, así como los mecanismos que regulan esta disponibilidad (Mountouris *et al.*, 2002). En el caso de los metales, la biodisponibilidad está controlada por las características fisico-químicas de los sedimentos, tales como el contenido en materia orgánica (Chapman y Wang, 2001), granulometría (Krumgalz, 1989), contenido en carbono orgánico (Mahoney *et al.*, 1996) y la concentración de sulfuros (Chapman *et al.*, 1998), entre otros. Sundelin y Eriksson, (2001) sugieren que una de las formas más apropiadas a la hora de estudiar la biodisponibilidad de metales es por medio de medidas de bioacumulación en organismos recolectados del mar o expuestos en laboratorio. El proceso por el cual un elemento o compuesto químico es acumulado en los organismos se conoce como bioconcentración. El factor de bioconcentración (BCF) empleado para calcular la distribución de metales entre el sedimento y los organismos se define como la relación entre la concentración de metales en la biota y la concentración de metales en el sedimento (Mountouris *et al.*, 2002).

Los macrófitos marinos no solo juegan un papel fundamental en el reciclado de elementos dentro de los ecosistemas costeros, sino que a su vez son afectados de forma

adversa por estos contaminantes. Varios programas de vigilancia ambiental han utilizado los macrófitos marinos para cuantificar la contaminación por metales (Constantini *et al.*, 1991; Haritonidis y Malea, 1999). Su amplio uso como indicadores de contaminación marina está justificada por la gran capacidad que presentan para acumular gran variedad de elementos (Lytle y Lytle, 2001) y por mostrar una tolerancia considerable a las fluctuaciones en las condiciones ambientales; y al ser productores primarios, pueden ser usados como indicadores de primer nivel para el seguimiento de los niveles de metales en los ambientes marinos costeros (Prange y Dennison, 2000). *Cymodocea nodosa* es una fanerógama marina ampliamente distribuida en el Mediterráneo, frecuente en aguas someras como la laguna del Mar Menor (Terrados y Ros, 1992). Las praderas albergan una comunidad animal con alta diversidad biológica comparada con la de los fondos blandos sin vegetación, debido a su alta producción primaria y a su complejidad estructural (Edgar, 1990; Edgar y Robertson, 1992; Edgar *et al.*, 1994; Frost *et al.*, 1999). De manera que la capacidad de la planta para acumular metales pesados podría tener consecuencias negativas en estas ricas comunidades asociadas a las praderas. En este sentido, no existen estudios previos que describan los efectos en las comunidades de invertebrados asociados con céspedes de *Cymodocea nodosa* que crecen en sedimentos contaminados por los estériles de la minería. De este modo, la valoración de las comunidades, que refleja la sensibilidad de múltiples especies a la exposición a largo plazo a contaminantes y su interacción con diversos factores ambientales, puede servir como un indicador sensible del significado biológico que tienen los niveles de contaminantes observados (Hyland *et al.*, 1999).

El propósito general de este capítulo fue determinar el impacto potencial de los metales pesados procedentes de la minería sobre las praderas de *C. nodosa* que crecen en la cubeta sur del Mar Menor. Para ello se establecieron los siguientes objetivos específicos: i) Cuantificar la acumulación de cadmio, plomo y cinc en raíces, rizomas, y hojas y en el biofilm de las hojas de *C. nodosa*; ii) Analizar las relaciones entre los contenidos en metales de la planta y las características físico-químicas del sedimento; iii) Detectar diferencias en el estado de salud de las praderas de *C. nodosa* a través de varios parámetros estructurales y reconstruyendo la dinámica de las praderas estudiadas; iv) Determinar la estructura de las comunidades de invertebrados asociadas a estas praderas, y los principales factores ambientales que afectan a estas comunidades de invertebrados.

2. Material y Métodos

2.1. Área de estudio y toma de muestras

Los sedimentos del Mar Menor presentan altas concentraciones de metales pesados debido a la histórica actividad minera desarrollada en la Sierra de Cartagena-La Unión

situada al sur de la laguna (Simoneau, 1973; De Leon *et al.*, 1982). A pesar de que la actividad minera finalizó hace varias décadas los residuos mineros continúan entrando en la laguna durante las lluvias torrenciales. El estudio fue realizado durante junio de 2001 a lo largo de borde sur de la laguna. Se seleccionaron cuatro estaciones en la cubeta sur de la laguna, donde se observó el crecimiento de la fanerógama *Cymodocea nodosa* (figura 1), dos situadas cercanas a la desembocadura de las ramblas de El Beal y Ponce impactadas por los metales de la minería (estaciones BW y PW) y dos estaciones alejadas de dichas ramblas y también situadas en la cubeta sur de la laguna (estaciones CI y CII). La profundidad del área de estudio fluctuaba entre 0,5 y 1,0 m. La salinidad era de 44,4, 44,9, 43,7 y 44,1 (ups) para BW, PW, CI y CII respectivamente. El oxígeno disuelto y los valores de pH oscilaron entre 8,11-8,8 mg/l y 8,4-8,55 respectivamente. La concentración de sólidos en suspensión y clorofila *a* presentaron valores de 22,13 mg/l y 3,18 mg/m³ respectivamente en BW; 13 mg/l y 5,17 mg/m³ en PW; 10,53 mg/l y 5,15 mg/m³ en CI y 12 mg/l y 5,47 mg/m³ en CII.



Figura 1.- Mapa de la zona de estudio con la representación de los puntos de muestreo. BW y PW correspondientes con las desembocaduras de las ramblas de El Beal y Ponce respectivamente y CI y CII con dos lados distintos de la Isla de El Ciervo.

2.2. Estudio de la fanerógama *Cymodocea nodosa*

Las muestras biológicas para estimar la acumulación de metales en los diferentes tejidos de *Cymodocea nodosa* y en el biofilm de las hojas, junto con los sedimentos fueron recolectadas mediante buceo en apnea. En cada estación de muestreo se recolectaron plantas enteras y los 5 cm superficiales de sedimento. Las plantas eran transportadas al laboratorio a 4° C en bolsas de polietileno. En el laboratorio las hojas de la fanerógama se rasparon con un portaobjetos de cristal para separar el material particulado, las sustancias poliméricas extracelulares y los epibiontes que forman el biofilm que crece en la superficie de las hojas, no observándose algas calcáreas rodófitas en las hojas. Para retirar el material particulado y los sedimentos adheridos a las raíces y los rizomas, estos fueron frotados con los dedos y con un cepillo de dientes suave, posteriormente lavados con ácido nítrico (2%) y finalmente enjuagados con agua destilada. La eficacia del método de raspado fue comprobada con la ayuda de un microscopio electrónico de barrido (Jed JSM T-300) comprobando que las superficies quedaban limpias. Las plantas se fraccionaron en raíces, rizomas y hojas. Cuando microalgas, especialmente diatomeas, y bacterias se asocian con superficies húmedas, como las partículas de sedimento y las superficies de plantas sumergidas, segregan una matriz mucilaginosa formada por sustancias poliméricas para formar un tapete o biofilm microbiano (Decho, 2000). Este biofilm sirve de fuente de alimento para los invertebrados raspadores de minerales y superficies orgánicas (Farag *et al.*, 1998). Los distintos tejidos fueron secados a 60°C hasta alcanzar peso constante, y antes de su digestión las muestras fueron molidas en un mortero de porcelana y homogeneizadas. Las digestiones se realizan en triplicado en los sedimentos, fracciones de la planta y biofilm. Aproximadamente 0,2 g de muestra eran digeridos con 1 ml de mezcla de ácidos nítrico, perclórico y sulfúrico (8:8:1). Se empleó una digestión caliente con incrementos de la temperatura hasta alcanzar los 380°C y conseguir la evaporación total. Las muestras eran posteriormente rediluidas con agua desionizada en un baño de ultrasonidos y acidificadas con HCl suprapure. Las concentraciones de Zn, Pb y Cd fueron medidas polarográficamente por voltimetría anódica con gota de mercurio (Metrohm 646 VA Processor).

Con el fin de determinar la estructura de cada pradera de *C. nodosa*, se recolectaron todas las plantas contenidas en un área de 0,09 m² (n=5). En cada muestra, la anchura y la longitud de toda las hojas de los haces recolectados fueron medidas junto con los siguientes parámetros: número de hojas por haz, superficie específica de hoja (cm²), densidad de haces (haces m⁻²), biomasa de hojas (g peso seco m⁻²), índice foliar o superficie de las hojas (m² hojas m⁻² sedimento) (Terrados, 1991).

El estado de salud de cada pradera se determinó reconstruyendo la dinámica de cada pradera a través de un único muestreo. Para ello se extrajeron 12 rizomas al azar en cada estación. La técnica de reconstrucción empleada está basada en el trabajo de Duarte *et al.*

(1994) y consiste en contar los haces vivos y muertos por rizoma en orden cronológico de aparición. La población sigue el modelo: $N_t = N_0 e^{-Mt}$, donde N_t es el número de haces más viejos que la edad modal; N_0 es el número de haces con edad igual a la moda. El decrecimiento exponencial de la abundancia de haces con el incremento de la edad permite la estimación de las tasas exponenciales de mortalidad de haces (M). Las tasas anuales de reclutamiento de haces pueden también calcularse a partir del número total de haces y el número de haces más viejos de un año en la población de haces. La mortalidad y el reclutamiento son útiles para evaluar el estado de las praderas y predecir su desarrollo (Duarte y Sand-Jensen, 1990).

2.3. Sedimentos

De los sedimentos en los que crecían las praderas estudiadas se determinaron el contenido en materia orgánica, el porcentaje de finos, el carbono orgánico total y el contenido en sulfuros volátiles con el propósito de buscar relaciones entre estas variables y el contenido en metales en las distintas fracciones de la planta estudiadas por medio de correlaciones y regresiones múltiples. Las muestras de sedimento para los análisis de sulfuros volátiles en medio ácido (AVS) y los metales extraídos de forma simultánea (SEM) fueron congelados con el mínimo de aire posible para minimizar la oxidación de los sulfuros. Para los análisis de AVS ($n=4$) se empleó la técnica descrita por Allen *et al.* (1993) en la que los sulfuros contenidos en los sedimentos son convertidos en sulfuro de hidrógeno mediante la adición de ácido clorhídrico 6 M. El sulfuro de hidrógeno volátil es purgado con nitrógeno y capturado en una solución de NaOH 2 M, donde posteriormente es analizado con un electrodo selectivo de plata/sulfuro (ThermoOrion, model 9616). El resto de sedimentos, agua y ácido contenidos en el vaso de reacción fueron filtrados inmediatamente para analizar en el filtrado el contenido en Zn, Pb y Cd por medio de voltamperometría anódica con gota de mercurio (Metrohm 646 VA Processor). La distribución del tamaño de las partículas del sedimento fue determinado mediante tamizado mecánico en seco (Buchanan, 1984). Las muestras de sedimentos secados al horno eran cribados a través de una batería de tamices comprendiendo un rango de tamaños entre 2000 y 63 μm . El contenido en materia orgánica fue determinado como el porcentaje de peso perdido tras la ignición del sedimento seco en una mufla a 450° C durante 6 horas. El contenido en carbono orgánico total se determinó con analizador elemental (Carlo Erba Instruments EA1108) en la fracción de sedimento menor a 63 μm tras descomponer los carbonatos mediante la adición de ácido clorhídrico 1 N (Verdardo *et al.*, 1990).

2.4. Comunidades de invertebrados

En cada estación se tomaron cuatro réplicas para estudiar las comunidades asociadas con las praderas del estudio. Los invertebrados asociados con las fanerógamas fueron recolectados de forma directa muestreando con una manga (0,5 mm luz de malla) unida a un cuadrado con una superficie de 0,09 m² (Edgar, 1990). La manga era situada sobre la mancha de *C. nodosa*, recolectando todas las plantas y los tres centímetros superficiales de sedimento. Las muestras eran procesadas en laboratorio separando con la ayuda de una lupa binocular los organismos de los sedimentos y las plantas. Los organismos eran clasificados en los principales taxones (Crustacea, Mollusca y Polychaeta) y conservados en alcohol al 70% para su posterior clasificación a nivel de especie o nivel taxonómico más cercano. Se calcularon los siguiente parámetros descriptivos de la comunidad para cada muestra: riqueza de especies (Índice de Margalef, *S*), diversidad de Shannon-Wiener (log, *H*), equitatividad (Índice de Pielou, *J*) y dominancia (índice de Simpson, *D*). La contribución numérica cada uno de los grupos taxonómicos (Polychaeta, Mollusca, Crustacea) se calculó como la proporción de la abundancia de cada taxón a la abundancia total de cada muestra, los valores medios obtenidos por estación fueron expresados como porcentajes.

2.5. Análisis de los datos

Las diferencias estadísticas de las diferentes variables, incluyendo los parámetro de la pradera de *C. nodosa*, las variables físico-químicas del sedimento y la concentración de metales en las diferentes fracciones de la planta y el biofilm eran comparadas utilizando ANOVA de una vía (test de Dunnet). Los análisis estadísticos (análisis de la varianza, coeficientes de correlación) fueron realizados con los datos transformados (logaritmo) con el propósito de eliminar la dependencia de la varianza con las medias (Programa estadístico Statistica v4.5). Los factores de bioconcentración (BCFs) eran calculados dividiendo la concentración de metales en cada fracción de la planta y en el biofilm de las hojas entre la concentración de metales en el sedimento (totales y simultáneamente extraídos a los sulfuros). Con el fin de detectar la importancia que los parámetros de sedimento pudieran tener en la disponibilidad de metales a *C. nodosa* se realizaron una serie de análisis de correlaciones entre los BFCs y las variables del sedimento.

El análisis de las comunidades de invertebrados asociados a cada pradera fue realizado usando las distintas rutinas disponibles dentro del programa informático PRIMER versión 5.0 (Plymouth Routines In Marine Ecological Research) (Clarke y Gorley, 2001). La significación de las diferencias entre puntos fue determinada usando un ANOVA de una vía. Usando el coeficiente de similaridad de Bray-Curtis con los datos de abundancia de invertebrados (transformadas con doble raíz cuadrada) se construyó una matriz de rangos de similaridad. La ordenación de las estaciones era posteriormente realizada a partir de la

matriz de similitud utilizando un escalamiento multidimensional (MDS). Las diferencias entre muestras se analizaron con el test de permutaciones ANOSIM (Clarke y Green, 1988). La contribución de los taxones a la disimilitud entre muestras fue analizado utilizando los porcentajes de afinidad del SIMPER (Clarke, 1993). Se exploraron las relaciones entre la estructura de la comunidad y las variables ambientales aplicando un análisis de correspondencia canónico (CCA, modelo unimodal) (ter Braak, 1986) usando el programa CANOCO versión 4.0 (ter Braak y Smilauer, 1998). Para ello, los datos de abundancia de especies, el porcentaje de materia orgánica, la fracción de limos-arcillas fueron transformados aplicando una raíz cuadrada. Las variables relacionadas con la estructura de la pradera, el contenido en metales de las diferentes fracciones de la planta y el contenido en metales del sedimento fueron transformadas aplicando el logaritmo. Para evitar colinearidad entre variables, la serie de datos originales de variables ($n=28$) fue reducida a 14. La superficie de la hoja, la biomasa de hojas y el porcentaje de materia orgánica fueron eliminados del análisis porque se encontraron una alta y significativa correlación ($r>0.75$) con otras variables ambientales. Dos grupos de variables altamente intercorrelacionadas, una relacionada con la concentración de metales en el sedimento y otra con el contenido en metales de la planta, fueron simplificadas utilizando un PCA a cada grupo (ter Braak, 1995). Esta técnica identifica vectores ortogonales que describen una porción significativa de la varianza dentro del grupo original de variables. Como ventaja, los componentes resultantes pueden ser tratados como variables tradicionales para posteriores análisis. Otros beneficios del PCA incluyen la reducción de muchas variables en unos pocos componentes, de manera que, con la inclusión de todas las variables originales en cada componente los posteriores análisis no están basados sólo en una variable simple sino en todas las variables del grupo de datos, y la generación de componentes ortogonales no intercorrelacionados (Janerette *et al.*, 2002). De estos dos PCAs se obtuvieron dos nuevas variables denominadas CMS (contenido de metales en el sedimento) y CMP (contenido de metales en la planta), seleccionando el primer eje de ambos PCA que explicaban el 97 y el 89% de la variabilidad de esos grupos de variables respectivamente. Estas nuevas variables fueron incluidas como variables independientes en el posterior CCA. El test de permutaciones de Monte Carlo (999 permutaciones) fue empleado para evaluar la significación de cada variable ambiental al ensamblaje de la fauna.

3. Resultados

3.1. Biología de la planta

Aunque el número de hojas por haz fue similar en las cuatro praderas estudiadas, el índice foliar fue mayor en las estaciones impactadas de las ramblas (Tabla 3), indicando una mayor superficie fotosintética por haz en las praderas próximas a las desembocaduras de

las ramblas. La densidad de haces mostró un patrón diferente, correspondiendo la más alta a PW (1538 ± 326 haces. m^{-2}) y la más baja a BW (802 ± 41 haces. m^{-2}), mientras que las estaciones de la Isla de El Ciervo presentaron valores intermedios. La biomasa de hojas más alta correspondió a las estaciones de las ramblas (BW y PW).

La comparación entre las tasas de reclutamiento y la mortalidad para cada pradera mostró que el reclutamiento excedía a la mortalidad en todas ellas (Tabla 1). Las tasas de mortalidad estimadas para cada pradera diferían en gran medida, siendo la más alta la presentada por BW (0,14 ln unidades año⁻¹) y la más baja la de PW (0,02 ln unidades año⁻¹). La tasa neta de cambio de la población calculada del reclutamiento bruto y la tasa de mortalidad indicaron que todas las praderas de *C. nodosa* se encontraban en expansión. El reclutamiento neto más alto se registró en la pradera CII.

Tabla 1.- Resumen de los parámetros descriptivos de las praderas de *Cymodocea nodosa* (media \pm DE) y de los parámetros empleados para la reconstrucción de las dinámicas de las mismas. * Valores positivos de Reclutamiento neto (R-M>0) indican la expansión de las praderas, mientras que los negativos (R-M<0) indican la regresión de las mismas.

| Parámetros | Ramblas | | Isla del Ciervo | |
|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | BW | PW | CI | CII |
| Hojas por haz | 3,5 \pm 0,3 | 4,1 \pm 0,3 | 4,2 \pm 0,2 | 4,2 \pm 0,4 |
| Superficie de hoja específica (cm²) | 14,5 \pm 1,3 | 12,3 \pm 0,7 | 7,7 \pm 0,8 | 5,4 \pm 1,4 |
| Densidad de haces (n° haces/m²) | 802 \pm 41 | 1538 \pm 326 | 1344 \pm 58 | 1029 \pm 430 |
| Biomasa de hojas (g p.s./m²) | 96,7 \pm 33,6 | 89,6 \pm 13,9 | 58,9 \pm 9,5 | 30,1 \pm 4,5 |
| Índice foliar (m²/m²) | 1,37 \pm 0,3 | 2,03 \pm 0,33 | 1,05 \pm 0,11 | 0,5 \pm 0,06 |
| Reclutamiento bruto (R) | 0,62 | 0,7 | 0,44 | 0,82 |
| Mortalidad (ln units yr⁻¹) (M) | 0,14 | 0,02 | 0,04 | 0,04 |
| Reclutamiento neto (R-M) | + 0,48* | + 0,68* | + 0,4* | + 0,51* |
| Biomasa de biofilm (g p.s./m² hoja) | 0,40 \pm 0,20 | 0,17 \pm 0,14 | 0,20 \pm 0,08 | 0,07 \pm 0,01 |

Todos los parámetros descriptivos aplicados a las distintas praderas de estudio (superficie de hoja, número de hojas por haz, densidad de haces biomasa de hojas, índice foliar) mostraron diferencias significativas entre las cuatro estaciones de muestreo ($p < 0,05$).

3.2. Análisis de sedimentos

Los sedimentos sobre los que se desarrollaban las praderas estudiadas estaban principalmente formados por arenas muy finas, presentando las estaciones BW y CII las mayores proporciones de limos y arcillas con porcentajes cercanos al 10% frente a las estaciones PW y CI con porcentajes inferiores al 1%. El porcentaje de materia orgánica más alto fue encontrado en la estación BW con valores cercanos al 8%, así como el porcentaje de carbono orgánico total ($> 1,5\%$), mientras que para el resto de estaciones dichos porcentajes fueron similares entre sí e inferiores al 3,5% en caso de la materia orgánica y ligeramente superiores al 1% con respecto al carbono orgánico. Los análisis de la varianza indicaron que había diferencias significativas entre las estaciones para las distintas variables físico-químicas del sedimento ($p < 0,05$), incluyendo la concentración de metales (totales y extraídos simultáneamente a los sulfuros) y la concentración de sulfuros (370,4 $\mu\text{g S/g sed. peso seco}$ para BW; 175,2 para PW; 47 para CI y 90,8 para CII).

3.3. Acumulación de metales en *Cymodocea nodosa* y en sedimentos

En las cuatro estaciones estudiadas se encontraron concentraciones de zinc, plomo y cadmio tanto en los sedimentos como en las plantas de *Cymodocea nodosa* que en ellos crecían (figuras 2, 3 y 4). Dichas concentraciones presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) para cada fracción de planta estudiada entre las distintas praderas analizadas. Presentando las estaciones localizadas cercanas a las desembocaduras de las ramblas (BW y PW) las mayores concentraciones de metales tanto en el sedimento como en los distintos tejidos de la fanerógama. Estas dos estaciones también presentaron diferencias entre sí, y aunque en ambas el zinc presentó las mayores concentraciones tanto en el biofilm como en los sedimentos, la estación de El Beal mostró concentraciones de plomo ligeramente mayores que las de zinc en las distintas fracciones de la planta, al contrario que en la estación de Ponce donde el zinc fue el metal que presentó las mayores concentraciones en la planta. Otra diferencia observada entre los patrones de acumulación de metales entre las plantas de las estaciones situadas bajo la influencia de las ramblas fue que mientras en BW las mayores concentraciones de metales se encontraron en las raíces, en PW se encontraron en las hojas, mientras que el contenido de metales en los rizomas fue más bajo que en hojas y raíces en todas las estaciones de muestreo. Por su parte, las dos estaciones correspondientes con la Isla de El Ciervo (CI y CII) mostraron concentraciones similares de metales en los distintos tejidos analizados. Y en cualquier caso, las concentraciones de

metales en los sedimentos fueron superiores a las de las plantas en las cuatro estaciones estudiadas, excepto en el caso de la concentración de cadmio en el biofilm de la estación PW. Considerando el conjunto de sustancias mucosas, algas y microorganismos que forman el biofilm como una fracción más de la planta, esta fue la que presentó las concentraciones más altas de metales en las estaciones contaminadas de las ramblas (3913 ± 326 µg Zn/g biofilm p.s., 1568 ± 191 µg Pb/g biofilm p.s. para la estación BW y 12489 ± 2592 ng Cd/g biofilm p.s. en la estación PW).

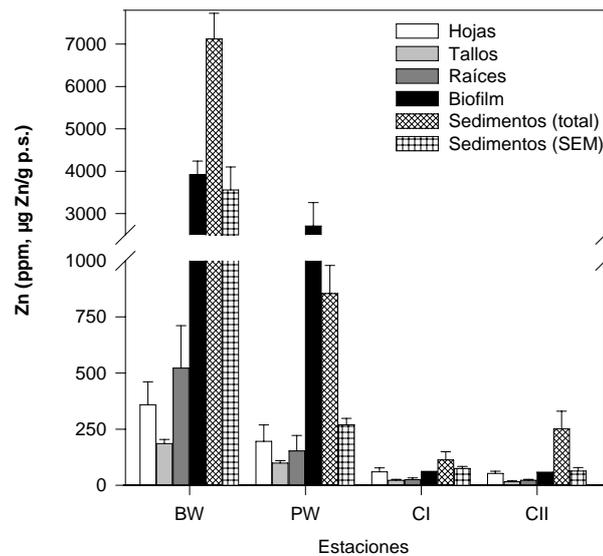


Figura 2.- Representación de las concentraciones de zinc en las fracciones de la planta analizadas (hojas, tallos y raíces), en el biofilm, y en los sedimentos (total = concentración total, y SEM = concentración extraída de forma simultanea a los sulfuros).

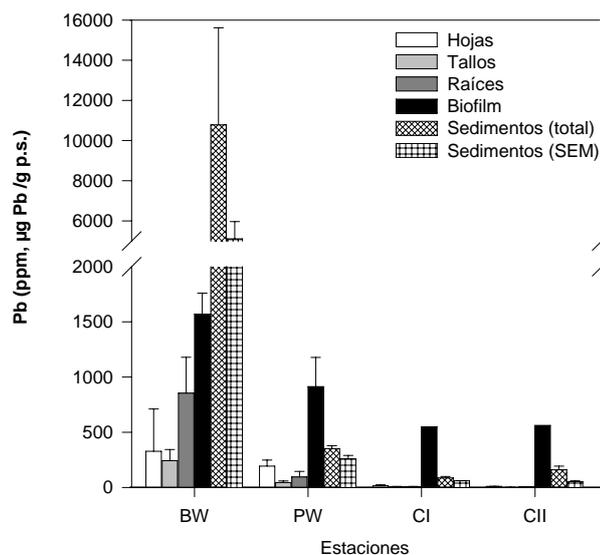


Figura 3.- Representación de las concentraciones de plomo en las fracciones de la planta analizadas (hojas, tallos y raíces), en el biofilm, y en los sedimentos (total = concentración total, y SEM = concentración extraída de forma simultanea a los sulfuros).

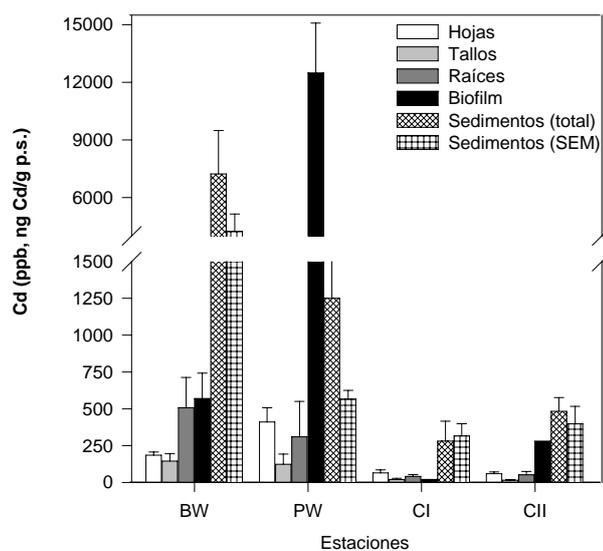


Figura 4.- Representación de las concentraciones de cadmio en las fracciones de la planta analizadas (hojas, tallos y raíces), en el biofilm, y en los sedimentos (total = concentración total, y SEM = concentración extraída de forma simultánea a los sulfuros).

Las correlaciones negativas encontradas entre los factores de bioconcentración de los metales en las diferentes fracciones de la planta y los parámetros físico-químicos del sedimento (Tabla 4), indican que un incremento en los valores de dichos parámetros disminuye la biodisponibilidad de los metales, resultando por lo tanto en una disminución del factor de bioconcentración. En el caso del zinc, se encontraron correlaciones negativas significativas con el contenido en materia orgánica, limos-arcillas y carbono orgánico total del sedimento. En el caso de la materia orgánica, las mayores correlaciones se encontraron con el zinc extraído de forma simultánea a los sulfuros (SEM), mientras que para la fracción de finos las mayores correlaciones se obtenían con la concentración de zinc total. Por su parte, el carbono orgánico total no presentó correlaciones significativas con ninguna de las dos concentraciones de metales analizadas de los sedimentos. Con respecto al factor de bioconcentración de plomo y cadmio, solo la fracción de limos-arcillas del sedimento presentó correlaciones negativas significativas, parámetro que parece influenciar la disponibilidad de estos metales para *C. nodosa*. La concentración total de metales proporcionó en todos los casos, las mejores correlaciones con respecto a la fracción de limos-arcillas, que las obtenidas con la concentración de metales extraída de forma simultánea a los sulfuros. Finalmente, para ninguno de los metales analizados se encontraron correlaciones significativas entre los BCF y la concentración de sulfuros volátiles en los sedimentos.

Tabla 2.- Coeficientes de correlación de Pearson entre los factores de concentración de metales en las distintas fracciones de planta con respecto a la concentración de metales en el sedimentos (concentración de metal en la planta /concentración de metal en el sedimento) frente a las características físico-químicas del sedimento (variables transformadas con el logaritmo). MO: porcentaje de materia orgánica; FF: fracción de limos y arcillas (partículas < 63µm); COT: porcentaje de carbono orgánico total; AVS: concentración de sulfuros; n: número de muestras.

| | | Concentración de metales totales ^a (n=16) | | | | Concentración de metales SEM ^b (n=16) | | | |
|----------|-----|--|----------|----------|----------|--|----------|----------|----------|
| Fracción | | Hojas | Tallos | Raíces | Biofilm | Hojas | Tallos | Raíces | Biofilm |
| Zn | MO | -0,74** | -0,75*** | -0,61* | -0,34 | -0,88*** | -0,94*** | -0,83*** | -0,46 |
| | FF | -0,72** | -0,85*** | -0,85*** | -0,47 | -0,49 | -0,63** | -0,50* | -0,26 |
| | COT | -0,67** | -0,67** | -0,59* | 0,10 | -0,62** | -0,65** | -0,52* | 0,15 |
| | AVS | -0,56* | -0,42 | -0,25 | 0,31 | -0,56* | -0,45 | -0,26 | 0,30 |
| Pb | MO | -0,76*** | -0,42 | -0,23 | -0,89*** | -0,80*** | -0,47 | -0,16 | -0,84*** |
| | FF | -0,68** | -0,65** | -0,45 | -0,65** | -0,51* | -0,50 | -0,14 | -0,44 |
| | COT | -0,28 | -0,17 | 0,09 | -0,68** | -0,28 | -0,16 | 0,22 | -0,65** |
| | AVS | -0,15 | 0,15 | 0,41 | -0,49 | -0,27 | 0,07 | 0,42 | -0,58* |
| Cd | MO | -0,86*** | -0,59* | -0,61 | -0,67** | -0,86*** | -0,50* | -0,44 | -0,55* |
| | FF | -0,75*** | -0,72** | -0,67** | -0,18 | -0,56* | -0,43 | -0,27 | -0,04 |
| | COT | -0,50* | -0,31 | -0,39 | -0,04 | -0,28 | 0,01 | -0,01 | 0,08 |
| | AVS | -0,37 | -0,38 | -0,15 | 0,19 | -0,10 | -0,03 | 0,25 | 0,30 |

^a Metales obtenidos en la digestión total del sedimento

^b Metales extraídos de forma simultanea a los sulfuros

Nivel de significación: *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001.

3.4. Comunidades de invertebrados

Los resultados obtenidos con los índices empleados en el estudio de las comunidades de invertebrados asociadas a las praderas indicaron como mientras el número de especies y la riqueza de Margalef presentaban diferencias significativas ($p<0,05$) entre las cuatro praderas, la abundancia, el índice de diversidad Shannon-Wiener, el índice de equitatividad

de Pielou y el índice de dominancia de Simpson no se mostraron significativamente diferentes (Tabla 3).

Tabla 3.- Resumen de los resultados obtenidos con los índices descriptivos aplicados a las comunidades de invertebrados asociados a las praderas (media \pm DE): número de especies (n° especies), abundancia (n° individuos / m^2), riqueza, diversidad, equitatividad, dominancia y el porcentaje sobre la abundancia total representado por los taxones dominantes (Crustacea, Mollusca y Polychaeta).

| Parámetros | BW | PW | CI | CII |
|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| Nº de especies | 14 \pm 2 | 12 \pm 2 | 18 \pm 2 | 17 \pm 1 |
| Abundancia | 1256 \pm 490 | 1094 \pm 359 | 1058 \pm 453 | 1348 \pm 781 |
| Riqueza (Margalef S) | 6,56 \pm 0,71 | 5,43 \pm 0,68 | 8,94 \pm 1,91 | 7,95 \pm 1,59 |
| Diversidad (Shannon-Wiener H') | 0,95 \pm 0,10 | 0,79 \pm 0,05 | 0,99 \pm 0,15 | 0,79 \pm 0,30 |
| Equitatividad (Pielou J) | 0,83 \pm 0,08 | 0,75 \pm 0,08 | 0,79 \pm 0,10 | 0,64 \pm 0,22 |
| Dominancia (Simpson D) | 0,15 \pm 0,05 | 0,23 \pm 0,05 | 0,17 \pm 0,08 | 0,34 \pm 0,24 |
| % Crustacea | 57,4 \pm 10,6 | 59,8 \pm 24,3 | 53,3 \pm 15,0 | 67,21 \pm 24,1 |
| % Mollusca | 16,2 \pm 3,5 | 2,9 \pm 0,5 | 15,8 \pm 10,7 | 22,1 \pm 11,0 |
| % Polychaeta | 26,3 \pm 14 | 37,2 \pm 24,4 | 30,9 \pm 7,8 | 10,7 \pm 13,5 |

Sin embargo, aunque estos índices clásicos no reflejaron con firmeza diferencias entre las comunidades de las cuatro praderas, los análisis multivariantes las revelaron sin dudas. Así, en la ordenación obtenida a través del escalamiento multidimensional (MDS), las muestras de las cuatro praderas fueron agrupadas de forma separada en el gráfico (figura 5).

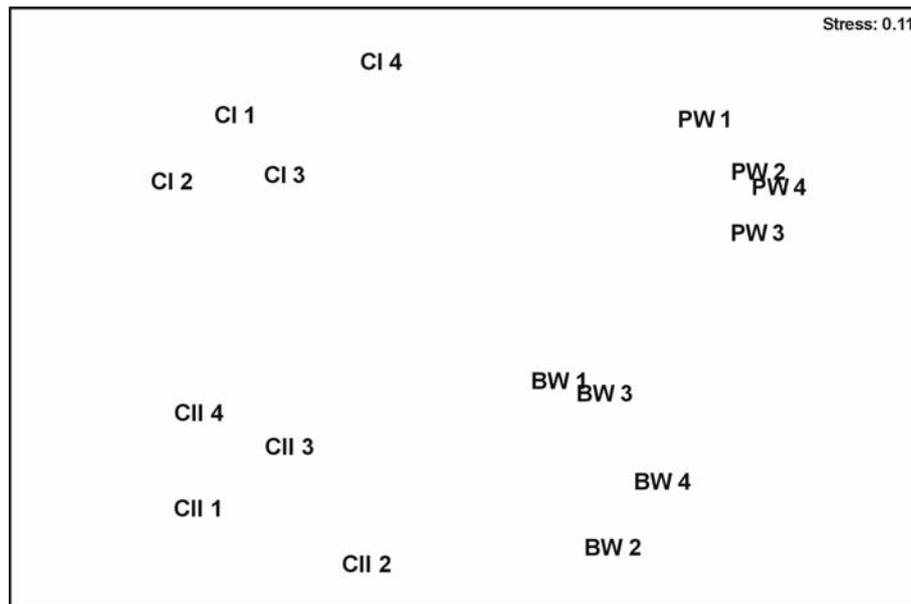


Figura 5.- Gráfico de la ordenación obtenida con la técnica de escalamiento multidimensional (MDS) aplicada a los datos de abundancia de invertebrados para las cuatro estaciones BW, PW, CI y CII (1, 2, 3 y 4 indican el número de las réplicas para cada pradera).

Las diferencias en la composición de fauna asociada a cada pradera también fueron indicadas por los resultados obtenidos mediante el análisis ANOSIM o análisis de similitudes, el cual mostró una diferencia significativa entre la estructura de las comunidades de macroinvertebrados de las cuatro praderas muestreadas (ANOSIM: Global $R=0,92$, $p<0,001$). Este análisis de similitudes mostró también diferencias entre cada par de estaciones, unas veces con los grupos bien separados ($R>0,75$: BW y PW, BW y CI, BW y CII, PW y CI, PW y CII) y otras superpuestas pero claramente diferentes ($R>0,5$: CI y CII). Por otro lado, el análisis SIMPER o de porcentajes de similitud utilizado para determinar cuáles eran los organismos que más contribuían a la similitud/desimilitud observadas, indicó que de las cuatro praderas de fanerógamas las muestras de la estación CII exhibía la similitud más baja (BW=67,76; PW=71,12; CI=65,61; CII=56,58). Ninguna especie aislada mostró una contribución grande a la disimilitud entre las praderas. La máxima contribución fue debida a tres especies de anfipodos, *Microdeutopus sp* (10,98%), *Siphonoecetes sabatieri* (8,57%) y *Gammarus sp* (7,70%). Mientras que la mayor disimilitud entre cada par de estaciones fue encontrada entre PW y CII (65,58%), lo cual fue debido principalmente a las especies de anfipodos anteriormente citados, las muestras de BW y CII presentaron el porcentaje de disimilitud más bajo (49,54%), siendo el principal organismo responsable de esta disimilitud el anfipodo *Siphonoecetes sabatieri*, algunos miembros de la familia de poliquetos Spionidae y el gasterópodo *Bittium paludosum*. Para el resto de pares de estaciones, el porcentaje de disimilitud fue de 50,53 para BW y PW, de 61,50 para BW y CI, de 62,35 para PW y CI y de 51,64 para CI y CII.

El gráfico del análisis de correspondencias canónico CCA (Fig. 6) que relaciona las variables ambientales con la composición de invertebrados, mostró a cada una de las estaciones de muestreo localizadas en un cuadrante distinto de la gráfica. Los vectores representados en el gráfico representan un gradiente de los datos biológicos con las flechas apuntando las áreas de mayor valor de la variable, excepto las dos nuevas CMS y CMP obtenida con los análisis de componentes principales, cuyas flechas señalan las áreas de menores valores. El eje vertical II separó dos grupos de estaciones, cada uno compuesto por una estación de la Isla del Ciervo y una de las ramblas. Este eje se mostró positivamente correlacionado con la biomasa de biofilm y con el porcentaje de finos del sedimento y negativamente correlacionado con la densidad de haces, el índice foliar y con los menores contenidos de metales en los sedimentos (CMS). Indicando que este eje vertical se encontró principalmente correlacionado con la estructura física del hábitat. Por otro lado, el eje horizontal I, separó claramente las estaciones de la Isla del Ciervo (CI y CII) de las de las ramblas (BW y PW), y se mostró positivamente correlacionado con las concentraciones de sulfuros y de cadmio en el biofilm, y negativamente correlacionado con los menores valores de metales en plantas (MCP) y sedimentos (MCS).

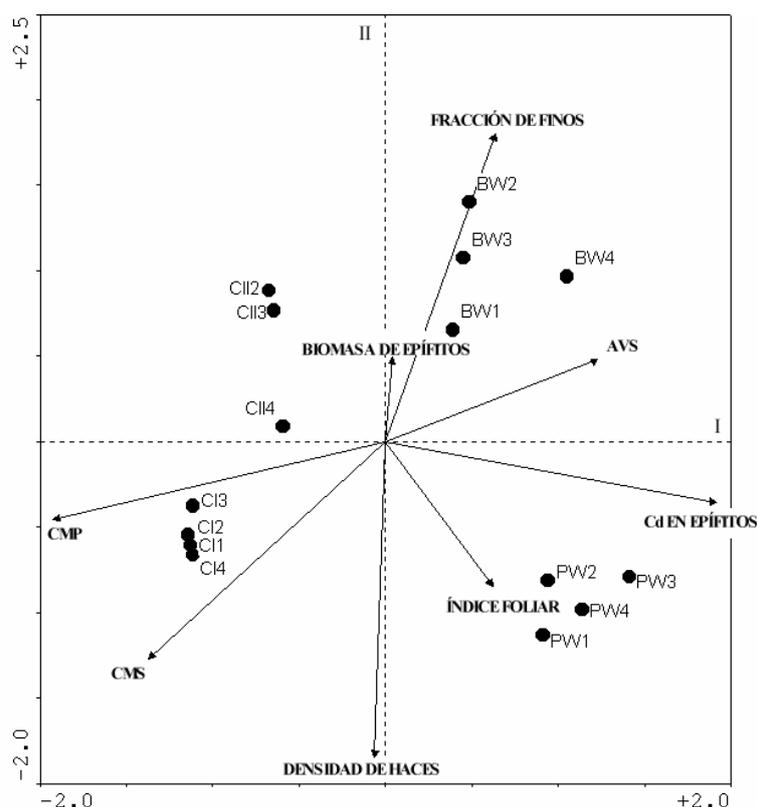


Figure 4.- Gráfico del análisis de correspondencias canónico (CCA). CMS: contenido de metales en los sedimentos; CMP: contenido de metales en las plantas. Los vectores de estas dos variables apuntan hacia las áreas con menor concentración de metales.

El contenido en metales de las diferentes fracciones de la planta, en el biofilm y en los sedimentos parecen ser las variables que mejor explican la separación entre las estaciones de las ramblas y las de la Isla del Ciervo. El valor del primer autovalor de 0,324 identificaba un gradiente claramente marcado (Tabla 4). Como representan los dos ejes de la figura 4, el 60% de la variabilidad de la comunidad de macroinvertebrados estaba explicada por las variables ambientales. Tanto el primer eje, como todo el análisis de correspondencias canónico (CCA) resultó altamente significativo ($p < 0,005$) a través del test de permutaciones de Monte Carlo.

Tabla 4.- Resumen de los resultados del análisis de correspondencias canónico (CCA).

| Ejes | I | II | III | IV |
|-------------------------------|----------|-----------|------------|-----------|
| Autovalores | 0,324 | 0,257 | 0,109 | 0,092 |
| Porcentaje de varianza | 33,6 | 26,6 | 11,3 | 9,6 |
| Inercia total | 1,312 | | | |

4. Discusión

Los contaminantes que son acumulados en los sedimentos se encuentran, de forma general, distribuidos entre las partículas sólidas y el agua comprendida entre los intersticios de las mismas o agua intersticial. Este reparto de contaminantes entre las distintas fases de los sedimentos está determinado por combinaciones específicas de parámetros químicos, biológicos y ambientales, que lo convierten en un proceso dinámico. La fanerógama marina *Cymodocea nodosa*, al igual que otras plantas, acumula los contaminantes que se encuentran en la fracción disuelta de los sedimentos o fracción biodisponible. A su vez, la planta puede producir cambios químicos tanto en el sedimento como en el agua intersticial pudiendo alterar el equilibrio entre contaminantes y sedimento, afectando, por tanto, a la biodisponibilidad de dichos contaminantes. Como se refleja en el presente capítulo, *C. nodosa* acumula metales en sus tejidos, reflejando la biodisponibilidad de metales para las plantas que crecen en los sedimentos contaminados de la cubeta sur de la laguna costera del Mar Menor.

Los metales seleccionados cadmio, plomo y zinc han sido los principales metales producidos en las actividades mineras causantes de la contaminación de la laguna y son los metales que se presentan en mayores concentraciones en sus sedimentos (De Leon *et al.*, 1982). Mientras que el zinc es un metal elemental requerido por las plantas para su supervivencia, el cadmio y el plomo son tóxicos y no son necesarios para el desarrollo de las plantas. En este estudio, se han encontrado en las estaciones situadas en la

desembocadura de las ramblas concentraciones de zinc y plomo mayores que las descritas en otros trabajos (Capone *et al.*, 1983; Malea y Haritonidis, 1994; Prange y Dennison, 2000; Sanchiz *et al.*, 2000). Se han observado distintos patrones de acumulación de metales entre las distintas partes de *C. nodosa*, al igual que ha sido previamente descrito en otras fanerógamas marinas como *Posidonia oceanica* (Schlacher-Hoenlinger y Schlacher, 1998) y *Zostera nolti* (Lyngby y Brix, 1989). De las tres fracciones (hojas, tallos y raíces) de la planta analizadas, la mayor concentración de metales se encontró en las hojas de todas las estaciones excepto, en la de la rambla de El Beal, que correspondieron con las raíces. En un estudio de acumulación de metales en una zona contaminada por una fundición de metal en Grecia, Nicolaidou y Nott (1998) mostraron patrones similares al encontrar mayores concentraciones de metales en las hojas de *C. nodosa*. Por su parte, las mayores concentraciones de metales en las raíces en la estación de El Beal pueden deberse a la gran diferencia molar entre metales y sulfuros (SEM-AVS) mostrada entre las estaciones. Mientras que en El Beal la diferencia molar entre SEM-AVS ($106,18 \pm 5,18 \mu\text{mol/g}$ sedimento seco) indicó que gran cantidad de metales divalentes no estaban unidos a los sulfuros y, por lo tanto, se encontraban potencialmente biodisponibles, en el resto de estaciones esta diferencia molar cercana a 0 mostró que la mayoría de los metales formaban complejos metal-sulfuro insolubles, reduciendo por lo tanto su biodisponibilidad.

Se ha demostrado que una gran variedad de elementos, incluidos los metales, son absorbidos por las raíces y posteriormente transportados a los tejidos situados por encima del sedimento como son las hojas (Jackson *et al.*, 1994), esto justificaría las mayores concentraciones de metales en las hojas, pero a su vez podría estar indicando el posible papel que juegan las plantas en la transferencia o exportación de parte de los metales acumulados en los sedimentos, que de otra manera quedarían en ellos contenidos. Por otro lado, se ha demostrado que la acumulación de metales contenidos en el agua como cadmio y plomo por las hojas y epifitos de fanerógamas marinas, sigue un proceso pasivo y dependiente de la superficie expuesta (Ward, 1989). Luego, otro factor que podría estar teniendo influencia en las diferencias encontradas entre la acumulación de metales en las distintas partes de la planta puede ser la diferencia en la descarga de residuos entre ambas ramblas como se ha visto con anterioridad (Capítulo I).

En las estaciones de las ramblas (BW y PW) el biofilm de las hojas mostró concentraciones de plomo y zinc que eran un orden de magnitud mayor que en la planta. Estas altas concentraciones de metales son probablemente el resultado de la gran capacidad de absorber metales que tienen las sustancias poliméricas extracelulares que conforman el biofilm. En este sentido, Suh *et al.* (1999) demuestran en un experimento en laboratorio que las sustancias poliméricas extracelulares excretadas por el biofilm eran responsables del más del 90% de acumulación de Pb^{2+} del total de plomo disuelto. A su vez Schlekot *et al.* (1998) demuestran la fuerte capacidad complejadora de cadmio por parte del biofilm a lo largo de un amplio rango de salinidades y pHs. Además de la capacidad para

eliminar los metales que se encuentran disueltos en el agua, ya que el biofilm es por definición un consorte funcional complejo compuesto por microorganismos vivos y por sólidos orgánicos e inorgánicos, las altas concentración de metales determinados en nuestro caso estará en gran parte influenciada por la deposición del material particulado fino con alto contenido en metales que es introducido a través de las ramblas y que forma parte de los sedimentos de las desembocadura de las mismas. Cuando las lluvias torrenciales introducen metales en el mar, al igual que ocurre en el Mar Menor, la mayor parte de estos están asociados a material particulado en suspensión produciendo como resultado final la deposición de los metales (Capítulo I, Bradley y Lewin, 1982; Polh *et al.*, 2002). Al mismo tiempo, el oleaje puede causar la resuspensión de los sedimentos incrementando la cantidad de metales disueltos y particulados que podrían ser adsorbidos sobre el biofilm.

Por otro lado, la alta concentración de plomo encontrada en el biofilm de las hojas en las estaciones de la Isla del Ciervo (CI y CII) parece estar reflejando otras fuentes de contaminación en el Mar Menor (tráfico marítimo por la proximidad de un puerto, carreteras cercanas o vuelos militares en la zona). Según esto, el biofilm podría reflejar pulsos de entrada de metales en los sistemas acuáticos, especialmente en lagunas hipersalinas como el Mar Menor, donde los metales se mantienen disueltos durante poco tiempo.

Las diferencias encontradas entre las concentraciones de metales en las hojas y en el biofilm que crece sobre éstas sugieren, como indicaban Schlaecher-Hoenlinger y Schlaecher (1998), que no puedan ser considerados como un compartimento homogéneo debiéndose analizar por separado. Estos autores indican a su vez que el biofilm debería ser considerado como una herramienta ambiental conveniente para seguimientos ambientales al comportarse como un centinela acumulador.

Las elevadas concentraciones de Zn, Pb y Cd encontradas tanto en las plantas como en los sedimentos reflejan la disponibilidad de los metales en la zona de estudio, y al igual que ocurre aquí estudios previos muestran relaciones positivas entre el contenido en metales en los sedimentos y *C. nodosa* y otras fanerógamas marinas (Malea y Haritonidis, 1994; Malea *et al.*, 1994).

Las correlaciones negativas encontradas entre los factores de bioconcentración de Zn, Pb y Cd en las diferentes partes de la planta (calculados respecto a la concentración total de metales en sedimento) con la fracción de finos indican que un incremento en la proporción de partículas de pequeño tamaño en el sedimento disminuiría los factores de bioconcentración y, por lo tanto, la biodisponibilidad de los metales. En el caso del zinc, también se han encontrado correlaciones negativas significativas con el contenido en materia orgánica y de carbono orgánico total. Se ha visto con anterioridad que metales como el zinc, que se unen preferentemente a ligandos orgánicos, disminuyen su disponibilidad para los macrofitos con raíces cuando dichos ligandos se encuentran disponibles en los sedimentos (Campbell *et al.*, 1988). Por otro lado, otros componentes de los sedimentos como serían los sulfuros, parecen no tener influencia en la disponibilidad de metales para la

fanerógama marina. Esto posiblemente sea debido al transporte de oxígeno por parte de la planta a sus tejidos enterrados en los sedimentos, lo cual podría cambiar las condiciones físico-químicas de los sedimentos y oxidar a los sulfuros. En un estudio con *C. nodosa*, Marbá y Duarte (2001) sugieren que la liberación de oxígeno en los sedimentos por parte de la planta podría incrementar la oxidación de los compuestos reducidos, como los sulfuros, creando una zona subóxica donde los valores de potencial redox serían mayores que los de la zona adyacente reducida. Este incremento en las condiciones de oxidación/reducción de los sedimentos de la rizosfera de la planta podría ayudar a evitar la acumulación de fitotoxinas como los sulfuros del sedimento, pero por otro lado podría incrementar la disponibilidad de metales para la planta. Recientemente, Jacob y Otte (2004) mostraron que plantas que crecían en zonas permanentemente inundadas reducían significativamente las concentraciones de sulfuros, indicando la oxidación del sedimento inducida por las raíces.

Por lo tanto, el crecimiento de una pradera de *C. nodosa*, afectaría de forma contraria a la biodisponibilidad de los metales contenidos en los sedimentos. Por un lado, actuaría como una trampa de partículas finas debido a la densidad de hojas que presenta pudiendo, esta fracción de materia orgánica particulada y de sedimento fino atrapadas, afectar a la adsorción de los metales, y por lo tanto disminuir su biodisponibilidad, como hemos visto en el caso de el zinc. Por otro lado, el establecimiento de una pradera contribuiría a mantener los valores de potencial redox del sedimento en niveles que favorecen las formas iónicas de los metales, aumentando las formas más biodisponibles de los mismos (Jackson, 1998).

Aunque las dos praderas que se desarrollan en los sedimentos cercanos a las desembocaduras de las ramblas fuertemente contaminados por metales, acumulan grandes cantidades de metales en sus tejidos, no se ha observado que estos causen efectos adversos a las plantas. De hecho, son estas dos praderas que crecen sobre los sedimentos con mayor carga de metales las que presentaron mayores superficies fotosintéticas de hoja y mayor biomasa foliar. Recientemente, se ha descrito que cuando estériles mineros con alto contenido en metales pesados son mezclados con sedimentos de río con alto contenido en materia orgánica, dan como resultado un tipo de suelos de inundación que resultan atractivos para mejorar la productividad de jardines domésticos (Cobb *et al.*, 2000; Samantaray *et al.*, 2001), de manera que algo similar puede estar ocurriendo en los sedimentos en los que se desarrollan ambas praderas, donde un incremento en el aporte de elementos traza y nutrientes introducidos por las ramblas incrementaría la productividad de la planta (Pérez *et al.*, 1994). Por su lado, la pradera de Ponce presentó las mayores densidades de haces, frente a la de El Beal que mostró los menores valores, esta observación se mostró estrechamente relacionada con la mortalidad de haces, ya que fue esta última estación la que presentó las mayores tasas de mortalidad pudiendo estar relacionadas con una mayor disminución en la intensidad de la luz que le llega a la planta (Ruiz *et al.*, 1993; Ruiz y Romero, 2003), estando dicha reducción relacionada o con la

mayor cantidad de biofilm encontrado en las hojas de El Beal o por diferencias en la turbidez de las aguas causadas tanto por la descarga de las ramblas como por el oleaje.

Ninguno de los índices descriptores de la comunidad de macroinvertebrados asociados a las praderas, excepto la riqueza de especies, mostraron diferencias significativas entre las cuatro estaciones estudiadas. Sin embargo, el análisis multivariante, reconocido como más sensible para este tipo de datos (Clarke y Warwick, 2001), sí reveló diferencias significativas en la composición de invertebrados de las distintas estaciones estudiadas, de forma similar a lo ocurrido a Frost *et al.* (1999) estudiando las comunidades de macroinvertebrados asociados con la fanerógama marina *Zostera marina*.

Como se refleja en el análisis de correspondencias canónico (ACC), aquellas variables relacionadas con la estructura del hábitat (densidad de haces, fracción de finos de los sedimentos, índice foliar y la biomasa de epífitos) separaron dos grupos de estaciones, cada uno compuesto por una estación de las ramblas y una de la Isla del Ciervo. En este sentido, y apoyando los resultados obtenidos, varios autores han demostrado que la estructura de las comunidades de invertebrados asociadas con fanerógamas marinas se encuentran estrechamente correlacionadas con parámetros estructurales como son la densidad de haces, la superficie de hoja y la biomasa de las hojas, ya que proporcionan la estructura física disponible como espacio donde vivir y como protección frente a depredadores (Edgar y Barret, 2002; Edgar y Robertson, 1992). Además, la mayor complejidad del hábitat incrementa la disponibilidad de recursos tróficos disponibles para los invertebrados como son el tapete de diatomeas/bacterias (biofilm) asociado con la superficie de la planta (Parker *et al.*, 2001; Edgar, 1990; Orth y Van Montfrans, 1984) y los detritos vegetales y sedimentos, cuya retención aumenta como resultado de la reducción del hidrodinamismo (De Troch *et al.*, 2003; Edgar *et al.*, 1994; Jenkins *et al.*, 2002). Concluimos por lo tanto que estos parámetros, tan estrechamente relacionados con la estructura de las comunidades de invertebrados asociadas, no parecen ser los causantes de las diferencias entre las dos praderas contaminadas de las ramblas y las dos de la Isla del Ciervo. Sin embargo, parece ser que aquellas variables relacionadas con el contenido en metales en las diferentes fracciones de la planta, incluyendo el biofilm, y en los sedimentos, sean las que mejor expliquen la separación entre estos dos grupos de estaciones. La mayoría de las especies de macroinvertebrados asociados con praderas de fanerógamas marinas no se alimentan directamente de la planta, sin embargo, el biofilm y los epífitos que crecen en la superficie de las hojas y que resultan más palatables, han sido descritos como una fuente importante de alimento para heterótrofos en praderas de fanerógamas tropicales (Yamamuro, 1999). Por lo tanto, el contenido en metales tóxicos en esta fuente de alimento puede ser importante a la hora de determinar la estructura de las comunidades asociadas con las praderas al ser transferidos a los organismos a través de la ingesta de biofilm contaminado (Boult *et al.*, 1997; Schlekot, *et al.*, 2000). Por otro lado, durante la senescencia de las hojas, los detritos vegetales generados podrían transferir los metales contenidos en ellas a los detritívoros,

tanto por la ingesta del detrito como por la liberación de los metales al agua durante la descomposición de los tejidos de la planta. Barwick y Maher (2003) mostraron que los metales como el Zn, Pb, Cu y Cd eran bioacumulados y biotransferidos a lo largo de la cadena alimentaria, principalmente en los detritívoros y herbívoros que se alimentaban directamente de los epífitos, la planta o los detritos.

Finalmente, aunque las concentraciones de determinados metales en los tejidos de *C. nodosa* son mayores que las encontradas en la bibliografía, la distribución de la fanerógama no parece estar influenciada por la contaminación de metales en los sedimentos, posiblemente sean otros factores ambientales. Por el contrario, las diferencias encontradas entre las comunidades faunísticas asociadas a las praderas puedan ser debidas a los efectos tóxicos de los metales contenidos en sus fuentes de alimento (sedimentos, hojas y biofilm) puesto que otros parámetros ambientales, incluyendo salinidad, pH, concentración de oxígeno disuelto, sólidos en suspensión y clorofila *a* no mostraron diferencias claras en las aguas de las estaciones estudiadas en la laguna.

Este estudio también muestra que tanto *C. nodosa* como el biofilm que se desarrolla sobre sus hojas pueden ser empleados como herramientas ambientales en la laguna costera del Mar Menor. Por lo tanto, consideramos a esta fanerógama marina como un indicador útil de la contaminación por metales de los sedimentos, para estudiar la evolución a largo plazo de la carga de contaminantes, así como reflejar la biodisponibilidad potencial de los metales para la biota. Por otro lado, en el caso de la contaminación del agua, el biofilm de las hojas parece ser un buen centinela de la calidad del agua ya que refleja rápidamente la entrada de metales en el ambiente acuático pudiendo ser empleado como un indicador de contaminación de las aguas de la laguna por metales.

5. Referencias bibliográficas

Allen, H.E., Gongmin, F., Deng, B. 1993. Analysis of acid volatile sulfide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) for estimation of potential toxicity in aquatic sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12: 1441-1453.

Barwick, M., Maher, W. 2003. Biotransference and biomagnification of selenium, copper, cadmium, zinc, arsenic and lead in a temperate seagrass ecosystem from Lake Macquarie Estuary, NSW, Australia. *Marine Environmental Research*, 56: 471-502.

Bradley, S. B., Lewin, J. 1982. Transport of heavy metals on suspended sediments under high flow conditions in a mineralised region of Wales. *Environmental Pollution Ser. B*, 4: 257-267.

Boult, S., Johnson, N., Curtis, C. 1997. Recognition of a biofilm at the sediment-water interface of an acid mine drainage-contaminated stream, and its role in controlling iron flux. *Hydrological Processes*, 11: 391-399.

Buchanan, J.B. 1984. Sediment analysis. En: N.A. Holme, & A.D. McIntyre (Eds.), *Methods for the study of marine benthos* (pp. 41-65). Blackwell Scientific Publications.

Campbell, P.G.C., Lewis, A.G., Chapman, P.M., Crowder, A.A., Fletcher, W.K., Imber, B., Luoma, S.N., Stokes, P.M., Winfrey, M. 1988. Biologically available metals in sediments. Publ. No. 27694, National Research Council of Canada, Ottawa, ON.

Capone, W., Mascia, C., Porcu, M., Tagliasacchi-Masala, M. L. 1983. Uptake of lead and chromium by primary producers and consumers in a polluted lagoon. *Marine Pollution Bulletin*, 3: 97-102.

Chapman, P.M., Wang, F. 2001. Assessing sediment contamination in estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 3-22.

Chapman, P.M., Wang, F., Janssen, C., Persoone, G., Allen, H.E. 1998. Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: Binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55, 2221-2243.

Clarke, K.R. 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*, 18: 117-143.

Clarke, K.R., Gorley, R.N. 2001. PRIMER v5: User Manual/Tutorial. Plymouth, United Kingdom.

Clarke, K.R., Green, R.H. 1988. Statistical design and analysis for a biological effects study. *Marine Ecology Progress Series*, 46: 213-226.

Clarke, K.R., Warwick, R.M. 2001. Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. 2nd edition. Plymouth Marine Laboratory, UK.

Cobb, G.P., Sands, K., Waters, M., Wixson, B.G., Dorward-King, E. 2000. Accumulation of heavy metals by vegetables grown in mine wastes. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 600-607.

Constantini, S., Giordano, R., Ciaralli, L. Beccaloni E. 1991. Mercury, Cadmium and Lead evaluation in *Posidonia oceanica* and *Codium tormentosum*. *Marine Pollution Bulletin*, 22: 362-363.

Decho, A.W. 2000. Microbial biofilms in intertidal systems: an overview. *Continental Shelf Research*, 20: 1257-1273.

De Leon A.R., Guerrero J., Faraco F. 1982. Evolution of the pollution of the coastal lagoon of Mar Menor. *VI Journées Étud. Pollutions*, Cannes, C.I.E.S.M.

De Troch, M., Fiers, F., Vincx, M. (2003). Niche segregation and habitat specialisation of harpacticoids copepods in a tropical seagrass bed. *Marine Biology*, 142: 345-355.

Duarte, C.M., Marbá, N., Agawin, N., Cebrián J., Enriquez, S., Fortes, M.D., Gallegos, M.E., Merino, M., Olesen, B., Sand-Jansen, K., Uri, J., Vermaat, J. 1994. Reconstruction of seagrass dynamics: age determinations and associated tools for the seagrass ecologist. *Marine Ecology Progress Series*, 107: 195-209.

Duarte, C.M., Sand-Jensen, K. 1990. Seagrass colonization: Biomass development and shoot demography in *Cymodocea nodosa* patches. *Marine Ecology Progress Series*, 67: 97-103.

Edgar, G.J. 1990. The influence of plant structure on the species richness, biomass and secondary production of macrofaunal assemblages associated with Western Australian seagrass beds. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 137: 215-240.

Edgar, G.J., Barret, N.S. 2002. Benthic macrofauna in Tasmanian estuaries: scales of distribution and relationships with environmental variables. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 270: 1-24.

Edgar, G.J., Robertson, A. I. 1992. The influence of seagrass structure on the distribution and abundance of mobile epifauna: pattern and process in a Western Australian *Amphibolis* bed. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 160: 13-31.

Edgar, G.J., Shaw, C., Watsona, G.F., Hammond, L.S. 1994. Comparisons of species richness, size-structure and production of benthos in vegetated and unvegetated habitats in Western Port, Vitoria. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 176: 201-226.

Farag, A.M., Woodward, D.F., Goldstein, J.N., Brumbaugh, W., Meyer J.S. 1998. Concentrations of metals associated with mining waste in sediments, biofilm, benthic macroinvertebrates, and fish from the Coeur d'Alene River Basin, Idaho. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34: 119-127.

Frost, M.T., Rowden, A.A., Attrill, M.J. 1999. Effect of habitat fragmentation on the macroinvertebrate infaunal communities associated with the seagrass *Zostera marina* L. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 9: 255-263.

Haritonidis, S., Malea, P. 1999. Bioaccumulation of metals by the green alga *Ulva rigida* from Thermaikos Gulf, Greece. *Environmental Pollution*, 104: 365-372.

Hodgkin, E.P. 1994. Estuaries and coastal lagoons. En L. S. Hammond, & Synnot R. N. (Eds.), *Marine biology* (pp 315-322). Longman Cheshire, Melbourne, Australia.

Hyland, J.L., Van Dolah, R.F., Snoots, T.R. 1999. Predicting stress in benthic communities of southeastern U.S. estuaries in relation to chemical contamination of sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 2557-2564.

Jackson, L.J. 1998. Paradigms of metal accumulation in rooted aquatic vascular plants. *Science of Total Environment*, 219: 223-231.

Jackson, L.J., Rowan, D.J., Cornett, R.J., Kalff, J. 1994. *Myriophyllum spicatum* pumps essential and nonessential trace elements from sediments to epiphytes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 51: 1769-1773.

Jacob, D.L., Otte, M.L. 2004. Long-term effects of submergence and wetland vegetation on metals in a 90-year old abandoned Pb-Zn mine tailings pond. *Environmental Pollution*, 130: 337-345.

Jenerette, G.D., Lee, J., Waller, D.W., Carlson, R.E. (2002). Multivariate análisis for ecoregion delineation for aquatic systems. *Environmental Management*, 29: 67-75.

Jenkins, G.P., Walker-Smith, G.K., Hamer, P.A. 2002. Elements of habitat complexity that influence harpacticoid copepods associated with seagrass beds in a temperate bay. *Oecologia*, 131: 598-605.

Krumgalz, B.C. 1989. Unusual grain size effect on trace metals and organic matter in contaminated sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 20: 608-611.

Loring, D.H. 1991. Normalization of heavy-metal data from estuarine and coastal sediments. *ICES Journal of Marine Science*, 48: 101-115.

Lyngby, J.E., Brix, H. 1989. Heavy metals in eelgrass (*Zostera marina* L.) during growth and decomposition. *Hydrobiologia*, 176/177: 189-196.

Lytle, J.S., Lytle, T.F. 2001. Use of plants for toxicity assessment of estuarine ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 68-83.

Mahoney, D.J., Di Toro, M.D., Gonzalez, M.A., Curto, M., Dilg, M., De Rosa, D.L., Leslie, A.S. 1996. Partitioning of metals to sediment organic carbon. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15: 2187-2197.

Malea, P., Haritonidis, S. 1994. Local distribution and seasonal variation of Fe, Pb, Zn, Cu, Cd, Na, K, Ca and Mg concentrations in the seagrass *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers. In the Antikyra Gulf, Greece. *Marine Ecology*, 16: 41-56.

Malea, P., Haritonidis, S., Kevrekidis, T. 1994. Seasonal and local variations of metal concentrations in the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile in the Antikyra Gulf, Greece. *Science of Total Environment*, 153: 225-235.

Marbá, N., Duarte, C.M. 2001. Growth and sediment space occupation by seagrass *Cymodocea nodosa* roots. *Marine Ecology Progress Series*, 224: 291-298.

Moore, J.W., Ramamoorthy, S. 1984. Heavy Metals in Natural Waters. Springer, New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo.

Mountouris, A., Voutsas, E., Tassios, D. 2002. Bioconcentration of heavy metals in aquatic environments: the importance of bioavailability. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 1136-1141.

Nicolaidou, A., Nott, J.A. 1998. Metals in sediment, seagrass and gastropods near a nickel smelter in Greece: Possible interactions. *Marine Pollution Bulletin*, 36: 360-365.

Orth, R.J., Van Montfrans, J. 1984. Epiphyte-seagrass relationships with an emphasis on the role of micrograzing: a review. *Aquatic Botany*, 18: 43-69.

Parker, J.D., Duffy, J.E., Orth, R.J. 2001. Plant species diversity and composition: experimental effects on marine epifaunal assemblages. *Marine Ecology Progress Series*, 224: 55-67.

Pérez, M., Duarte, M.C., Romero, J., Sand-Jensen, K., Alcoverro, T. 1994. Growth plasticity in *Cymodocea nodosa* stands: the importance of nutrient supply. *Aquatic Botany*, 47: 249-264.

Polh, C., Hennings, U., Siegel, H., Bachor, A. 2002. Trace metal impact into the Baltic Sea during the exceptional Oder flood in summer 1997. *Marine Chemistry*, 79: 101-111.

Prange, J.A., Dennison, W.C. 2000. Physiological responses of five seagrass species to trace metals. *Marine Pollution Bulletin*, 41: 327-336.

Reizopoulou, S., Thessalou-Legaki, M., Nicolaidou, A. 1996. Assessment of disturbance in Mediterranean lagoons: an evaluation of methods. *Marine Biology*, 125: 189-197.

Ruiz, J.M., Marín, A., Calvo, J.F., Ramirez, L. 1993. Interactions between a Floodway and Coastal Constructions in Aguilas Bay (Southeastern Spain). *Ocean and Coastal Management*, 19: 241-262.

Ruiz, J.M., Romero, J. (2003). Effects of disturbances caused by coastal constructions on spatial structure, growth dynamics and photosynthesis of the seagrass *Posidonia oceanica*. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 1523-1533.

Samantaray, S., Rout, G.R., Das, P. 2001. Heavy metal and nutrient concentration in soil and plants growing on a metalliferous chromite minespoil. *Environmental Technology*, 22: 1147-1154.

Sanchiz, C., García-Carrascosa, A.M., Pastor, A. 2000. Heavy metal contents in soft-bottom marine macrophytes and sediments along the Mediterranean coast of Spain. *Marine Ecology*, 21: 1-16.

Schlacher-Hoenlinger, M.A., Schlacher, T.A. 1998. Accumulation, contamination and seasonal variability of trace metals in the coastal zone – patterns in a seagrass meadow from the Mediterranean. *Marine Biology* 131: 401-410.

Schlekat, C.E., Decho, A.W., Chandler, G.T. 1998. Sorption of cadmium to bacterial extracellular polymeric sediment coatings under estuarine conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17: 1867-1874.

Schlekat, C.E., Decho, A.W., Chandler, G.T. 2000. Bioavailability of particle-associated silver, cadmium and zinc to the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus* through dietary ingestion. *Limnology and Oceanography*, 45: 11-21.

Simoneau, J. 1973. *Mar Menor; Evolution Sedimentologique et Geochimique recente du remplissage*. These présenté à l'Université Paul Sebatier de Toulouse (Sciences). France.

Suh, J.H., Yun, J.W., Kim, D.S. 1999. Effect of extracellular polymeric substances (EPS) on Pb²⁺ accumulation by *Aureobasidium pullulans*. *Bioprocess Engineering*, 21: 1-4.

Sundelin, B., Eriksson, A. 2001. Mobility and bioavailability of trace metals in sulfidic coastal sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 748-756.

ter Braak, C.J.F. 1986. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology*, 67: 1167-1179.

ter Braak, C.J.F. 1995. Ordination. En: Jongman, R.H.G., ter Braak, C.J.F., van Tongeren, O.F.R. (Eds.), *Data Analysis in Community and Landscape Ecology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 91-173.

ter Braak, C.J.F., Smilauer, P. 1998. CANOCO Reference Manual and User's Guide to Canoco for Windows Software for Canonical Community Ordination (version 4). Microcomputer Power, Ithaca, NY.

Terrados, J. 1991. *Crecimiento y producción de las praderas de macrofitos del Mar Menor, Murcia*. Ph. D. Thesis. University of Murcia.

Terrados, J., Ros, J.D. 1992. Growth and primary production of *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson in a Mediterranean coastal lagoon. *Aquatic Botany*, 43: 63-74.

Verdardo, D.J., Forelich, P.N. Mc Intyre, A. 1990. Determination of organic carbon and nitrogen in marine sediments using the Carlo Erba NA-1500 analyzer. *Deep Sea Research*, 37: 157-165.

Ward, T.J. 1989. The accumulation and effects of metals in seagrass habitats. En: A. W. D. Larkum, A. J. U. McComb, & S. A. Shepherd (Eds.), *Biology of seagrasses* (pp 797-820). Elsevier, Amsterdam.

Yamamuro, M. 1999. Importance of epiphytic cyanobacteria as food sources for heterotrophs in a tropical seagrass bed. *Coral Reefs*, 18: 263-271.

Capítulo IV

Composición isotópica y transferencia trófica de metales en comunidades impactadas por la minería en el Mar Menor

Capítulo IV. Composición isotópica y transferencia trófica de metales en comunidades impactadas por la minería del Mar Menor

1. Introducción

La bioacumulación se define como la incorporación por parte de un organismo de un contaminante químico desde los componentes bióticos o abióticos del medio (Gray, 2002). Normalmente se trata de un buen indicador de la exposición de los organismos en ecosistemas contaminados, siendo de particular importancia en el caso de contaminación por metales ya que estos no son metabolizados. Sin embargo, al estar influenciada por múltiples rutas de exposición y al verse la biodisponibilidad de los metales afectada por aspectos geoquímicos, su estudio suele generalmente ser una cuestión muy compleja (Luoma y Rainbow, 2005).

La biomagnificación se suele definir como la transferencia de un contaminante químico desde el alimento hasta un organismo, dando como resultado concentraciones de contaminantes mayores en los organismos que en las fuentes de las que se alimentan, y por lo tanto mayores concentraciones cuanto mayor sea el nivel trófico en el que se encuentre un organismo dentro de la cadena alimenticia (Connell, 1989). Dicho concepto se popularizó con el libro de Rachel Carson “Primavera silenciosa” hace cuatro décadas y fue demostrado en ecosistemas terrestres al observar reducciones en las poblaciones de rapaces debido a la acumulación de DDT. A pesar de ello, en la década de los 70 se comenzó a sugerir que este fenómeno no se produciría en sistemas marinos, ya que las cadenas alimenticias marinas eran más abiertas que las terrestres (Isaacs, 1973). Incluso hoy en día se trata de una cuestión polémica, ya que no existe una regla general que prediga cuando un metal es biomagnificado a lo largo de una red trófica marina o no (Gray, 2002).

Los invertebrados bentónicos marinos presentan gran flexibilidad tanto en su tipo de alimentación como en sus hábitos alimenticios, en función principalmente de la disponibilidad de recursos alimenticios (Kaag *et al.*, 1997). Un gran número de ellos poseen hábitos oportunistas, de manera que tanto sus dietas como sus niveles tróficos pueden cambiar a lo largo de su período de crecimiento y, por lo tanto, variar de un individuo a otro dentro de una misma especie (Triple y Beamish, 1993). De manera que es muy difícil asignar de forma teórica un nivel trófico a un organismo específico, lo cual resulta necesario cuando se trata de comparar relaciones tróficas entre distintas comunidades. Por lo tanto, el conocimiento de las relaciones tróficas interespecíficas dentro de una comunidad, así como las posiciones tróficas de las especies dentro de las cadenas tróficas, pueden ayudar en la interpretación de las concentraciones de contaminantes en organismos marinos y su posible biomagnificación o biodilución.

De forma general, los investigadores que estudian la acumulación de metales por invertebrados acuáticos con respecto a su alimentación o a su posición trófica (p. e. Farag *et al.*, 1998; Barwick y Maher, 2003) han establecido dicha posición basándose en el conocimiento de sus dietas según la literatura general. Han existido, por lo tanto, pocas oportunidades para diferenciar especies de acuerdo con sus niveles tróficos de dieta reales, ya que han sido clasificadas en sentido amplio como detritívoras, herbívoras o depredadoras. No obstante, recientemente se está empleando recientemente con éxito el estudio de las proporciones de isótopos estables (carbono y nitrógeno) en ecosistemas costeros, con el fin de explorar las relaciones tróficas y las rutas de la materia orgánica dentro de las redes tróficas (Yamamuro 1999; Kharlamenko *et al.*, 2001, Vizzini y Mazzola, 2003; Vizzini *et al.*, 2005; Moncreiff y Sullivan, 2001; Kwak y Zedler, 1997). Mediante el uso de los isótopos del nitrógeno, es posible determinar de forma más precisa los niveles tróficos ocupados por los organismos (DeNiro y Epstein, 1981; Fry, 1991). La consistencia en el enriquecimiento de nitrógeno en cada transferencia trófica proporciona una medida cuantitativa apropiada de la posición trófica relativa dentro de una red trófica. Esta puede ser correlacionada con las concentraciones de contaminantes y estimar así la asimilación de metales y las tasas de biomagnificación (Power *et al.*, 2002). En contraposición, ya que la proporción de los isótopos de carbono se mantiene relativamente constante en la transferencia trófica, puede ser empleada para diferenciar la importancia relativa que tiene cada fuente de carbono para los organismos en las redes tróficas (DeNiro y Epstein, 1981). Al mismo tiempo, debido a que algas pelágicas y bentónicas muestran distintas señales de carbono (Hecky y Hesslein, 1995) y que el carbono orgánico del fitoplancton marino es más pesado isotópicamente que el carbono orgánico terrestre (Fry y Sherr, 1984), pueden ser usados para diferenciar la relativa importancia del origen del carbono orgánico en redes tróficas. De hecho, recientemente, el análisis de isótopos está siendo utilizado con eficacia para vincular las posiciones tróficas determinadas isotópicamente con la concentración de metales en peces (p. e. Cabana y Rasmussen, 1994; Campbell *et al.*, 2005; Kidd *et al.*, 1995) e invertebrados de agua dulce y marinos (Camusso *et al.*, 1999; Quinn *et al.*, 2003).

El Mar Menor es una de las mayores lagunas costeras del área del Mediterráneo. Se trata de una zona muy sensible con altos valores ecológicos que posee un gran número de figuras de protección ambiental en los ámbitos regional, nacional e internacional. A pesar de dicho estatus de protección, la laguna sufre importantes amenazas ambientales. Una de estas amenazas, con un origen histórico, está relacionada con las actividades mineras desarrolladas en la Sierra de Cartagena-La Unión, que han causado la contaminación por metales pesados de los sedimentos de la laguna (Simoneau 1973; De Leon *et al.*, 1982; Marín-Guirao *et al.*, 2005a). Aunque todas las actividades mineras cesaron a principios de los años noventa, en la actualidad los residuos mineros continúan entrando en la laguna como descargas en forma de pulsos a través de las ramblas de la zona durante los fenómenos de lluvias torrenciales características de la zona. Como se ha visto en el capítulo

anterior, se han encontrado altas concentraciones de metales en la fanerógama marina *Cymodocea nodosa* que crece en los sedimentos contaminados y en el biofilm (tapete microbiano) que se desarrolla sobre sus hojas, sugiriendo la potencial transferencia trófica de los metales y su importancia en la estructuración de las comunidades asociadas con dichas praderas.

En el presente capítulo, se investigan las variaciones espaciales en las concentraciones de metales (Zn, Pb, Cu y Cd) y el contenido de isótopos estables de carbono y nitrógeno de los sedimentos de las hojas de fanerógama, del biofilm, invertebrados y peces) en dos zonas de la cubeta sur de la laguna diferenciadas por la influencia y distancia a la zona de descarga de los residuos mineros. Los objetivos de este capítulo son: i) comparar los contenidos en metales y la composición isotópica entre las dos comunidades de la laguna; ii) emplear los datos de isótopos para valorar las interacciones tróficas y para ayudar en la interpretación de las diferencias de acumulación de metales entre ambas redes tróficas; iii) evaluar la influencia del nivel trófico en la concentración de metales en los organismos lagunares; y iv) evaluar el origen de los metales contenidos en los organismos mediante su relación con los niveles de isótopos estables de carbono.

2. Material y Métodos

2.1. Área de estudio y puntos de muestreo

El Mar Menor es un sistema dominado por macrófitos siendo las principales especies la fanerógama *Cymodocea nodosa* y el alga *Caulerpa prolifera*. La laguna es hipersalina con niveles de salinidad (42–47 ups) mayores que el Mar Mediterráneo debido a las escasas precipitaciones (media de 300 mm por año) y a las altas tasas de evaporación (temperatura media anual de 18°C). Se encuentra aislada del Mediterráneo por la Manga, una barra arenosa de 22 km de largo localizada en su lado oeste, atravesada por cinco canales muy someros. Las ramblas que vierten sus aguas en la laguna se encuentran en la parte interna de la laguna, principalmente su lado sudoeste, y aunque se mantienen secas durante la mayoría del año, cuando ocurren lluvias torrenciales suelen descargar agua dulce en la laguna junto con residuos mineros. Las comunidades estudiadas se encuentran en la cubeta sur (figura 1). La estación de El Beal fue seleccionada en frente de desembocadura de la rambla de El Beal, la más importante de las que drenan la sierra minera. La zona litoral adyacente a esta estación es un extenso humedal (Lo Poyo), que presenta grandes superficies cubiertas por plantas de marisma, principalmente *Phragmites australis* y *Sarcocornia fruticosa*. La otra estación estudiada se corresponde con la Isla del Ciervo, situada en el lado oeste de la laguna a una distancia aproximada de 5 km de la estación del Beal. El área litoral adyacente a esta comunidad se trata de una isla rocosa que no presenta vegetación densa, formada principalmente por palmitos (*Chamaerops humilis*). En ambas

estaciones se encuentran praderas de *Cymodocea nodosa* con presencia de *Caulerpa prolifera* junto con fondos arenosos sin vegetar.

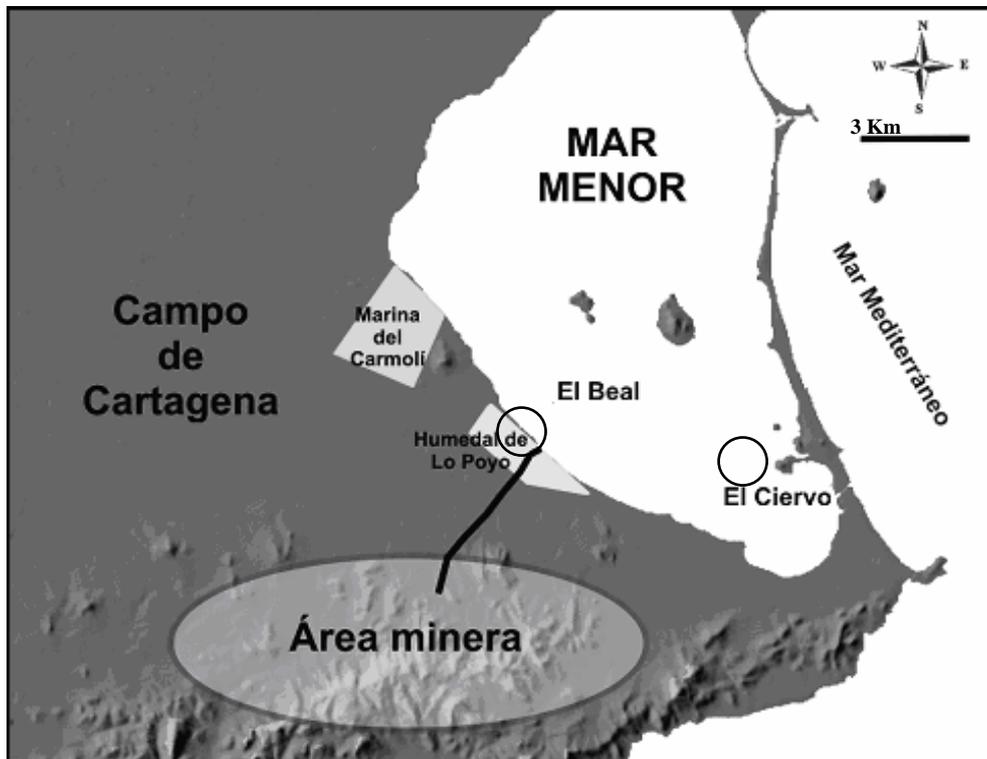


Figura 1.- Mapa de la zona de estudio y localización de las estaciones de muestreo.

2.2. Recolección y procesado de las muestras

Todas las muestras fueron recogidas a lo largo de marzo del 2004. Las muestras de sedimento fueron tomadas con la ayuda de una draga de mano, tomando los 3 cm superficiales del sedimento. Al llegar al laboratorio, las hojas de *C. nodosa* fueron raspadas con un portaobjetos para separar el material particulado, las sustancias poliméricas extracelulares y los epibiontes que forman el biofilm presente en la superficie de las mismas. La infauna muestreada se obtuvo tamizando sedimentos y el resto de los macroinvertebrados fueron capturados mediante buceo con la ayuda de una red de mano. Los peces fueron capturados con una red de arrastre manual de pescadores. Las muestras biológicas fueron transportadas al laboratorio en contenedores refrigerados y los individuos se mantuvieron con vida durante la noche en agua limpia filtrada para permitir la evacuación de sus contenidos intestinales, posteriormente fueron congeladas. Tras la disección de la concha de los moluscos y de la cutícula en los crustáceos, los tejidos fueron tratados con HCl al 6% para eliminar cualquier resto de carbonatos de las conchas o de las cutículas y enjuagados con agua destilada. En el caso de los isópodos, los organismos enteros fueron lavados con HCl (6%) y enjuagados con agua destilada. Los peces capturados

fueron medidos y diseccionados, tomando solo el músculo dorsal para los análisis. Se emplearon muestras compuestas (al menos 5 individuos) para los análisis de macrófitos, invertebrados y peces. Todas las muestras fueron secadas en horno a 60° C durante tiempos variables entre las 24 y 72 h en función de su biomasa. Las muestras secas eran posteriormente molidas con un mortero de mano antes de los análisis de metales e isótopos.

2.3. Análisis de los sedimentos

Los análisis de sedimentos se realizaron en triplicado. La distribución del tamaño de las partículas fue determinada mediante el tamizado mecánico en seco. Las muestras de sedimentos secados en el horno eran tamizadas a través de una columna de tamices con un rango de luces de maya comprendidos entre los 2000 y 63 μm . El contenido en materia orgánica del sedimento fue determinado como el porcentaje de pérdida de peso tras la ignición de sedimentos secos a 450° C durante 6 h. A la fracción de sedimento menor a 63 μm se le aplicó una digestión débil con el fin de extraer aquellos metales que se encontraban ligeramente unidos a los mismos intentando simular las digestiones ácidas intestinales de los organismos de acuerdo con Luoma (1989). Los recipientes de teflón empleados para las extracciones eran lavados con agua regia y puestos a remojo y enjuagados con agua desionizada. Aproximadamente 0,3 g de sedimento fueron digeridos a temperatura ambiente durante dos horas en HCl 0,6 N, en un agitador orbital. Inmediatamente después el sobrenadante era filtrado a través de filtros de nitrato de celulosa de 0,45 μm y almacenados en botellas de HDPE hasta su análisis. Los metales fueron analizados en el filtrado con un espectrómetro óptico de emisión (Optima 2000 DV-Perkin-Elmer).

2.4. Análisis de metales de las muestras biológicas

Para el análisis de metales contenidos en las muestras biológicas se digirieron 0,10-0,20 g de tejidos secos con una mezcla de $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O}$ en proporciones 5:3:2 ml. Tanto el ácido nítrico como el peróxido empleados fueron de calidad suprapur (Merk®). Las digestiones se realizaron en recipientes de teflón en un horno microondas (Milestones, MSEL ETHOS SEL) bajo condiciones de presión controladas. Las soluciones resultantes eran posteriormente llevadas a 25 ml con agua desionizada de alta calidad (Milli-Q). Las concentraciones de Zn, Pb, Cu y Cd fueron analizadas en triplicado por espectrometría de emisión óptica (ICP-OES), o por espectrometría de masas (ICP-MS) en el caso de presentar concentraciones bajas (< 0,5 mg/l).

El control de calidad de los análisis incluyó: muestras por duplicado introducidas al azar en cada serie de análisis, la inclusión de blancos al principio y cada 6 muestras, el análisis periódico de los estándares empleados para la calibración, y finalmente, se evaluaron los métodos analíticos empleados con materiales de referencia certificados (Nist 1557b y BCR 186), obteniendo una precisión analítica del 15%.

2.5. Análisis de isótopos estables

Los análisis de las relaciones de isótopos estables de carbono y nitrógeno y el contenido en carbono y nitrógeno se realizaron en alícuotas de 0,15 g de tejido biológico y muestras de sedimentos empleando un espectrómetro de masas de flujo continuo (Delta Plus, Finnigam MAT). La proporción de isótopos estables fue expresada en notación delta como desviaciones en partes por mil del nitrógeno atmosférico y del fósil “Pee Dee Belemnite” de Viena (vBPD), siendo estos los estándares internacionales para el nitrógeno y el carbono respectivamente, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\delta X = (R_{\text{muestra}} / R_{\text{estándar}} - 1) 1000$$

donde $X = {}^{13}\text{C}$ o ${}^{15}\text{N}$ y $R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$ o ${}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$. La precisión de las medidas fue de aproximadamente 0,2 ‰ para $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$.

2.6. Análisis de los datos

Las diferencias interespecificas en las concentraciones de metales dentro de una comunidad y las diferencias intraespecificas entre las dos estaciones estudiadas fueron exploradas mediante un análisis de la varianza (ANOVA). Los datos de metales fueron transformados con el logaritmo para normalizar su distribución, y posteriormente se realizaron regresiones lineares simples con las concentraciones de metales en los organismos frente al nivel trófico (indicado por $\delta^{15}\text{N}$) y frente a la influencia terrestre (indicada por $\delta^{13}\text{C}$) (Programa Statistica v6.0). Se emplearon técnicas de clasificación y ordenación para examinar la agrupación de especies en función de sus concentraciones de metales. Dichas clasificaciones implicaban el uso de análisis Cluster. Los resultados de dicho análisis eran representados mediante una ordenación de escalamiento multidimensional (MDS) para examinar patrones (Primer v5.0)

3. Resultados

3.1. Sedimentos

La digestión débil aplicada a la fracción fina de los sedimentos (<63 μm) mostró al plomo como el metal que presentaba las mayores disponibilidades en la estación de El Beal, mientras que en la de El Ciervo le correspondía al zinc. En general las concentraciones de metales fueron un orden de magnitud mayores en El Beal que en El Ciervo, excepto el cobre que presentó concentraciones similares entre las dos estaciones. La distribución del tamaño de grano de los sedimentos también presentó diferencias entre ambas estaciones, y aunque las dos estaban principalmente compuestas por arenas finas y medias, el contenido en

limos-arcillas fue claramente mayor en El Beal, siendo también mayor en esta estación el porcentaje de materia orgánica. Sin embargo esta estación presentó menores valores de $\delta^{13}\text{C}$, aunque el porcentaje de carbón de sus sedimentos fue ligeramente mayor. Por otro lado, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en esta estación fueron claramente mayores, al igual que el porcentaje de nitrógeno siendo 1,4% mayor que en El Ciervo (Tabla 1).

Tabla 1.- Resumen de los parámetros físico-químicos de los sedimentos.

| Parámetros del sedimento | Beal | Ciervo |
|--|-----------------|-----------------|
| Zn ($\mu\text{g/g}$) | 3858 \pm 870 | 405 \pm 163 |
| Pb ($\mu\text{g/g}$) | 4673 \pm 310 | 290 \pm 55 |
| Cu ($\mu\text{g/g}$) | 58,6 \pm 0,1 | 43,5 \pm 3,8 |
| Cd ($\mu\text{g/g}$) | 16,0 \pm 0,3 | 1,3 \pm 0,1 |
| gravas (%) | 0,1 \pm 0,1 | 6,4 \pm 6,7 |
| arenas (%) | 82,3 \pm 22,8 | 92,8 \pm 6,5 |
| arcillas (%) | 17,7 \pm 8,9 | 0,7 \pm 0,3 |
| Materia orgánica (%) | 5,08 \pm 1,1 | 2,20 \pm 0,5 |
| $\delta^{13}\text{C}$ | -9,7 \pm 0,01 | -7,0 \pm 0,06 |
| C (%) | 41,1 \pm 0,2 | 38,3 \pm 0,3 |
| $\delta^{15}\text{N}$ | 8,8 \pm 0,05 | 3,1 \pm 0,03 |
| N (%) | 4,4 \pm 0,0 | 3,0 \pm 0,03 |

3.2. Contenido metales en las muestras biológicas

Las concentraciones de metales en productores primarios, invertebrados y peces se muestran en la tabla 2. De forma general, se pueden observar mayores concentraciones de metales en El Beal, pudiéndose ordenar de mayores a menores concentraciones de la siguiente manera: Zn > Pb > Cu > Cd, aunque esto depende en concreto de la especie y el metal analizados.

El biofilm en ambas estaciones presentó mayores concentraciones de zinc y plomo que los sedimentos (digestión débil), siendo dichas diferencias mayores en la estación de El Beal; y siendo las concentraciones un orden de magnitud mayor que las de El Ciervo. Los productores primarios *C. nodosa* y el biofilm presentaron mayores concentraciones de plomo en ambas estaciones, mientras que con respecto a los sedimentos, el plomo presentó mayores niveles solo en El Beal.

De forma contraria, los dos bivalvos suspensívoros *Venerupis aurea* y *Cerastoderma glaucum* concentraron en sus tejidos el primero más plomo y el segundo más zinc, siendo las concentraciones en los organismos de El Beal mayores que las de El Ciervo excepto en el caso del plomo en *V. aurea*. Otro organismo que presentó mayores concentraciones de plomo en relación con el zinc fue el gasterópodo ramoneador *Goniostoma oblonga*.

Las concentraciones de zinc determinadas en el suspensivoro epibéntico *Ostrea edulis* en ambas estaciones, fueron las mayores de todas las muestras analizadas, siendo al menos dos ordenes de magnitud mayores que las del resto de metales analizados. Otros organismos que también presentaron elevadas concentraciones de zinc fueron los predadores-carroñeros *Hexaplex trunculus* y *Cyclope neritea*, ambos gasterópodos, siendo las concentraciones en El Beal el doble de las de El Ciervo. Por su parte las concentraciones de plomo fueron menores que las obtenidas de los bivalvos *V. aurea* y *C. glaucum* o el gasterópodo *G. oblonga*.

Al contrario de los invertebrados que presentaron amplios rangos de concentraciones y gran variabilidad entre estaciones y especies, las concentraciones de metales en los músculos de todas las especies de peces fueron similares dentro de cada estación. Las concentraciones de zinc fueron mayores que las de plomo, siendo en El Ciervo entre la mitad y la tercera parte menores que las de El Beal. En el caso del plomo las mayores diferencias entre estaciones corresponden a las especies *Sygnatus abaster* (41,91 y 3,96 µg/g en Beal y Ciervo respectivamente) y *Pomatoschistus marmoratus* (16,76 y 0,89 µg/g en Beal y Ciervo respectivamente). El músculo del crustáceo *Palaemon serratum* mostró concentraciones de metales similares a las encontradas en los peces, excepto para el cobre que presentó concentraciones mayores. En el caso del zinc y el cobre las concentraciones fueron similares entre las estaciones.

Se encontraron diferencias interespecíficas significativas (ANOVA, $p < 0,001$) en cada estación para los cuatro metales analizados. Dentro de cada comunidad, los análisis *post-hoc* no indicaron diferencias significativas (test de Tukey, $p < 0,05$) entre los músculos de peces y del crustáceo, excepto en el caso del cobre en ambas estaciones. Para los cuatro metales, todas las especies analizadas presentaron diferencias significativas (ANOVA, $p < 0,05$) entre estaciones excepto para el cobre en el músculo de *Pomatoschistus marmoratus*.

Las concentraciones de cadmio en productores primarios, invertebrados y peces se encontraron dentro de un estrecho rango ($< 0,01$ - $4,71$ µg/g), con la excepción del sedimentívoro *Sipunculus nudus* que mostró niveles elevados en la estación influenciada por las ramblas ($24,0$ µg/g). En ambas estaciones las mayores concentraciones correspondieron con el gasterópodo depredador *Hexaplex trunculus*. El cadmio acumulado en el músculo de peces fue menor de 1 µg/g en todas las especies analizadas.

Las concentraciones de cobre en invertebrados de ambas estaciones mostraron patrones y niveles similares. Excepto la ostra, los bivalvos de ambas estaciones presentaron las menores concentraciones de cobre, siendo el gasterópodo *H. trunculus* el molusco que presentó las mayores concentraciones. Los cangrejos *Brachinotus sexdentatus* en El Beal y *Carcinus maenas* en El Ciervo también presentaron elevados y similares valores de cobre ($139,0$ y $104,9$ µg/g respectivamente).

Tabla 2.- Resumen de los análisis de metales en las muestras biológicas de las comunidades de El Beal y El Ciervo. Todas las concentraciones están dadas en μg metal/g peso de tejido seco. Entre paréntesis los acrónimos de las especies con los que son representados en las figuras.

| Especie (Acron.) | Tamaño (cm) | El Beal | | | | El Ciervo | | | |
|---|-------------|-------------------|-----------------|-----------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|-----------------|
| | | Zn | Pb | Cu | Cd | Zn | Pb | Cu | Cd |
| Productores primarios | | | | | | | | | |
| <i>Cymodocea nodosa</i> (Cnod) | | 268,9 \pm 2,2 | 550,9 \pm 2,8 | 16,7 \pm 0,6 | 0,19 \pm 0,3 | 48,3 \pm 0,32 | 174,7 \pm 0,47 | 4,4 \pm 0,04 | 0,11 \pm 0,01 |
| Biofilm (Biof) | | 7047,5 \pm 99 | 8972 \pm 84,9 | 130,1 \pm 9,4 | 3,63 \pm 0,17 | 384,1 \pm 22,9 | 1952,0 \pm 65,7 | 7,1 \pm 2,0 | 1,02 \pm 0,1 |
| Invertebrados | | | | | | | | | |
| <i>Ostrea edulis</i> (Oedu) | 6-9 | 9411,4 \pm 46,5 | 71,3 \pm 2,2 | 103,5 \pm 0,7 | 2,18 \pm 0,03 | 1907,3 \pm 50,7 | 28,6 \pm 0,6 | 128,0 \pm 0,5 | 0,89 \pm 0,01 |
| <i>Cerastoderma glaucum</i> (Cgla) | 1-2 | 1108,6 \pm 39 | 647,4 \pm 21 | 13,4 \pm 0,03 | 1,48 \pm 0,01 | 152,1 \pm 59,2 | 66,2 \pm 0,22 | 5,8 \pm 0,04 | 0,53 \pm 0,1 |
| <i>Venerupis aurea</i> (Vaur) | 1-2 | 305,9 \pm 0,8 | 422,3 \pm 1,0 | 18,0 \pm 1,1 | 3,62 \pm 0,1 | 228,6 \pm 1,5 | 886,5 \pm 29,0 | 11,7 \pm 0,1 | 0,79 \pm 0,01 |
| <i>Sipunculus nudus</i> (Snud) | 8-10 | 1872,1 \pm 52,1 | 308,3 \pm 4,2 | 25,5 \pm 0,3 | 24,03 \pm 0,1 | 18,6 \pm 0,10 | 58,7 \pm 0,682 | N.A. | 0,22 \pm 0,00 |
| <i>Goniostoma oblonga</i> (Gobl) | <1 | 630,3 \pm 0,8 | 249,7 \pm 0,3 | 69,3 \pm 0,7 | 1,25 \pm 0,01 | 200,4 \pm 1,1 | 147,8 \pm 1,5 | 36,8 \pm 0,1 | 0,80 \pm 0,01 |
| <i>Cymodoce truncate</i> (Ctru) | \approx 1 | 620,8 \pm 9,6 | 394,6 \pm 7,9 | 95,9 \pm 0,6 | 0,42 \pm 0,00 | 186,5 \pm 0,5 | 50,8 \pm 0,11 | 28,6 \pm 0,6 | 0,09 \pm 0,01 |
| <i>Hexaplex trunculus</i> (Htru) | 3,5-5 | 2496,4 \pm 60,9 | 274,8 \pm 7,9 | 205,1 \pm 9,0 | 2,99 \pm 0,07 | 645,6 \pm 6,1 | 42,4 \pm 0,7 | 201,1 \pm 1,5 | 2,88 \pm 0,06 |
| <i>Cyclope neritea</i> (Cner) | | 2055,8 \pm 24,7 | 221,2 \pm 2,3 | 108,4 \pm 0,6 | 2,26 \pm 0,003 | 1217,3 \pm 7,3 | 42,9 \pm 0,11 | 28,6 \pm 0,6 | 0,09 \pm 0,00 |
| <i>Brachinotus sexdentatus</i> (Bsex) | 3-4 | 204,7 \pm 4,4 | 105,4 \pm 0,5 | 139,0 \pm 0,4 | 0,59 \pm 0,002 | - | - | - | - |
| <i>Carcinus maenas</i> (Cmae) | 6-8 | - | - | - | - | 132,0 \pm 0,3 | 37,7 \pm 0,1 | 105,5 \pm 0,3 | 1,09 \pm 0,02 |
| <i>Palaemon serratum</i> (Pser) | 3-3,5 | 23,3 \pm 0,07 | 4,6 \pm 0,03 | 49,5 \pm 0,3 | 0,03 \pm 0,00 | 20,5 \pm 0,02 | 0,9 \pm 0,002 | 51,5 \pm 0,29 | 0,02 \pm 0,00 |
| Peces | | | | | | | | | |
| <i>Gobius sp.</i> (Gobi) | 7-9 | 46,8 \pm 1,3 | 1,82 \pm 0,1 | 4,6 \pm 0,1 | 0,11 \pm 0,01 | 18,9 \pm 0,1 | 2,32 \pm 0,01 | 18,64 \pm 0,1 | 0,04 \pm 0,00 |
| <i>Salaria Pavo</i> (Spav) | 8-10 | 88,8 \pm 0,9 | 2,93 \pm 0,2 | 2,46 \pm 0,2 | 0,11 \pm 0,00 | 27,7 \pm 0,1 | 2,34 \pm 0,02 | 3,88 \pm 0,03 | 0,11 \pm 0,00 |
| <i>Syngnatus abaster</i> (Saba) | 7-8 | 51,5 \pm 0,1 | 43,5 \pm 0,1 | 21,2 \pm 0,2 | 0,09 \pm 0,00 | 35,7 \pm 0,18 | 3,57 \pm 0,02 | 3,65 \pm 0,01 | 0,05 \pm 0,00 |
| <i>Symphodus sp.</i> (Symp) | 7 | 11,05 \pm 0,1 | 4,03 \pm 0,1 | 1,0 \pm 0,01 | 0,01 \pm 0,00 | - | - | - | - |
| <i>Liza sp.</i> (Liza) | 6-7 | 39,2 \pm 0,4 | 3,97 \pm 0,1 | 2,40 \pm 0,03 | 0,02 \pm 0,00 | 16,6 \pm 0,16 | 2,99 \pm 0,01 | 1,56 \pm 0,02 | 0,02 \pm 0,00 |
| <i>Atherina Boyeri</i> (Aboy) | 7 | 47,9 \pm 0,3 | 3,23 \pm 0,1 | 1,32 \pm 0,1 | 0,01 \pm 0,00 | 33,38 \pm 0,16 | 0,94 \pm 0,00 | 1,79 \pm 0,01 | 0,01 \pm 0,00 |
| <i>Pomatoschistus marmoratus</i> (Pmar) | 4-5 | 48,6 \pm 0,1 | 16,67 \pm 0,1 | 1,84 \pm 0,1 | 0,03 \pm 0,00 | 25,69 \pm 0,08 | 1,11 \pm 0,01 | 1,95 \pm 0,01 | 0,02 \pm 0,00 |
| <i>Sparus aurata</i> (Saur) | 4,5-5,5 | 24,5 \pm 0,2 | 1,67 \pm 0,1 | 2,80 \pm 0,03 | 0,05 \pm 0,00 | 16,34 \pm 0,01 | 0,45 \pm 0,001 | 1,67 \pm 0,012 | 0,01 \pm 0,00 |
| <i>Diplodus punctazzo</i> (Dpun) | 4,5-5,5 | - | - | - | - | 14,32 \pm 0,03 | 0,39 \pm 0,001 | 2,13 \pm 0,01 | 0,02 \pm 0,00 |

La ordenación MDS (figura 2) puso de manifiesto dos grupos principales, el de los invertebrados y el de los peces. La divergencia entre estos dos grupos indica que las concentraciones de metales entre los peces tienden a ser similares sin tener en cuenta las especies, siendo sin embargo notablemente distintas de las concentraciones en los invertebrados. El MDS parece indicar un gradiente de concentración de metales desde la esquina superior derecha presentando las menores concentraciones, a la inferior izquierda con los mayores valores.

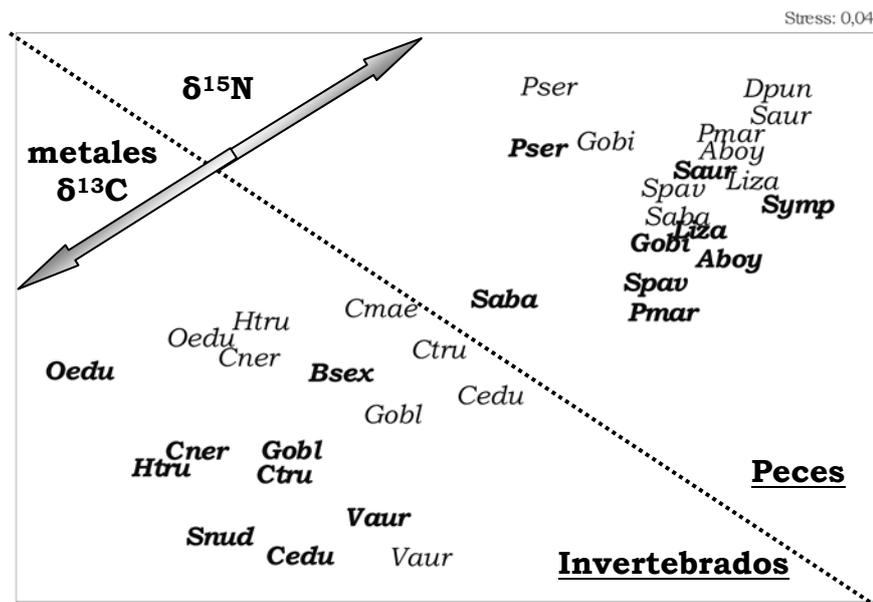


Figura 2.- Ordenación MDS de las especies analizadas de acuerdo con su contenido en metales (Zn, Pb, Cu y Cd). Especies de El Beal en negrita y especies del Ciervo sin resaltar.

3.3. Isótopos estables

Con respecto a la composición isotópica obtenida de los invertebrados de El Beal, los mayores valores de $\delta^{15}\text{N}$ correspondieron con el decápodo *Palaemon serratum* ($11,6 \pm 0,05$) y con el gasterópodo (depredador-carroñero) *Cyclope neritea* ($7,9 \pm 0,02$), mientras que el bivalvo filtrador *Ostrea edulis* presentó los menores valores ($4,3 \pm 0,04$). En el caso de los invertebrados de la Isla de El Ciervo, los mayores valores de $\delta^{15}\text{N}$ fueron mostrados por las dos mismas especies *P. serratum* ($8,7 \pm 0,01$) y *C. neritea* ($6,1 \pm 0,07$), mientras que los menores valores fueron mostrados por el gasterópodo ramoneador *Goniostoma oblonga* ($2,3 \pm 0,11$).

En relación a los peces, presentaron los mayores y menores valores de $\delta^{15}\text{N}$ en ambas comunidades las especies *Pommatichistus marmoratus* ($13,3 \pm 0,2$ en El Beal y $8,5 \pm 0,06$ en El Ciervo) y *Liza sp* ($10,0 \pm 0,01$ en El Beal y $7,0 \pm 0,05$ en El Ciervo) respectivamente.

En general, las comparaciones intraespecíficas de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre ambas comunidades indicaron mayores valores en las especies de El Beal con respecto a las de El Ciervo (media $2,7 \pm 1,4$) presentando los dos productores primarios las mayores diferencias (media $4,7 \pm 1,5$). La comunidad de El Beal también presentó un rango más amplio de valores de $\delta^{15}\text{N}$ ($4,3-13,3$) en contraste con la de El Ciervo ($2,3-8,7$). Y mientras que en esta última estación, la fanerógama *Cymodocea nodosa* y el biofilm ocuparon las posiciones tróficas más bajas en conformidad con sus valores de $\delta^{15}\text{N}$ ($3,1 \pm 0,03$ y $3,8 \pm 0,03$ respectivamente), en el caso de la de El Beal ambos ocuparon una posición intermedia ($8,8 \pm 0,05$ y $7,5 \pm 0,03$ respectivamente) (figura 3). Cambios similares a los presentados por los productores primarios fueron también observados para el gasterópodo ramoneador *Goniostoma oblonga*. Por otro lado, los suspensívoros (*Cerastoderma glaucum*, *Ostrea edulis* y *Venerupis aurea*) presentaron las posiciones tróficas más bajas, siendo similares en ambas comunidades. Las posiciones tróficas intermedias fueron ocupadas por los depredadores *Hexaplex trunculus* y *Cyclope neritea*, y los cangrejos *Carcinus maenas* en El Ciervo y *Brachinotus sexdentatus* en El Beal. Finalmente, las mayores posiciones tróficas correspondieron a los peces y al decápodo *Palaemon serratum*.

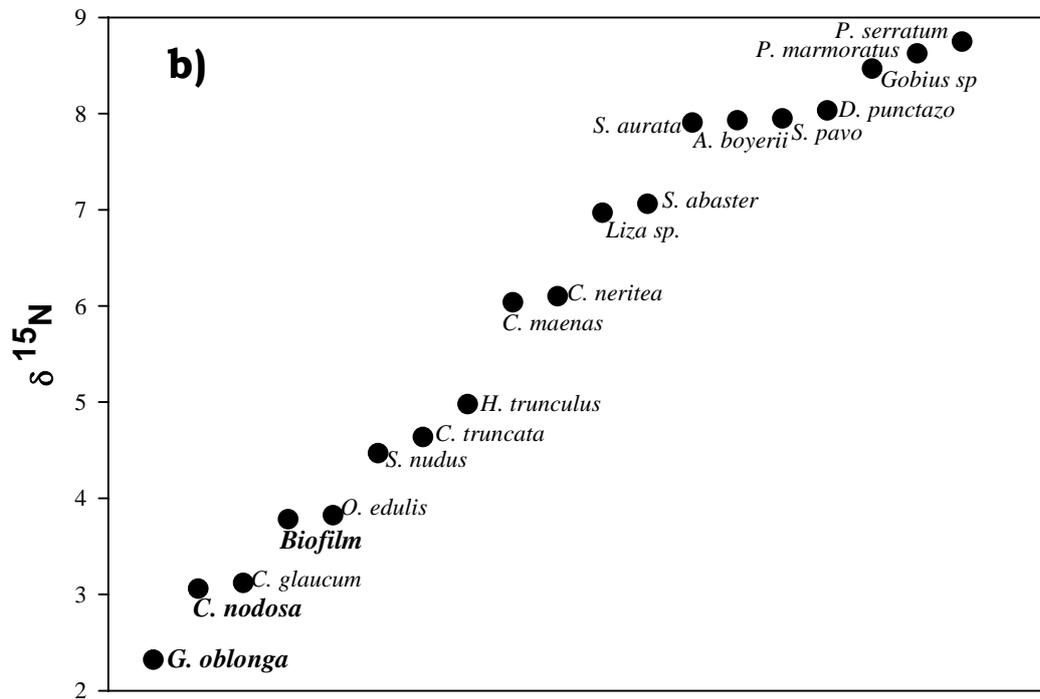
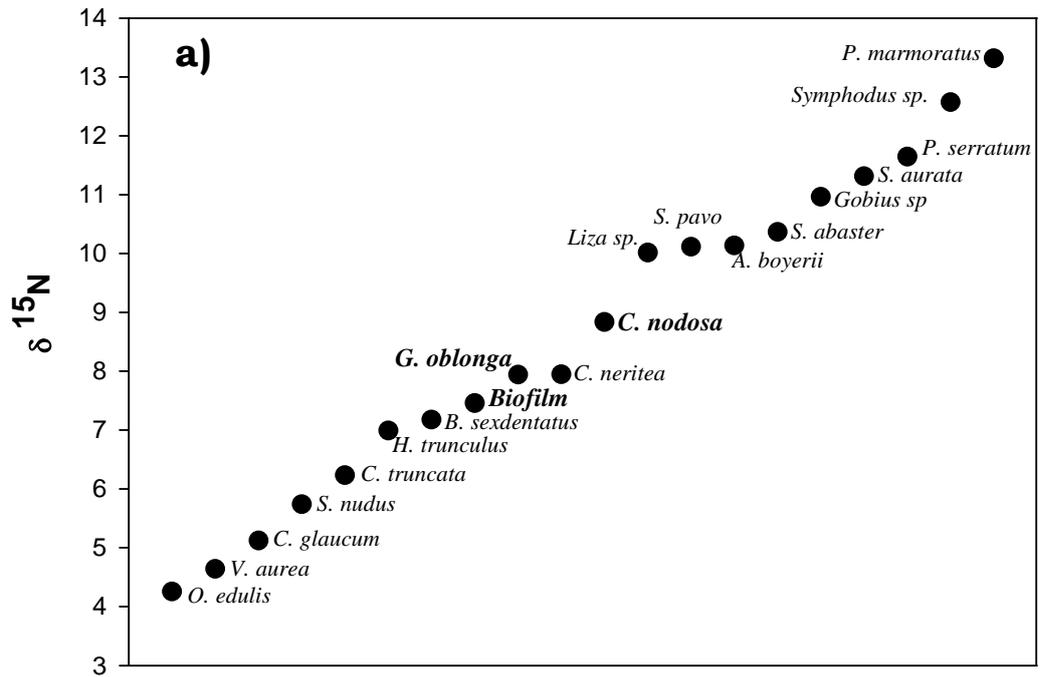


Figura 3.- Representación de los valores de δ¹⁵N en orden ascendente de: a) Comunidad de El Beal y b) Comunidad de la Isla de El Ciervo.

Con respecto a los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en invertebrados, los valores más bajos fueron mostrados por *O. edulis* en ambas comunidades ($-20,9 \pm 0,04$ en El Beal; y $-17,5 \pm 0,04$ en El Ciervo), correspondiendo los mayores valores a *P. serratum* en El Beal ($-11,6 \pm 0,03$) y a *G. oblonga* en El Ciervo ($-9,4 \pm 0,08$). En relación con los peces, *Sparus aurata* ($-14,2 \pm 0,01$) y *P. marmoratus* ($-11,7 \pm 0,03$) presentaron en la estación de El Beal el menor y mayor valor respectivamente, mientras que dichas posiciones fueron ocupadas por *Atherina boyeri* ($-15,6 \pm 0,01$) y *Salaria pavo* ($-10,6 \pm 0,04$) en la comunidad de El Ciervo (Figura 4).

Comparaciones intraespecíficas de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre ambas comunidades, indicaron de forma general valores más empobrecidos en la comunidad de El Beal (media -1,2), aunque algunas especies como la quisquilla (*P. serratum*) y el pez *A. boyeri* presentaron valores más enriquecidos (2,3 y 2,7 respectivamente). Este isótopo presentó en ambas comunidades una amplitud similar en el rango de valores (11,1 y 10,5 para El Beal y El Ciervo respectivamente).

En la comunidad de El Beal el músculo de los peces y varios invertebrados (*P. serratum*, *G. oblonga*, *S. nudus* y *C. neritea*) presentaron valores de $\delta^{13}\text{C}$ cercanos ($<1\text{‰}$) a los mostrados por el biofilm, mientras que en la comunidad de El Ciervo únicamente lo hicieron el ramoneador *G. oblonga* y el sedimentívoro *S. nudus*. Por su parte, la fanerógama *C. nodosa* presentó los mayores valores de $\delta^{13}\text{C}$ en ambas comunidades, no presentando ningún organismo valores similares.

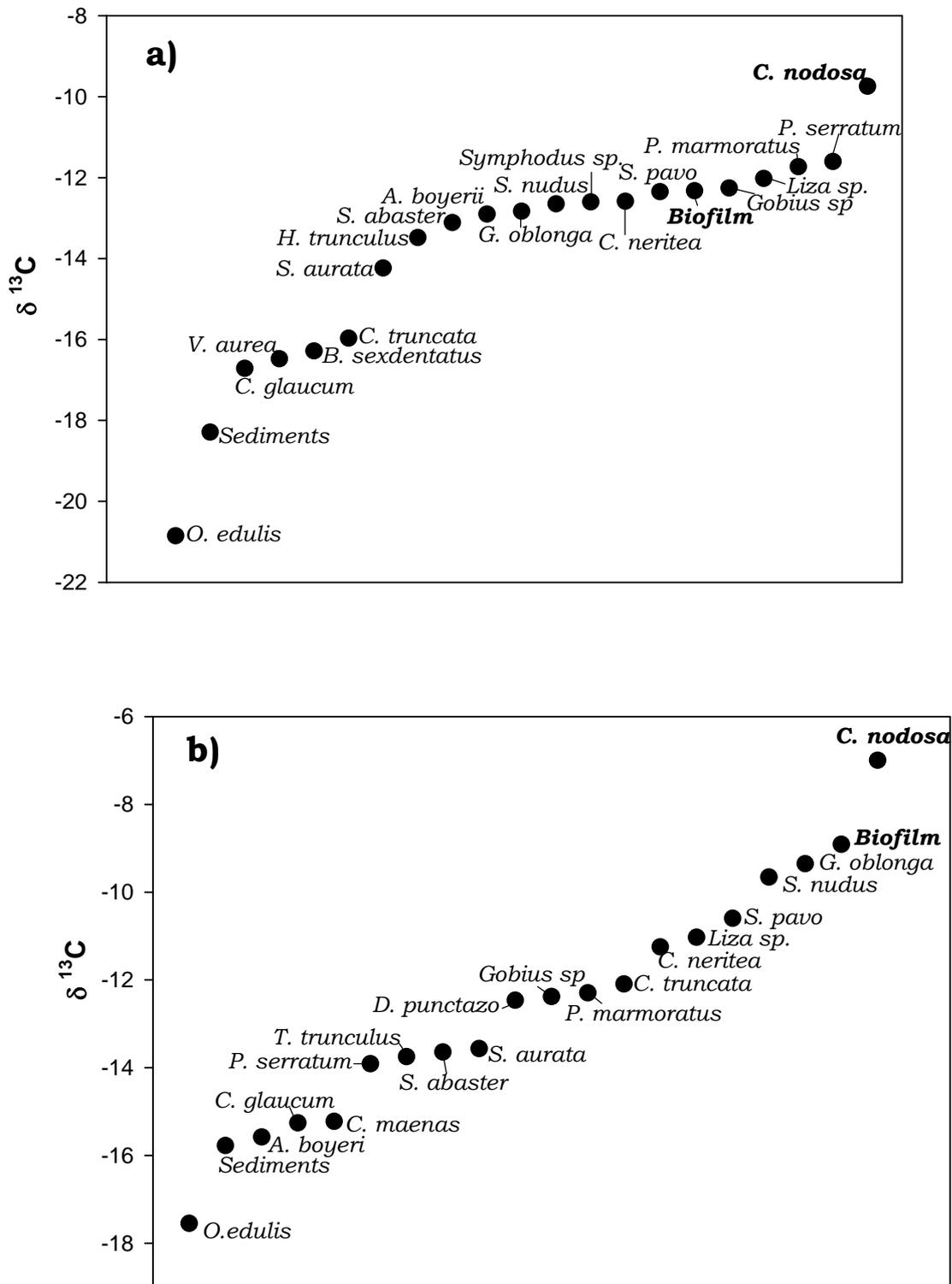


Figura 4.- Representación de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en orden ascendente de: a) Comunidad de El Beal, y b) Comunidad de la Isla de El Ciervo.

Las ecuaciones obtenidas con las regresiones lineales entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de ambas comunidades, representadas en la figura 5, mostraron diferentes patrones con sus pendientes mostrando distintos signos. El incremento en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en la comunidad de El Beal presentó relación lineal significativa con el incremento en los de $\delta^{13}\text{C}$ ($\delta^{15}\text{N} = 18,46 + 0,72 * \delta^{13}\text{C}$; $r^2 = 0,45$; $p < 0,01$), mientras que en el caso de El Ciervo ambos isótopos se encontraban inversamente relacionados, no siendo significativa dicha relación ($\delta^{15}\text{N} = 3,26 - 0,22 * \delta^{13}\text{C}$; $r^2 = 0,07$; $p = 0,264$).

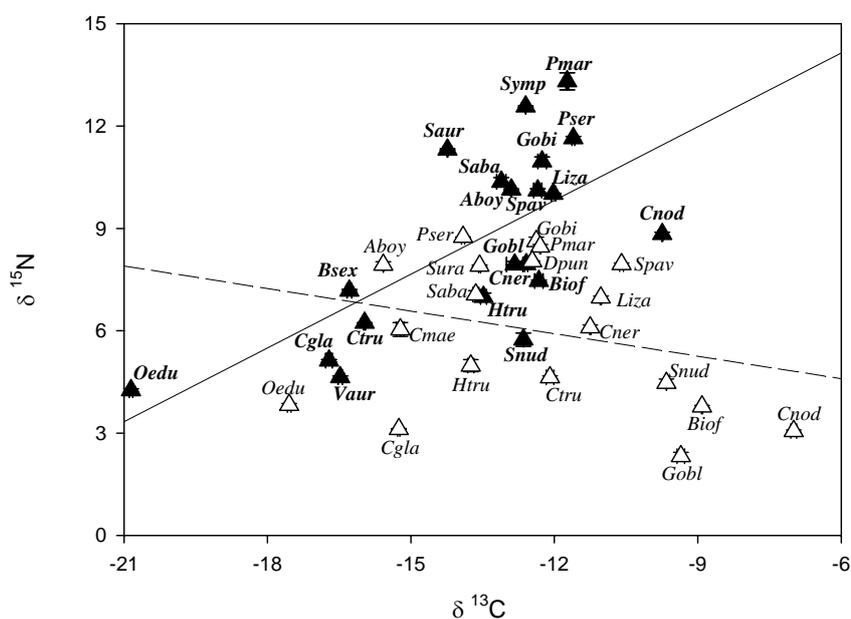


Figura 5.- Representación de los valores medios de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de los organismos de la laguna del Mar Menor. Los triángulos negros y blancos corresponden con las comunidades de El Beal y El Ciervo respectivamente. Las líneas representan las regresiones lineales entre ambas variables. Las líneas sólida y punteada se corresponden con las regresiones de El Beal y El Ciervo respectivamente.

3.4. Transferencia trófica de los metales

En las figuras 6 y 7 se muestran las representaciones de las regresiones lineales entre el contenido en metales en los invertebrados y sus valores de $\delta^{15}\text{N}$; las ecuaciones obtenidas se resumen en la tabla 3. Excepto para el cobre, que presentó las menores pendientes, el resto de metales, zinc, plomo y cadmio presentaron pendientes negativas en ambas comunidades de invertebrados. Dichas regresiones fueron significativas para el zinc, plomo y cadmio en los invertebrados de El Beal, y solo para el plomo en el caso de los invertebrados de El Ciervo.

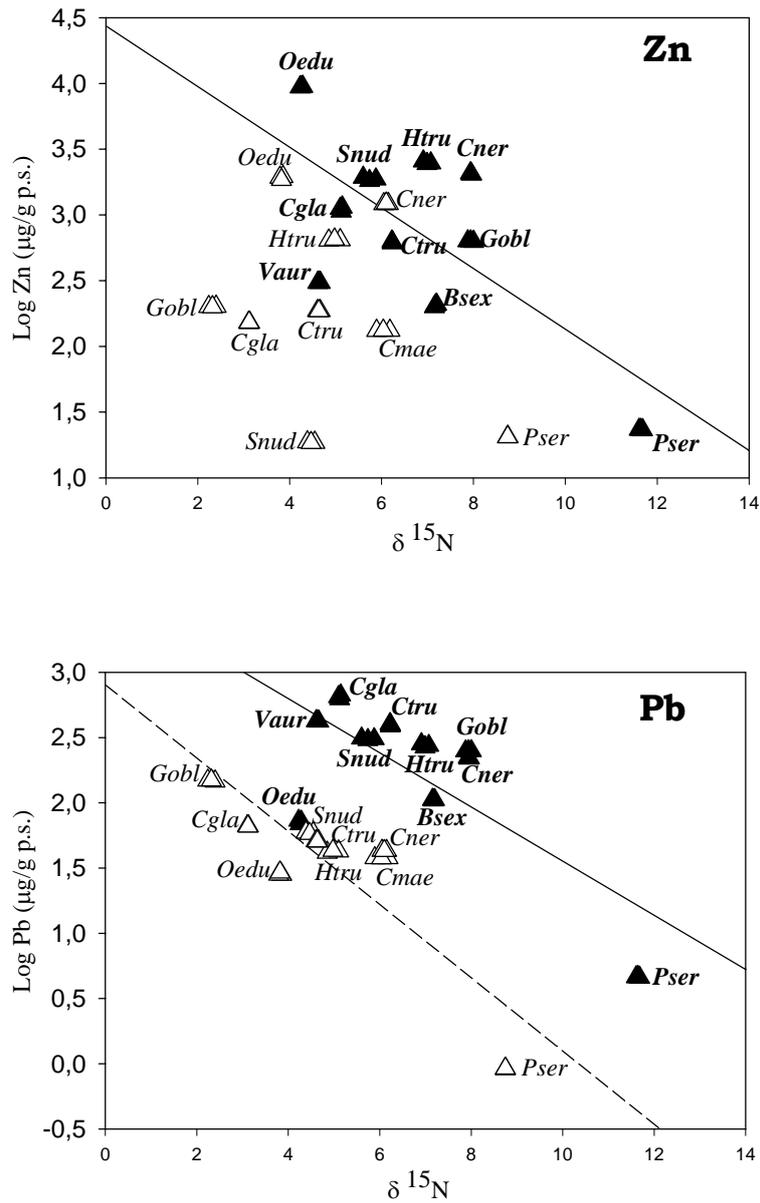


Figura 6.- Representaciones de los contenidos en zinc y plomo en invertebrados (transformados con el logaritmo) y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ para ambas comunidades del Mar Menor. Los triángulos negros y blancos corresponden con las especies de El Beal y El Ciervo respectivamente. Las líneas representan las regresiones lineales entre ambas variables cuando estas son significativas ($p < 0,05$). Las líneas sólida y punteada se corresponden con las regresiones de El Beal y El Ciervo respectivamente.

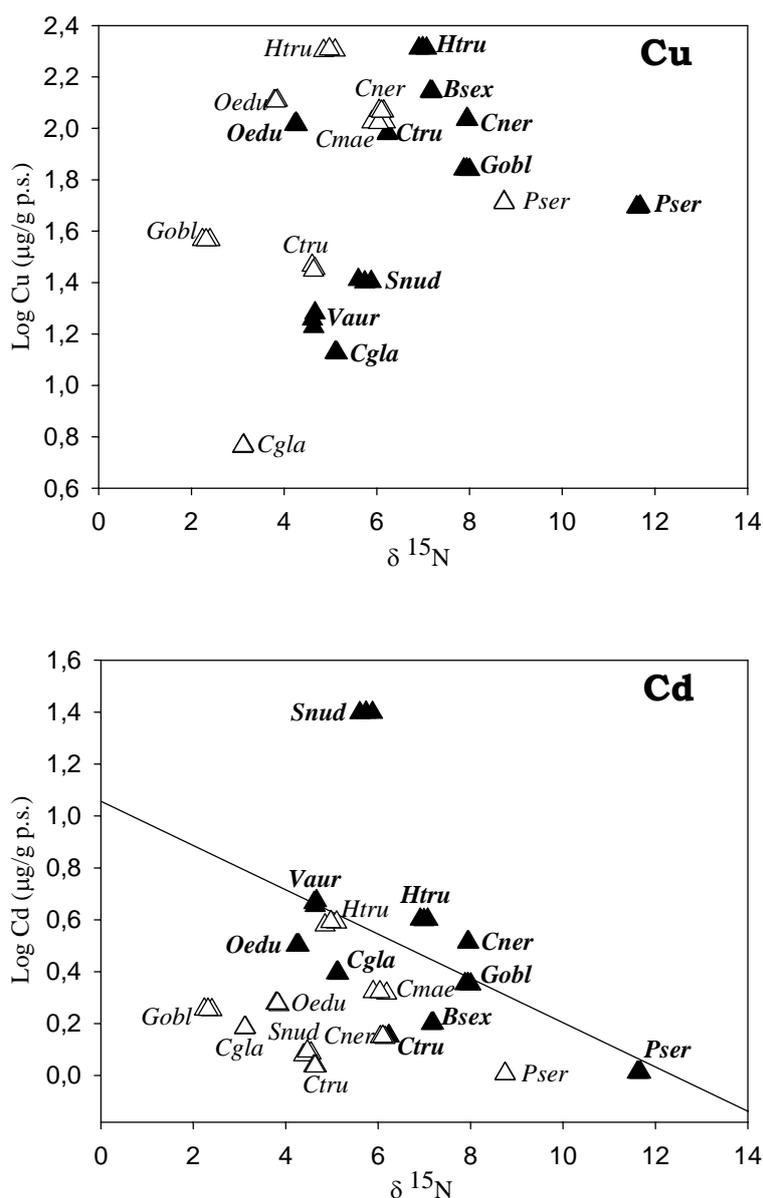


Figura 7.- Representaciones de los contenidos en cobre y cadmio en invertebrados (transformados con el logaritmo) y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ para ambas comunidades del Mar Menor. Los triángulos negros y blancos corresponden con las especies de El Beal y El Ciervo respectivamente. Las líneas representan las regresiones lineales entre ambas variables cuando estas son significativas ($p < 0,05$). Las líneas sólida y punteada se corresponden con las regresiones de El Beal y El Ciervo respectivamente.

En relación con las regresiones lineales realizadas con los datos de los peces (figuras 8 y 9), solo el plomo en El Beal, y el cobre y cadmio en El Ciervo, presentaron pendientes positivas, siendo negativas en el resto de los casos. De cualquier manera, dichas regresiones no fueron significativas en ninguna de las regresiones (Tabla 4).

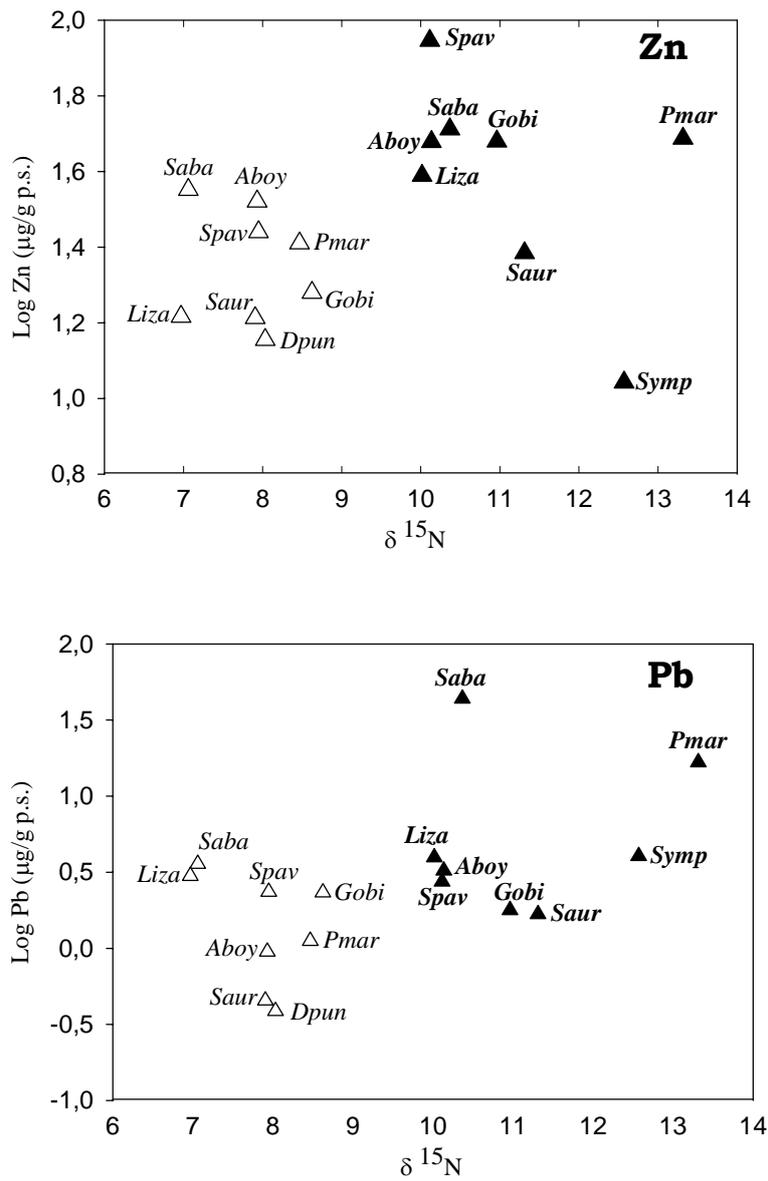


Figura 8.- Representaciones de los contenidos en zinc y plomo en peces (transformados con el logaritmo) y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ para ambas comunidades del Mar Menor. Los triángulos negros y blancos corresponden con las especies de El Beal y El Ciervo respectivamente. No se representan las líneas de las regresiones lineales al no haber resultado significativas ($p < 0,05$) en ninguno de los casos.

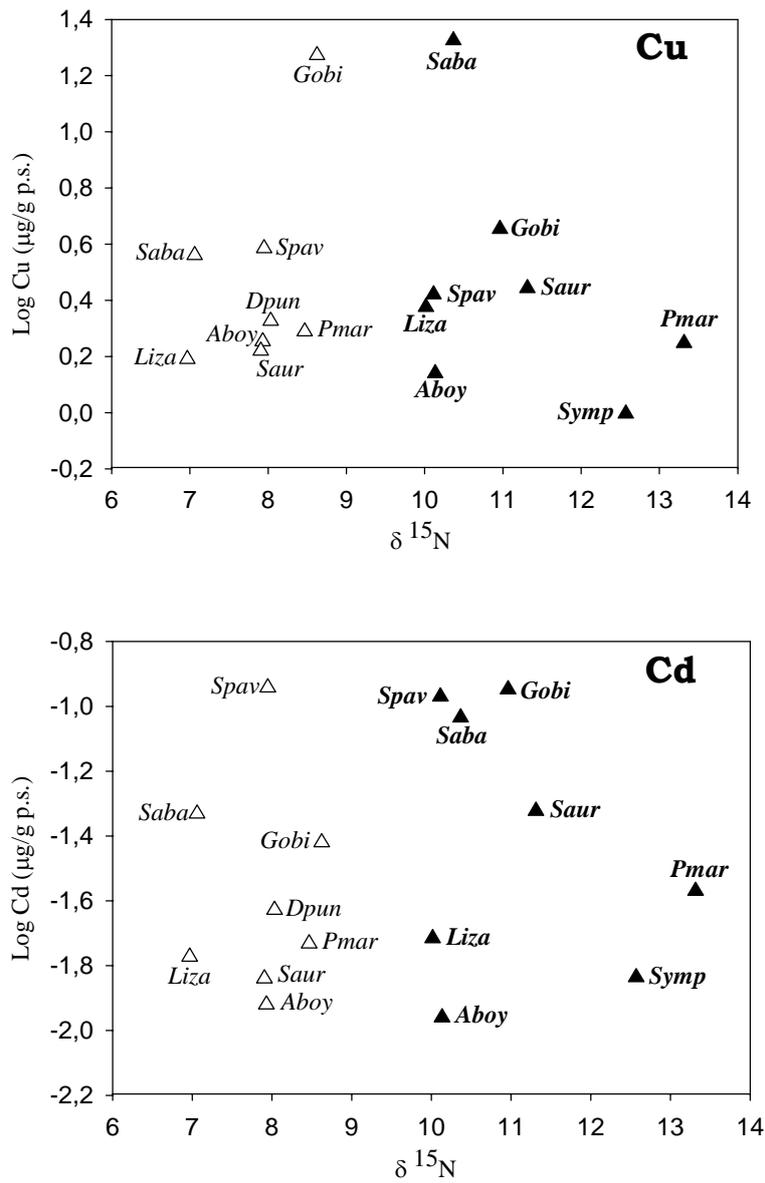


Figura 9.- Representaciones de los contenidos en cobre y cadmio en peces (transformados con el logaritmo) y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ para ambas comunidades del Mar Menor. Los triángulos negros y blancos corresponden con las especies de El Beal y El Ciervo respectivamente. No se representan las líneas de las regresiones lineales al no haber resultado significativas ($p < 0,05$) en ninguno de los casos.

Tabla 3.- Resumen de las ecuaciones obtenidas de las relaciones lineales entre las concentraciones medias de Zn, Pb, Cu y Cd y los valores medios de $\delta^{15}\text{N}$ para los organismos de las estaciones de El Beal y El Ciervo. N, número de especies incluidas en el análisis; Invert., invertebrados. Los valores en negrita son significativos ($p < 0.05$).

| | | Regresión | N | Pendiente | Intercep. | R ² | P |
|------------------|----------------|---|-----------|---------------|--------------|----------------|--------------|
| El Beal | <i>Invert.</i> | Log[Zn] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 10 | -0,231 | 4,437 | 0,481 | 0,026 |
| | | Log[Pb] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 10 | -0,208 | 3,630 | 0,526 | 0,017 |
| | | Log[Cu] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 10 | 0,050 | 1,441 | 0,074 | 0,448 |
| | | Log[Cd] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 10 | -0,254 | 1,841 | 0,517 | 0,019 |
| | <i>Peces</i> | Log[Zn] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 8 | -0,109 | 2,807 | 0,254 | 0,202 |
| | | Log[Pb] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 8 | 0,075 | -0,146 | 0,036 | 0,651 |
| | | Log[Cu] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 8 | -0,120 | 1,787 | 0,133 | 0,373 |
| | | Log[Cd] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 8 | -0,080 | -0,525 | 0,060 | 0,558 |
| El Ciervo | <i>Invert.</i> | Log[Zn] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 9 | -0,112 | 2,831 | 0,091 | 0,429 |
| | | Log[Pb] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 9 | -0,284 | 2,928 | 0,750 | 0,002 |
| | | Log[Cu] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 8 | 0,081 | 1,360 | 0,125 | 0,391 |
| | | Log[Cd] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 9 | -0,208 | 0,612 | 0,348 | 0,094 |
| | <i>Peces</i> | Log[Zn] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 8 | -0,035 | 1,620 | 0,018 | 0,751 |
| | | Log[Pb] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 8 | -0,256 | 2,145 | 0,166 | 0,316 |
| | | Log[Cu] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 8 | 0,261 | -1,590 | 0,184 | 0,288 |
| | | Log[Cd] vs. $\delta^{15}\text{N}$ | 8 | 0,006 | -1,622 | 0,0001 | 0,978 |

Mediante análisis de regresiones lineales también se estudiaron las relaciones entre la fuente de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y el contenido en metales en invertebrados (Figura 8a) y peces (Figura 8b). Para ello se emplearon los datos de ambas comunidades de forma conjunta al diferir las estaciones en la distancia a la zona de entrada de material terrígeno a través de las ramblas. En el caso de los datos de invertebrados, encontramos correlaciones negativas para todos los metales, y aunque tanto el plomo como el cadmio presentaron valores de *probabilidad* cercanos a ser significativos ($p=0,051$ y $p=0,058$), solo en el caso del zinc las relaciones lineales fueron significativas ($p=0,011$). En el caso de las comunidades de peces, solo el zinc presentó regresiones negativas con los valores de $\delta^{13}\text{C}$, siendo positivas para los otros tres metales, sin embargo, en ninguno de los casos fueron significativas (Tabla 4).

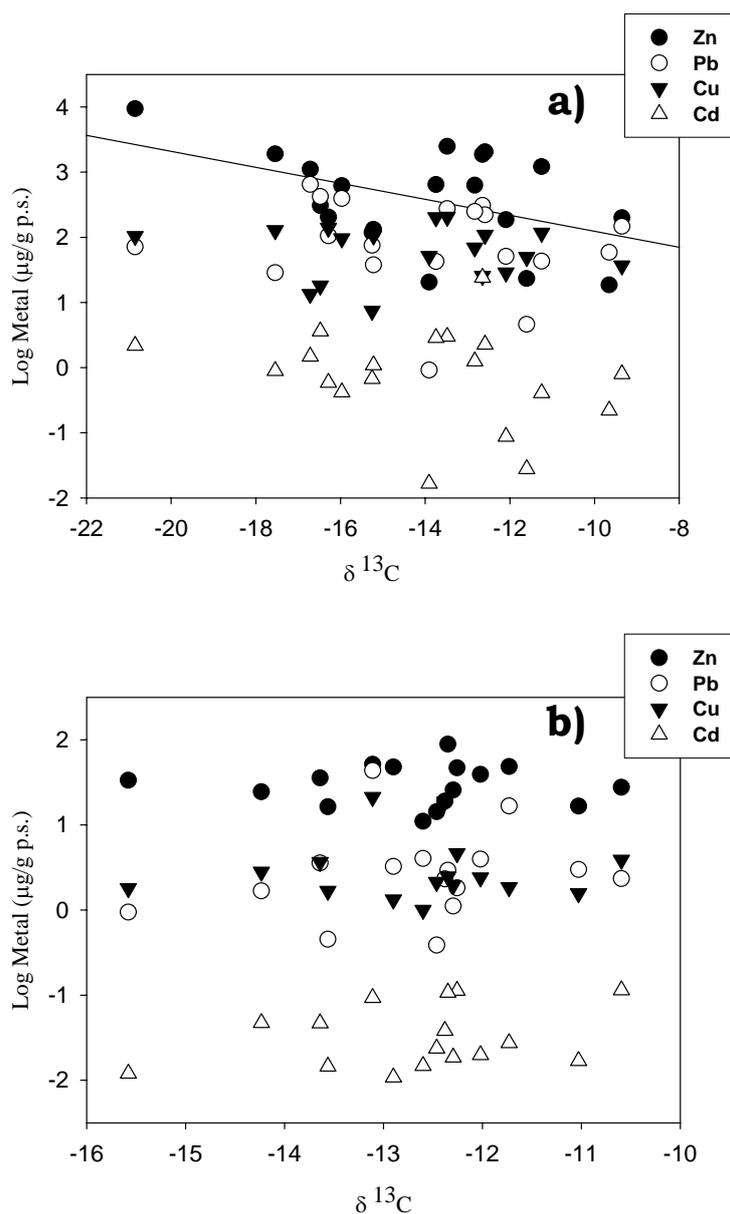


Figura 8.- Representaciones de los valores medios de las concentraciones de Zn, Pb, Cu y Cd (transformados con el logaritmo) y los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de ambas comunidades del Mar Menor (Beal y Ciervo juntos). a) datos de invertebrados; y b) datos de peces. Las líneas representan las relaciones lineales estimadas entre ambas variables cuando resultaron significativas ($p < 0,05$).

Tabla 4.- Resumen de las ecuaciones obtenidas en las relaciones lineales entre los valores medios de las concentraciones de Zn, Pb, Cu y Cd y los valores de $\delta^{13}\text{C}$ para ambas comunidades juntas. N, número de especies incluidas en el análisis. Los valores en negrita son significativos ($p < 0.05$).

| | Regresión | N | Pendiente | Intercepción | r² | Valor p |
|----------------------|---|-----------|------------------|---------------------|----------------------|----------------|
| <i>Invertebrados</i> | Log[Zn] vs. $\delta^{13}\text{C}$ | 19 | -1,645 | -10,133 | 0,339 | 0,011 |
| | Log[Pb] vs. $\delta^{13}\text{C}$ | 19 | -1,178 | -12,107 | 0,217 | 0,051 |
| | Log[Cu] vs. $\delta^{13}\text{C}$ | 18 | -1,320 | -12,353 | 0,183 | 0,076 |
| | Log[Cd] vs. $\delta^{13}\text{C}$ | 19 | -1,105 | -14,546 | 0,207 | 0,058 |
| <i>Peces</i> | Log[Zn] vs. $\delta^{13}\text{C}$ | 16 | -0,171 | -12,419 | 0,001 | 0,898 |
| | Log[Pb] vs. $\delta^{13}\text{C}$ | 16 | 0,533 | -12,890 | 0,051 | 0,400 |
| | Log[Cu] vs. $\delta^{13}\text{C}$ | 16 | 0,098 | -12,716 | 0,001 | 0,912 |
| | Log[Cd] vs. $\delta^{13}\text{C}$ | 16 | 0,902 | -11,323 | 0,074 | 0,307 |

4. Discusión

La acumulación de metales por parte de animales y plantas es un proceso complejo y dinámico que implica a todos los niveles de las redes tróficas. Esta acumulación se puede producir tanto desde el agua y los sedimentos como a través de la ingestión de alimento existiendo, por lo tanto, varias rutas de exposición que pueden funcionar de manera simultánea o intermitente. La proporción de metales que un organismo puede acumular desde las diferentes rutas de exposición es, probablemente, variable dependiendo del tipo de organismo y del grado de contaminación de dichas fuentes o rutas (Chapman *et al.*, 2003; Rainbow, 2002).

En la actualidad, aunque no se desarrollan actividades mineras en la zona de estudio, los residuos mineros continúan entrando esporádicamente en la laguna, a través de las ramblas, durante fenómenos de lluvias torrenciales de alta intensidad. Como se ha visto con anterioridad (Capítulo I), una vez en la laguna, los metales disueltos son rápidamente eliminados de la columna de agua, mientras que los metales en estado particulado se mantienen en suspensión durante más tiempo, afectando por lo tanto a zonas mayores de la laguna. Al ser un sistema cerrado, el resultado final de dichas descargas es la acumulación de metales en los sedimentos lagunares.

La técnica de extracción parcial de metales aplicada a los sedimentos, ha sido descrita como apropiada para determinar la biodisponibilidad de los metales tras la ingestión de sedimentos contaminados (Snape *et al.*, 2004), su aplicación ha dado como resultado una mayor concentración y biodisponibilidad de metales en los sedimentos de la estación localizada cerca de la desembocadura de la rambla de El Beal. Además, puesto que la proporción de finos del sedimento, que fue la fracción de sedimento analizada, es mucho mayor en esta estación, podemos confirmar que los metales presentan aquí mayor biodisponibilidad, viéndose a su vez reflejado por los mayores niveles de metales mostrados por los organismos de esta estación.

Las concentraciones de metales analizados en los bivalvos filtradores (*Ostrea edulis*, *Cerastoderma glaucum* y *Venerupis aurea*) reflejan la entrada de residuos mineros a través de las ramblas así como la resuspensión de los contenidos en los sedimentos, ya que en su alimentación filtran gran cantidad de agua ingiriendo partículas potencialmente enriquecidas en metales. Las menores concentraciones determinadas en los bivalvos de la comunidad de El Ciervo, así como las menores concentraciones en los sedimentos, muestran la dilución y dispersión que sufren los residuos que entran a través de las ramblas durante su transporte hacia el interior de la laguna. La ostra era el organismo que presentó claramente las mayores concentraciones de zinc en el Mar Menor. Estos bivalvos han sido descritos como grandes acumuladores de metales, especialmente de este elemento (Philips y Yim, 1981; Rainbow, 1995; Blackmore, 2001). Otros moluscos como los gasterópodos *Hexaplex trunculus* y *Cyclope neritea*, ambos depredadores y carroñeros bentónicos, concentraron gran cantidad de metales en sus tejidos, siendo estas concentraciones superiores a las encontradas en sus presas potenciales como son los bivalvos. Estos organismos ocupan a menudo los niveles más altos en las cadenas tróficas bentónicas, y como resultado las concentraciones de metales en estos depredadores generalmente son mayores que las que presentan sus presas (Blackmore, 2000).

A diferencia de los moluscos bivalvos, los gasterópodos poseen el pigmento respiratorio hemocianina que contiene cobre (Ghiretti, 1966), por ello presentaron elevadas concentraciones de este elemento, similares en ambas estaciones, indicando el papel fisiológico que este metal juega en dichos organismos (Blackmore, 2001). No sólo los requerimientos fisiológicos de metales esenciales ayudan a explicar las concentraciones de los mismos en los organismos, sino también las estrategias de acumulación que cada organismo presenta frente a cada metal (Rainbow, 2002). En este sentido, se ha observado que el crustáceo *Palaemon serratum* (quisquilla) presentó en las dos estaciones estudiadas concentraciones similares de cobre y zinc, de forma contraria al plomo y cadmio que presentaron marcadas diferencias. Mientras que el primer elemento está relacionado con su contenido en hemocianina, el segundo parece estar relacionado con la capacidad de regulación de la especie, ya que *Palaemon elegans* presenta pocos cambios en su contenido en zinc conforme las concentraciones ambientales aumentan debido a que el animal lo elimina tan rápido como lo acumula (Luoma y Rainbow, 2005; Rainbow, 2002). Otro ejemplo es el presentado por el sedimentívoro *Sipunculus nudus*, para el que se ha demostrado que la acumulación de metales está claramente dominada por la ingestión de sedimentos, presentando una elevada eficiencia asimilatoria especialmente para el cadmio (Yan y Wang, 2002), pudiendo ser esta la explicación de la elevada concentración de este elemento encontrada en esta especie, la mayor de todas las analizadas.

Por otro lado, los resultados mostraron que las concentraciones de metales en el músculo de peces se encontraban dentro de los rangos descritos en otras áreas contaminadas del Mediterráneo (Dural *et al.*, 2006; Kalay y Canli, 1999; Kress *et al.*, 1999).

Mediante la técnica de ordenación empleada (MDS) hemos encontrado que tanto peces herbívoros, detritívoros y carnívoros eran agrupados juntos y claramente diferenciados del resto de invertebrados de forma similar a la descrita por Barwick y Maher (2003). En nuestro caso, puesto que varias de las especies analizadas sufren cambios ontogénicos en sus dietas al alcanzar la madurez, es posible, debido a su pequeño tamaño, que los individuos muestreados de las especies de *Sparus aurata*, *Diplodus punctazzo*, *Liza sp.* y *Symphodus sp.* aún se encuentren en estadios juveniles, y mantengan todavía dietas omnívoras. Los peces al igual que el resto de organismos analizados, mostraron concentraciones de metales mayores en la estación bajo la influencia directa de las ramblas. Varias de estas especies analizadas, tanto peces como invertebrados, superaron los límites legales para consumo humano establecidos por Directiva Europea en 0,2 y 0,05 mg/kg en peso húmedo para Pb y Cd respectivamente en músculo de pescado, de 0,5 y 1,0 mg/kg en peso húmedo para ambos metales en crustáceos y en moluscos bivalvos respectivamente (Directiva 2001/22/CE); y los establecidos por la Organización de Alimentación y Agricultura 30 mg/kg en peso húmedo para Cu y Zn (FAO, 1983).

La composición isotópica de las muestras de ambas estaciones indicó que los organismos de la parte interna de la laguna, se encontraban enriquecidos en $\delta^{15}\text{N}$ en relación con la de El Ciervo. Mientras que para los valores de $\delta^{13}\text{C}$ se observó un patrón contrario, presentando la estación de El Beal los valores más empobrecidos. Esto se ve reflejado por los diferentes signos de las pendientes obtenidas en los análisis de regresiones lineales entre ambos isótopos, que podría estar indicando cambios tróficos entre ambas comunidades. Las diferencias en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ pueden ser atribuidos a la entrada de aguas residuales urbanas a través de las ramblas que desembocan por la Marina de El Carmolí, situada al norte de la rambla de El Beal (Álvarez-Rogel *et al.*, 2006; Velasco *et al.*, 2006). Se ha demostrado con anterioridad que las descargas antrópicas de nitrógeno incrementan significativamente los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en ecosistemas costeros (p. e. Piola *et al.*, 2006; Fry *et al.*, 2003; McClelland y Valiela 1998; Vizzini *et al.*, 2005), incluso a pequeñas escalas espaciales (Vizzini y Mazzola, 2006). En nuestro caso, las mayores diferencias en los niveles de $\delta^{15}\text{N}$ entre ambas estaciones fueron las mostradas por los productores primarios *C. nodosa* y el biofilm que crece sobre sus hojas, indicando el papel que desempeñan los productores primarios en la toma y, por lo tanto, eliminación del exceso de nitrógeno (Cole *et al.*, 2004; Vizzini y Mazzola, 2004). Esta podría ser la causa de la distinta posición trófica que ocupan ambos productores primarios dentro de cada comunidad estudiada, haciéndolos más nutritivos en la estación influenciada por las descargas (Cabana y Rasmussen, 1996). El incremento en el potencial trófico en esta estación puede estar parcialmente contrarrestando los efectos tóxicos de los metales (Mingazzini, 1997), a la vez que forzando cambios tróficos entre las especies de dicha comunidad, como es evidente en el caso del ramoneador *Goniostoma oblonga*.

Sin embargo, *C. nodosa* no parece ser una fuente directa de alimento para las comunidades estudiadas, ya que presenta valores de ^{13}C enriquecidos con respecto a la fauna. Y puesto que la planta presenta una señal isotópica muy cercana a la del detrito que genera (Page, 1997; Vizzini *et al.*, 2002), podemos concluir que ni las hojas de la fanerógama ni el material detrítico generado por la planta juegan un papel trófico importante en las comunidades del Mar Menor. Conclusiones similares a las obtenidas por Vizzini *et al.* (2002) estudiando del papel trófico de esta fanerógama en un ecosistema costero mediterráneo.

Por su parte, el biofilm que se desarrolla sobre la superficie de las hojas de la fanerógama, compuesto principalmente por diatomeas, bacterias y material detrítico asociado, ha sido descrito como una fuente de alimento potencial altamente nutritiva para los invertebrados que ramonean las superficies minerales y orgánicas (Decho, 2000). En la estación de El Beal este biofilm presentó valores de $\delta^{13}\text{C}$ cercanos a los de la fauna, indicando la importancia de dicho componente como fuente de alimento para los organismos de esta estación. Es más, en esta zona de la laguna el biofilm muestra una gran productividad creciendo en mayores cantidades que en la de El Ciervo (Capítulo III), llegando a cubrir completamente las hojas de la planta. Varios estudios han demostrado mediante el empleo de isótopos estables la importancia que tiene este componente como fuente de alimento para comunidades asociadas con fanerógamas marinas (Yamamuro, 1999; Moncreiff y Sullivan, 2001; Vizzini *et al.*, 2002). Y debido a su capacidad para acumular grandes concentraciones de metales, ha sido identificado como un eslabón importante en el movimiento y transferencia de metales a lo largo de las cadenas tróficas (Farag *et al.*, 1998, Beltman *et al.*, 1999).

La biodilución puede definirse como la disminución en la concentración de un elemento con el incremento del nivel trófico. En nuestro caso, debido a la diferencia entre peces e invertebrados tanto en el contenido en metales como en sus valores de $\delta^{15}\text{N}$, que forzarían los resultados de las regresiones a indicar biodilución, hemos estudiado dichas regresiones con los datos de invertebrados y de peces por separado. Los tres metales Zn, Pb y Cd presentaron en los invertebrados de ambas estaciones pendientes negativas frente a los valores de $\delta^{15}\text{N}$. Dichas regresiones fueron significativas para los tres elementos en El Beal y sólo para el plomo en El Ciervo indicando, por lo tanto, la biodilución de los mismos en los poblamientos de invertebrados del Mar Menor. Muchos elementos metálicos no suelen biomagnificarse en las cadenas tróficas marinas, debido tanto a mecanismos homeostáticos como a aspectos bioquímicos que impiden su acumulación trófica (Wang, 2002). Se ha discutido que las formas inorgánicas de los metales tienden a disminuir a lo largo de las cadenas alimenticias acuáticas (USEPA 2002), tal y como se ha demostrado para el caso del zinc, plomo y cadmio en las comunidades de invertebrados del Mar Menor. Sin embargo, al igual que ha sido descrito en otros estudios (Quinn *et al.*, 2003; Besser *et al.*, 2001), se ha observado que la posición trófica no presentaba ningún efecto en los niveles de cobre de dichas comunidades, pudiendo estar relacionado con el papel fisiológico que

juega este metal en ciertos invertebrados marinos. Con respecto a las comunidades de peces no se pueden establecer patrones claros ya que, excepto el zinc que presentó pendientes negativas en ambos poblamientos, el resto de metales mostraron diferentes signos en sus pendientes. De todas formas, en ninguno de los casos las regresiones resultaron ser significativas ($p > 0,05$).

Por otro lado, las diferencias encontradas en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre ambas comunidades, presentando la estación situada en la parte interna de la laguna los valores más empobrecidos, pueden estar asociadas a dos causas principales. Por un lado, la entrada de plantas terrestres alóctonas a través de las ramblas y desde los humedales adyacentes a la estación de El Beal, que presentan valores empobrecidos de $\delta^{13}\text{C}$ con respecto a los productores primarios marinos (Richard *et al.*, 1997; Dittmar *et al.*, 2001). La otra explicación probable puede ser debido al carbono inorgánico disuelto más ligero de las aguas de la laguna influenciadas por la entrada de agua dulce por la Rambla de El Albujón (Velasco *et al.*, 2006). Se ha observado que los valores de carbono inorgánico disuelto de forma general cambian a lo largo de gradientes estuarinos, de manera que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ del fitoplancton suelen reflejar dicho cambio (Deegan y Garritt 1997; Yamamuro, 2000) al igual que lo hacen los consumidores primarios del fitoplancton (Piola *et al.*, 2006). Ambas explicaciones, la entrada de detritos de plantas terrestres que acumulan grandes cantidades de metales en sus tejidos (Álvarez-Rogel *et al.*, 2004), como los cambios en el carbono inorgánico disuelto, son apoyados por el hecho de que tanto los sedimentos como los productores primarios presentan valores empobrecidos con respecto a la estación más alejada e influenciada por las entradas de agua del Mar Mediterráneo. Además, los mayores contenidos en materia orgánica y en carbono de los sedientos de El Beal reflejan la entrada de material terrestre, como ha sido visualmente confirmado en el campo.

Puesto que las fuentes de carbono con origen pelágico o bentónico presentan claras diferencias en sus valores de $\delta^{13}\text{C}$ (Hecky y Hesslein, 1995), Power *et al.* (2002) estudiaron las regresiones entre las concentraciones de mercurio en peces y sus valores de $\delta^{13}\text{C}$ en un intento de explicar la importancia de ambas fuentes de carbono en la acumulación de mercurio. En nuestro caso, ya que productores primarios terrestres y marinos presentan también claras diferencias en sus señales de ^{13}C (Fry y Sherr, 1984), las pendientes negativas obtenidas con las regresiones entre las concentraciones de metales en invertebrados frente a sus valores de $\delta^{13}\text{C}$, parecen indicar un origen terrestre de los metales. En el caso del Mar Menor, dichas regresiones solo han sido significativas ($p < 0,05$) en el caso del zinc en invertebrados, posiblemente indicando el origen terrestre de este elemento, al presentar elevada afinidad tanto por la materia orgánica como por los compuestos orgánicos, ácidos húmicos y fúlvicos, procedentes de tierra (Achterberg *et al.*, 2003; Brüggmann *et al.*, 1992).

En conclusión, los sedimentos, productores primarios, invertebrados y peces de la cubeta sur de la laguna costera del Mar Menor, mostraron contaminación por metales

causada por las históricas explotaciones mineras desarrolladas en la adyacente Sierra de Cartagena-La Unión. Los metales contenidos en los sedimentos se mostraron biodisponibles para la biota de la laguna y, aunque hoy en día todas las actividades mineras han cesado, la entrada en la laguna de residuos mineros junto con material terrígeno a través de las ramblas, que ocurren durante las lluvias torrenciales características de la región, suponen otra fuente de metales biodisponibles para los organismos de la laguna. Se observa una dilución de dicha contaminación por metales conforme nos alejamos de la zona de descarga de las ramblas.

Explorando las señales isotópicas de ambas comunidades, hemos encontrado diferencias tanto en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ como en los de $\delta^{15}\text{N}$. La descarga de aguas residuales urbanas que afecta a la parte más interna de la laguna, generalmente determina un incremento en la abundancia relativa del isótopo ^{15}N . Por otro lado, la materia orgánica y el agua dulce provenientes de tierra que entran a través de las ramblas y humedales y que afectan también a la parte más interna de la laguna, determinan un cambio hacia valores más empobrecidos en el isótopo ^{13}C . Las diferencias entre la composición isotópica de los consumidores de ambas estaciones parecen estar reflejando variaciones en la base de la cadena trófica o estar unido a la explotación de diferentes fuentes de materia orgánica (cambios en la estructura de la red trófica).

Aunque la fanerógama marina *Cymodocea nodosa*, no parece jugar un papel trófico importante en las comunidades del Mar Menor, el biofilm que se desarrolla sobre sus hojas parece ser una fuente importante de alimento, al menos, para la comunidad de la zona interna de la laguna. La mayor disponibilidad del mismo, así como su mayor estatus nutricional y contenido en metales puede estar forzando diferencias tróficas entre ambas comunidades.

Las correlaciones entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ frente al contenido en metales de ambos doblamientos de invertebrados indicaron la biodilución de los metales, mientras que en el caso de las comunidades de peces, no se obtuvieron tendencias claras.

5. Referencias bibliográficas

Achterberg, E.P., Herlz V.M.C., Braungardt, C.B., Millward, G.E. 2003. Metal behaviour in an estuary polluted by acid mine drainage: the role of particulate matter. *Environmental Pollution*, 121: 283-292.

Álvarez- Rogel, J., Jiménez-Cárceles, F.J., Egea Nicolás, C. 2006. Phosphorous and nitrogen content in the water of a coastal wetland in the Mar Menor lagoon (SE Spain): relationships with effluents from urban and agricultural areas. *Water, Air and Soil Pollution*, 173: 21-38.

Álvarez- Rogel, J., Ramos, M.J., Delgado, M.J., Arnaldos, R. 2004. Metals in soils and above-ground biomass of plants from a salt marsh polluted by mine wastes in the coast of the Mar Menor lagoon, SE Spain. *Fresenius Environmental Bulletin*, 13: 274-278.

Barwick, M., Maher, W. 2003. Biotransference and biomagnification of selenium, copper, cadmium, zinc, arsenic and lead in a temperate seagrass ecosystem from Lake Macquarie Estuary, NSW, Australia. *Marine Environmental Research*, 56: 471-502.

Beltman, D.J., Clements, W.H., Lipton, J., Cacela, D. 1999. Benthic invertebrate metals exposure, accumulation and community level effects downstream from a hard-rock mine site. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 299-307.

Besser, J.M., Brumbaugh, W.G., May, T.W., Church, S.E., Kimball, B.A. 2002. Bioavailability of metals in stream food webs and hazards to brook trout (*Salvelinus fontinalis*) in the Upper Animas River Watershed, Colorado. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40: 48-59.

Blackmore, G. 2000. Field evidence of metal transfer from invertebrate prey to an intertidal predator, *Thais clavigera* (Gastropoda: Muricidae). *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 51: 127-139.

Blackmore, G. 2001. Interspecific variation in heavy metal body concentrations in Hong Kong marine invertebrates. *Environmental Pollution*, 114: 303-311.

Brügmann, L., Bernard, P.V., Van Grieken, R. 1992. Geochemistry of suspended matter from the Baltic sea. *Marine Chemistry*. 38: 303-323.

Cabana, G., Rasmussen, J.B. 1994. Modelling food chain structure and contaminant bioaccumulation using stable nitrogen isotopes. *Nature*, 372: 255-257.

Cabana, G., Rasmussen, J.B. 1996. Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Ecology*, 93: 10844-10847.

Campbell, L.M.; Norstrom, R.J.; Hobson, K.A.; Muir, D.C.G. Backus, S.; Fisk, A.T. 2005. Mercury and other trace elements in a pelagic Arctic marine food web (Northwater Polynya, Baffin Bay). *The Science of the Total Environment*, 351-352: 247-263.

Camusso, M., Balestrini, R., Martinotti, W., Arpini, M. 1999. Spatial variations in trace metal and stable isotope content of autochthonous organisms and sediments in the river Po system (Italy). *Aquatic Ecosystem Health and Management*, 2: 39-53.

Camusso, M., Martinotti, W., Balestrini, R., Guzzi, L. 1998. C and N stable isotopes and trace metals in selected organisms from the river Po delta. *Chemosphere*, 37: 2911-2920.

Chapman, P.M., Wang, F., Janssen, C.R., Goulet, R.R., Kamunde, C.N. 2003. Conducting ecological risk assessments of inorganic metals and metalloids: current status. *Human and Ecological Risk Assessment*, 9: 641-697.

Cole, M.L., Valiela, I., Kroeger, K.D., Tomasky, G.L., Cebrian, J., Wigand, C., McKinney, R.A., Grady, S.P., Carvalho da Silva, M.H. 2004. Assessment of a $\delta^{15}\text{N}$ isotopic method to indicate anthropogenic eutrophication in aquatic ecosystems. *Journal of Environmental Quality*, 33: 124-132.

Connell, D.W. 1989. Biomagnification by aquatic organisms – a proposal. *Chemosphere*, 19: 1573-1584.

Decho, A.W. (2000). Microbial biofilms in intertidal systems: an overview. *Continental Shelf Research*, 20: 1257-1273.

Deegan, L.A., Garrit, R.H. 1997. Evidence for spatial variability in estuarine food webs. *Marine Ecology Progress Series*, 147: 31-47.

De Leon A.R., Guerrero J., Faraco F. 1982. Evolution of the pollution of the coastal lagoon of Mar Menor. VI Journées Étud. Pollutions, Cannes, C.I.E.S.M.

DeNiro, M.J., Epstein, S. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 45: 341-351.

Dittmar, T., Lara, R.J., Kattner, G. 2001. River or mangrove? Tracing major organic matter sources in tropical Brazilian coastal waters. *Marine Chemistry*, 73: 253-271.

Dural, M., Göksu, M.Z.L., Özak, A.A., Derici, B. 2006. Bioaccumulation of some heavy metals in different tissues of *Dicentrarchus labrax* L, 1758, *Sparus aurata* L, 1758 and *Mugil cephalus* L, 1758 from the Çamlık lagoon of the eastern coast of Mediterranean (Turkey). *Environmental Monitoring and Assessment*, 118: 65-74.

FAO, Food and Agriculture Organization. 1983. Compilation of legal limits for hazardous substances in fish and fishery products. *FAO Fish. Circ*, 464: 5-100.

Farag, A.M., Woodward, D.F., Goldstein, J.N., Brumbaugh, W., Meyer, J.S. 1998. Concentrations of metals associated with mining waste in sediments, biofilm, benthic macroinvertebrates, and fish from the Coeur d'Alene River Basin, Idaho. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34: 119-127.

Fry, B. 1991. Stable isotope diagrams of freshwater food webs. *Ecology*, 72: 2293-2297.

Fry, B., Gace, A., McClelland, J.W. 2003. Chemical indicators of anthropogenic nitrogen loading in four Pacific estuaries. *Pacific Sciences*, 57: 77-101.

Fry, B., Sherr, E.B. 1984. $\delta^{13}\text{C}$ measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. *Contrib. Mar. Sci.* 27: 13-47.

Ghiretti, F. 1966. Molluscan Haemocyanins. En: Wilbur, K.M., Yonge, C.M. (Eds.), *Physiology of the Mollusca*, Vol. II. Academic Press Inc, New York, pp. 223-248.

Gray, J.S. 2002. Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. *Marine Pollution Bulletin*, 45: 46-52.

Hecky, R.E., Hesslein, R.H. 1995. Contributions of benthic algae to lake food webs as revealed by stable isotope analysis. *Journal of the North American Benthological Society*, 14: 631-653.

Isaacs, J.D. 1973. Potential trophic biomasses and trace-substance concentrations in unstructured marine food webs. *Marine Biology*, 22: 97-104.

Kaag, N.H.B.M.; Foekema, E.M.; Scholten, M.C.Th.; Van Straalen, N.M. 1997. Comparison of contaminant accumulation in three species of marine invertebrates with different feeding habits. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16: 837-842.

Kalay, M., Ay, Ö., Canli, M. 1999. Heavy metal concentration in fish tissues from the northeast Mediterranean Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63: 673-681.

Kharlamenko, V.I., Kiyashko, S.I., Imbs, A.B. Vyshkavartzev, D.I. 2001. Identification of food sources of invertebrates from the seagrass *Zostera marina* community using carbon a sulfur stable isotope ratio and fatty acid analyses. *Marine Ecology Progress Series*, 220: 103-117.

Kidd, K.A.; Hesslein, R.H.; Fudge, R.J.P.; Hallard, K.A. 1995. The influence of trophic level as measured by $\delta^{15}\text{N}$ on mercury concentrations in freshwater organisms. *Water, Air and Soil Pollution*, 80: 1011-1015.

Kress, N., Herut, B., Shefer, E. 1999. Trace element levels in fish from clean and polluted coastal marine sites in the Mediterranean Sea, Red Sea and North Sea. *Hergol Mar Res*, 53: 163-170.

Kwak, T.J., Zedler, J.B. 1997. Food web analysis if southern California coastal wetlands using multiple stable isotopes. *Oecologia*, 110: 262-277.

Luoma, S.N. 1989. Can we determine the biological availability of sediment-bound trace elements?. *Hydrobiologia*, 176-177: 379-396.

Luoma, S.N. and Rainbow, P.S. 2005. Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as unifying concept. *Environmental Science and Technology*, 39: 1921-1931.

Marín-Guirao, L., Cesar, A., Marín, A., Lloret, J., Vita, R. 2005a. Establishing the ecological quality status of soft-bottom mining-impacted coastal water bodies in the scope of the Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 374-387.

Marín-Guirao, L., Marín, A., Lloret, J., Martínez, E., García, A.J. 2005b. Effects of mining wastes on a seagrass ecosystem: metal accumulation and bioavailability, seagrass dynamics and associated community structure. *Marine Environmental Research*, 60: 317-337.

McClelland, J.W., Valiela, I. 1998. Linking nitrogen in estuarine producers to land-derived sources. *Limnology and Oceanography*, 43: 577-585.

Mingazzini, M. 1997. Trophic and toxic potential: evaluation of interaction in natural waters. 9th Symp. On Environmental Pollution and Impact on Life in the Mediterranean Region, October 4-9, S. Agnello di Sorrento, Italy, Abstracts, p. 109.

Moncreiff, C.A., Sullivan, M.J. 2001. Trophic importance of epiphytic algae in subtropical seagrass beds: evidence from multiple stable isotope analyses. *Marine Ecology Progress Series*, 215: 93-106.

Page, H.M. 1997. Importance of vascular plant and algal production to macroinvertebrate consumers in a southern California salt marsh. *Estuarine and Coastal Shelf Science*, 45: 823-834.

Philips, D.J.H. and Yim, W.W.-S. 1981. A comparative evaluation of oysters, mussels and sediments as indicators of trace metals in Hong Kong waters. *Marine Ecology Progress Series*, 6: 285-293.

Piola, R.F., Moore, S.K., Suthers, I.M. 2006. Carbon and nitrogen isotope analysis of three types of oyster tissue in an impacted estuary. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 66: 255-266.

Power, G., Klein, G.M., Guiguer, K.R.R.A., Kwan, M.K.H. 2002. Mercury accumulation in the fish community of a sub-Arctic lake in relation to trophic position and carbon sources. *Journal of Applied Ecology*, 39: 819-830.

Quinn, M.R.; Feng, X.; Folt, C.L.; Chamberlain, P. 2003. Analyzing trophic transfer of metals in stream food webs using nitrogen isotopes. *Science of the Total Environment*, 317: 73-89.

Rainbow, P.S. 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what?. *Environmental Pollution*, 120: 497-507.

Rainbow, S.P. 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31: 183-192.

Richard, P., Riera, P., Galois, R. 1997. Temporal variations in the chemical and carbon isotope compositions of marine and terrestrial organic inputs in the Bay of Marennes-Oléron, France. *Journal of Coastal Research*, 13: 879-889.

Simoneau J. 1973. *Mar Menor; Evolution Sedimentologique et Geochimique recente du remplissage*. These présenté à l'Université Paul Sebatier de Toulouse (Sciences). France.

Snape, I., Scouller R.C., Stark, S.C., Stark, J, Riddle, M.J., Gore, D.B. 2004. Characterisation of the dilute HCl extraction method for the identification of metal contamination in Antarctic marine sediments. *Chemosphere*, 57: 491-504.

Trippel, E.A., and Beamish, F.W.H. 1993. Multiple trophic level structuring in *Salvelinus-Coregonus* assemblages in boreal forest lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50: 1442-1455.

USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). 2002. Review of Metals Action Plan; an EPA Science Advisory Broad Report. EPA-SAB-EC-LTR-03-001. Science Advisory Broad, Washington, DC, USA.

Velasco, J. Lloret, J., Millan, A., Marin, A., Barahona, J., Abellan, P., Sanchez-Fernandez, D. 2006. Nutrient and particulate inputs into the Mar Menor lagoon (SE Spain) from an intensive agricultural watershed. *Water, Air, and Soil Pollution*, 176:37-56.

Vizzini, S., Benedetto, S., Thang, D.C., Mazzola, A. 2005. Spatial variability of stable carbon and nitrogen stable isotope ratios in a Mediterranean coastal lagoon. *Hydrobiologia*, 550: 73-82.

Vizzini, S., Mazzola, A. 2003. Seasonal variations in the stable carbon and nitrogen isotope ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) of primary producers and consumers in a western Mediterranean coastal lagoon. *Marine Biology*, 142: 1009-1018.

Vizzini, S., Mazzola, A. 2004. Stable isotope evidence for the environmental impact of a land-based fish farm in the western Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, 49: 61-70.

Vizzini, S., Mazzola, A. 2006. The effects of anthropogenic organic matter inputs on stable carbon and nitrogen isotopes in organisms from different trophic levels in a southern Mediterranean coastal area. *Science of the Total Environment*, 368: 723-731.

Vizzini, S, Sará, G, Michener, RH, Mazzola, A. 2002. The trophic role of the macrophyte *Cymodocea nodosa* (Ucria) Asch. In a Mediterranean saltworks: evidence from carbon and nitrogen stable isotope ratios. *Bulletin of Marine Science*, 71: 1369-1378.

Wang, W.X. 2002. Interactions of trace metals and different marine food chains. *Marine Ecology Progress Series*, 243: 295-309.

Yamamuro, M. 1999. Importance of epiphytic cyanobacteria as food sources for heterotrophs in a tropical seagrass bed. *Coral Reefs* 18: 263-271.

Yamamuro, M. 2000. Chemical tracers of sediment organic matter origins in two coastal lagoons. *Journal of Marine Systems*, 26:127-134.

Yan QL, Wang WX (2002) Metal exposure and bioavailability to a marine deposit-feeding sipuncula *Sipunculus nudus*. *Environmental Science and Technology*, 36: 40–47.

Capítulo V

**Establecimiento del estado de calidad ecológico de
los fondos del Mar Menor y Portmán impactados
por la minería en el ámbito de la Directiva Marco
del Agua**

Establecimiento del estado de calidad ecológico de los fondos del Mar Menor y Portmán impactados por la minería en el ámbito de la Directiva Marco del Agua.

1. Introducción

La Directiva Marco del Agua Europea (DMA 2000/60/EC) establece un marco para la protección de todos los cuerpos del agua con el fin de prevenir su deterioro y asegurar que antes del 2015 alcancen un buen estado de calidad ecológico. La Directiva incluye las aguas superficiales interiores, las aguas subterráneas, las aguas de transición y las aguas costeras como categorías de los cuerpos del agua, y desarrolla el concepto de Estado de Calidad Ecológico (EcoQ), que se establece según cinco clases (*Alto, Bueno, Moderado, Pobre* y *Malo*). Este EcoQ se basará en el estado de, entre otros factores, aquellos elementos que reflejan calidad biológica, incluyendo la composición y la abundancia de fauna invertebrada bentónica. En mayo de 2001, una "estrategia común de implantación" (CIS) fue creada para asistir la implantación de la DMA, con el grupo de trabajo COAST encargado de las aguas costeras. Para establecer la calidad ecológica de fondos blandos y clasificar los cuerpos de aguas costeras, este grupo ha propuesto dos índices bióticos marinos, AMBI (Borja *et al.*, 2000) y BENTIX (Simboura y Zenetos, 2002), que se basan en la sensibilidad/tolerancia de la fauna bentónica a gradientes de estrés causados por enriquecimiento orgánico, indicando que los métodos que combinan la composición, la abundancia y la sensibilidad puedan ser los más prometedores (Vincent *et al.*, 2002).

Históricamente, la Sierra de Cartagena-La Unión ha sufrido la explotación minera para la extracción de piritas y sulfuros de plomo. Durante el siglo XX, los lavaderos de mineral utilizaron técnicas de flotación para extraer los metales, produciendo grandes cantidades de residuos mineros. Estos residuos fangosos fueron descargados en la bahía de Portmán (Mar Mediterráneo) y en la adyacente laguna costera del Mar Menor, produciendo un alto grado de contaminación de los sedimentos por metales. Durante las operaciones mineras, se bombearon 3.000-10.000 toneladas diarias de residuos mineros en la bahía de Portmán, entre 1958 y 1991, primero directamente en la bahía y más adelante, cuando se colmató, a través de un emisario más de 2 kilómetros en longitud. En total, aproximadamente 50 millones de toneladas de residuos mineros se vertieron en la bahía durante este período, incluyendo metales pesados tóxicos, como por ejemplo el cadmio, cobre, plomo y cinc. El Mar Menor es la laguna costera más grande de España y una de las más grandes de Europa y del Mar Mediterráneo. La laguna es relativamente somera con una profundidad media de 3,5 m y una profundidad máxima de aproximadamente 6 m. Hasta los años 50, los residuos generados por las actividades mineras eran descargados en la laguna costera a través de las ramblas que drenan la sierra minera. Incluso hoy en día, cuando ocurren fenómenos de lluvias torrenciales, los estériles mineros de las montañas continúan entrando en la laguna. Estudios previos (Cesar *et al.*, 2004; De León *et al.*, 1982;

1984; Pérez y Puente, 1989) han mostrado altas concentraciones de Zn, de Pb, y de Cd en los sedimentos de ambos ecosistemas.

En el presente estudio, los índices bióticos (AMBI y BENTIX) fueron aplicados en ambos ecosistemas mediterráneos para probar su aplicabilidad en la valoración de la contaminación por metales. Junto con estos índices, se han empleado los parámetros clásicos descriptores de la comunidad (abundancia, diversidad de Shannon-Wiener, riqueza de especies de Margalef, equitatividad de Pielou y dominancia de Simpson), el índice biótico relativo (RBI) (Anderson *et al.*, 1998) desarrollado para una aplicación regional en estuarios de Norte América y adaptado a nuestras condiciones, y el ampliamente empleado método de la Comparación de la Abundancia y la Biomasa (ABC) (Warwick, 1986). Se emplearon también bioensayos de toxicidad de la interfase agua-sedimento, usando embriones de erizo de mar, y análisis físico-químicos de los sedimentos para evaluar la clasificación de EcoQ obtenida con los diversos índices, puesto que, en ecosistemas marinos y estuarinos, las aproximaciones biológicas pueden ser complementadas con métodos de valoración químicos y de toxicidad como evaluaciones independientes de la calidad ecológica (Dauer, 1993; Elliot, 1994).

El objetivo del actual estudio fue evaluar el estado de calidad ecológica de dos ecosistemas marinos afectados por la misma fuente de contaminación por metales pesados (Mar Mediterráneo y laguna del Mar Menor), así como examinar la utilidad de la aplicación de los índices bióticos bentónicos propuestos en la Directiva 2000/60/EC para la clasificación de los cuerpos de agua costeros, junto con otras metodologías bentónicas ampliamente empleadas.

2. Material y Métodos

2.1. Área de estudio y puntos de muestreo

El estudio tiene lugar cerca de la costa mediterránea de la Sierra de Cartagena-La Unión y en la laguna costera del Mar Menor (SE España). Las muestras de sedimento fueron recogidas en la costa de Portmán en Marzo de 2002, a lo largo de un gradiente espacial en un mismo rango de profundidad (10-15 m). Seis estaciones de muestreo fueron distribuidas entre el vertido minero en la bahía de Portmán y la reserva marina de Cabo de Palos-Islas Hormigas (OSO-ENE; figura 1). Desde las estaciones PG y PN localizadas a ambos lados de la bahía de Portmán y por lo tanto próximas a la zona de vertido de los residuos, a las estaciones PE y PL situadas cercanas a Calblanque y cabo de Palos lejanas por lo tanto de la influencia del mismo. Las estaciones se caracterizan por la presencia de fondos arenosos y se encuentran situadas en secciones de costa rocosa expuesta. En la laguna del Mar Menor, seis estaciones de muestreo fueron seleccionadas en la cubeta sur de la laguna, con rangos de salinidad similares para reducir al mínimo diferencias posibles en estructura y la composición entre las poblaciones debido a los gradientes naturales característicos de lagunas costeras. Dos de estas estaciones, BW y PW, fueron situadas en la desembocadura

de dos ramblas a través de las cuales los estériles mineros eran descargados en la laguna (figura 1). Las muestras fueron tomadas en mayo de 2001. Cuatro replicas de sedimento fueron recogidas por buceadores en todos los puntos en ambos ecosistemas mediterráneos.

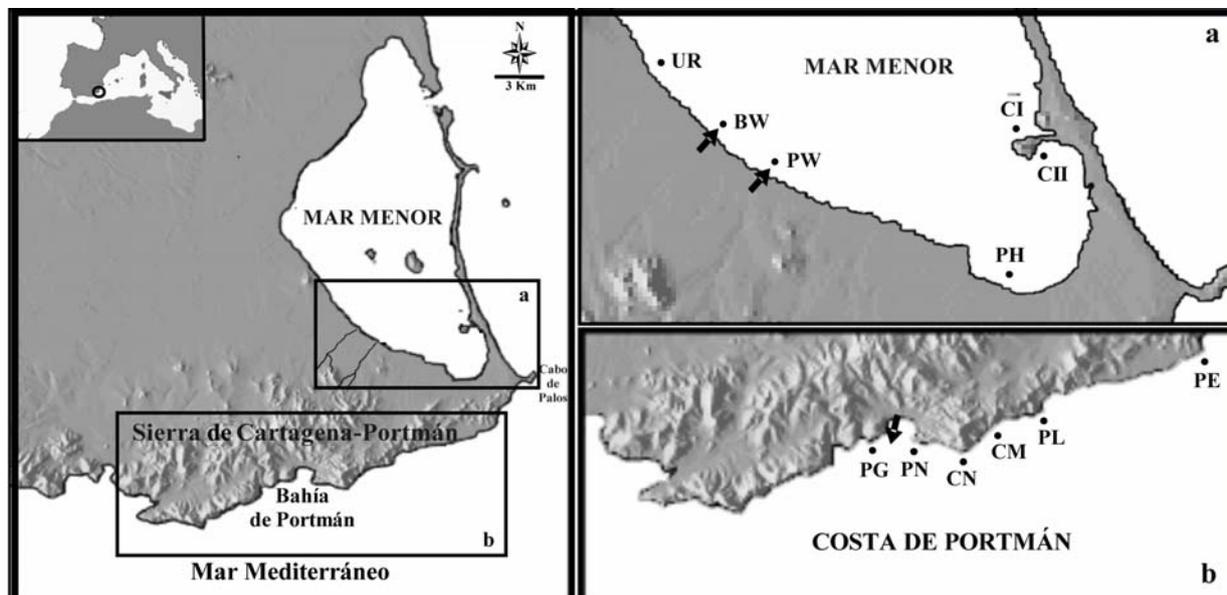


Figura 1.- Mapa de la zona de estudio y localización de las estaciones de muestreo: a) Laguna del Mar Menor; b) Costa de Portmán. Las flechas negras indican los puntos de descarga de los residuos mineros.

2.2. Parámetros descriptivos de las comunidades bentónicas

Las muestras de fauna bentónica se recolectaron empleando una draga de mano de 0,09 m² y tamizadas a través de una malla de 0,5 milímetros de luz. Los macroinvertebrados fueron fijados con formaldehído al 4%, y posteriormente lavados y transferidos a alcohol al 70% antes de ser clasificados e identificados al nivel taxonómico más bajo posible (generalmente a nivel de especie). Posteriormente su biomasa fue determinada (peso seco libre de cenizas). Para describir la estructura de las comunidades bentónicas, se emplearon los parámetros descriptivos clásicos incluyendo la abundancia de individuos, el índice de diversidad de Shannon-Wiener (H' , \log_2), la riqueza de especies de Margalef (S), la equitatividad de Pielou (J) y la dominancia de Simpson (D).

2.3. Índices biológicos bentónicos

El AMBI (índice biótico marino de AZTI), definido por Borja *et al.* (2000, 2003a), es un índice biótico que proporciona una clasificación de la contaminación, representando la salud de la comunidad bentónica (*sensu* Grall y Glémarec, 1997). Está basado en la distribución de las especies en cinco grupos ecológicos (GE) (sensible a la contaminación, indiferente, tolerante, y especies oportunistas de primer y segundo orden). La distribución de éstos GE, según su sensibilidad a la contaminación, proporciona un coeficiente biótico

que fue adaptado a los cinco EcoQ propuestos por la Directiva Marco del Agua (Borja et al., 2003b; 2004). Para el cálculo del índice se ha empleado el programa informático AMBI[®] (libremente disponible en <http://www.azti.es>).

En 2002, Simboura y Zenetos desarrollaron un nuevo índice biótico (BENTIX) basado en la idea inicial de Borja *et al.* (2000), la novedad de este índice recae en la reducción de los cinco grupos ecológicos anteriores en dos más amplios (el sensible y el tolerante). El sistema de clasificación aparece en función del índice, incluyendo los cinco niveles de calidad ecológica propuestos por la DMA. Otro índice biológico usado fue el índice bentónico relativo (RBI), desarrollado por Anderson *et al.* (1998; 2001), basado en las respuestas de las comunidades bentónicas marinas a perturbaciones antropogénicas y naturales. El RBI usa seis categorías (número total de especies, número de especies de crustáceos, número de especies de moluscos, número de individuos de crustáceos, y la presencia o la ausencia de especies positivas y negativas) y fue desarrollado para zonas particulares seleccionando diferentes especies indicadoras. Para adaptar el RBI a las áreas aquí estudiadas y a los objetivos marcados, el índice, que abarca un rango de valores entre el 0 y 1, y que originalmente fue dividido en tres categorías, lo adaptamos a los cinco EcoQs establecidas en la DMA, correspondiendo a 0,00-0,20 un EcoQ "malo"; a 0,21-0,40 uno "pobre"; a 0,41-0,60 uno "moderado"; un EcoQ "bueno" a valores comprendidos entre 0,61 y 0,80, y finalmente un EcoQ "alto" cuando se obtengan con el índice valores entre 0,81 y 1,00. La selección de las especies positivas (sensibles) y negativas (tolerantes) en ambos ecosistemas se realizó de acuerdo con Hunt *et al.* (2001a), quien mostró que los indicadores positivos no son generalmente encontrados en habitats contaminados, siendo generalmente característicos de zonas donde las perturbaciones antropogénicas no desempeñan un papel importante en la estructuración las comunidades, mientras que los indicadores negativos son abundantes en estaciones contaminadas y no se encuentran en puntos no contaminados. Finalmente, para que la especie positiva y negativa fuera incluida en el cálculo del RBI, estas deben haber sido previamente identificadas como sensibles o tolerantes, respectivamente, en listas existentes de especies indicadoras (por ejemplo: AMBI, BENTIX).

El método ABC (comparación de la abundancia y la biomasa), descrito originalmente por Warwick (1986), está basado en la combinación en un mismo gráfico de las curvas de *K-dominancia* de abundancia y biomasa de las especies encontradas en una estación. La posición de una curva con respecto a la otra identifica tres condiciones de perturbación del sedimento: no perturbado, moderadamente perturbado y ampliamente perturbado. El estadístico *W* de Clarke (Clarke, 1990) mide el área entre las dos curvas, de manera que valores cercanos a cero indican un estado moderado de perturbación, mientras que aquellos lejanos a cero (positivo o negativo) indican estados no perturbado o ampliamente perturbados. Los valores del estadístico *W* que varían por los tanto entre -1 y 1, son divididos en cinco clases estableciendo los límites entre clases de la siguiente manera: -

1,00 < W < -0,50 EcoQ “malo”, -0,49 < W < -0,15 EcoQ “pobre”, -0,14 < W < 0,14 EcoQ “moderado”, 0,15 < W < 0,49 EcoQ “bueno” y 0,50 < W < 1,00 EcoQ “alto”.

2.4. Pruebas de toxicidad

Se evaluó la toxicidad de la interfase agua-sedimento mediante el empleo de pruebas de desarrollo embrio-larval con dos especies de erizos marinos, *Arbacia lixula* y *Paracentrotus lividus*, siguiendo los procedimientos descritos por Cesar *et al.* (2004) y de acuerdo con las guías aceptadas internacionalmente (Environment Canada, 1992; USEPA, 1995, 2002; CETESB, 1999). Los bioensayos se desarrollan en tubos de poliestireno de 15 ml. Con la ayuda de una jeringuilla de 5 ml con el extremo cortado, 2 ml de la superficie de un core de sedimento fueron introducidos en los tubos a los que posteriormente se añadieron 8 ml de agua control (1sedimento/4agua) con cuidado para minimizar la resuspensión. Los tubos fueron mantenidos durante 24 horas para permitir su estabilización. Posteriormente con la ayuda de una varilla de cristal se colocaron en la interfase agua-sedimento una malla circular (100 µm) con el mismo diámetro que los tubos. La duración de los bioensayos subcrónicos fue de 28-30 horas para la especie *P. lividus* y de 38-40 horas para *A. lixula*, tras los cuales se contaba el número de larvas pluteus normalmente desarrolladas. Los sedimentos de la Isla del Fraile, situada en el Mediterráneo a unos 60 Km de Portmán, donde eran recolectados los erizos adultos, fueron empleados como control de la validez de los bioensayos. Con el fin de asociar los cinco EcoQ con los resultados obtenidos en los bioensayos de toxicidad, la media de los resultados de ambas especies fue dividida en los cinco EcoQ propuestos en la DMA: 0-20% de Pluteus = EcoQ “malo”, 21-40% = EcoQ “pobre”, 41-60% = EcoQ “moderado”, 61-80% = EcoQ “bueno” y 81-100% = EcoQ “alto”. Estos umbrales establecidos fueron probados frente a varios atributos de calidad del sedimento, tales como la concentración de metales o la diferencia molar entre las concentraciones de sulfuros y de metales extraídos simultáneamente a estos.

2.5. Análisis físico-químicos de los sedimentos

La distribución de tamaño de partículas del sedimento fue determinada mediante tamizado mecánico en seco. El contenido en carbono orgánico total (COT) fue determinado en la fracción fina del sedimento (<63 µm) con un analizador elemental Carlo Erba Instruments (EA1108) tras el tratamiento de la muestra con HCl 1 N para eliminar los carbonatos (Verdardo, *et al.* 1990). El porcentaje de materia orgánica en las muestras fue estimado mediante la pérdida de peso tras la ignición de las muestras a 450°C durante 6 horas.

Las muestras de sedimento para la determinación de los sulfuros (AVS) y los metales extraídos de forma simultánea (SEM) fueron analizados por la técnica descrita por Allen *et al.* (1993). El sulfuro de hidrógeno era determinado con un electrodo selectivo plata/sulfuro (ThermoOrion, model 9616). Los metales extraídos de forma simultánea a los sulfuros (Zn,

Pb, Cu y Cd) fueron analizados con un espectrómetro óptico de emisión (Optima 2000 DV-Perquin Elmer) en el caso de los sedimentos de Portmán y mediante voltamperometría anódica con gota de mercurio (Metrohm 646 VA Processor) los del Mar Menor.

2.6. Análisis de datos

Los análisis de los datos de ambas comunidades bentónicas se realizaron usando el paquete estadístico PRIMER v5 (Plymouth Routines In Marine Ecological Research), (Clarke y Gorley, 2001). La matriz de similaridad de Bray-Curtis fue calculada a partir de los datos de abundancia de invertebrados transformados con la doble raíz, y para la clasificación de las estaciones se empleó un escalamiento multidimensional (MDS) también propuesto por el grupo de trabajo COAST, creado por la estrategia común de implantación (CIS) (Vincent *et al.*, 2002). Con el fin de estimar el grado de asociación entre los resultados obtenidos con las distintas metodologías empleadas (índices bióticos bentónicos, descriptores de la comunidad y bioensayos de toxicidad) y la carga de metales contenidos en los sedimentos (concentración de metales totales, SEM, SEM-AVS) se realizaron análisis de correlaciones de Pearson (Statistica v4.5[©]).

3. Resultados

3.1. Análisis físico-químicos de los sedimentos

En la tabla 1 se resumen los resultados de los análisis físico-químicos del sedimento. Los sedimentos de las estaciones estudiadas estaban compuestos principalmente por arenas finas, presentando las estaciones CN y PN en Portmán y BW y CI en el Mar Menor los mayores porcentajes en arcillas-fango y también de materia orgánica y carbono orgánico total.

Observando las concentraciones de metales en la costa de Portmán vemos como las estaciones localizadas en ambos extremos de la bahía (PN y PG) presentan las mayores concentraciones de metales, decreciendo conforme la distancia a la bahía se incrementa (PG>PN>CM>CN>PL>PE). El cobre solo se detectó en las dos primeras estaciones, mientras que el cadmio no fue detectado en ninguna. Solo la estación PL presentó una diferencia molar negativa entre los SEM y los AVS analizados, mostrando el resto de estaciones una diferencia molar positiva. En las estaciones PN y PG esta diferencia fue alta (>15 $\mu\text{mol/g}$ sedimento seco), indicando la posible biodisponibilidad de los metales. De acuerdo con la clasificación propuesta por Long *et al.* (1995) en función de las concentraciones de metales en sedimentos, las estaciones PN y PG se encontraban altamente contaminadas por Zn y Pb, mientras que el resto de estaciones eran clasificadas como ligeramente contaminadas por los cuatro metales, excepto la estación CM, la cual fue clasificada como moderadamente contaminada por plomo (Tabla 2). En el Mar Menor, las mayores concentraciones de metales fueron encontradas en las estaciones UR, BW y PW, presentando las dos primeras alta diferencia molar entre las concentraciones de SEM y AVS. Para el resto de estaciones, las

concentraciones de metales fueron relativamente bajas, presentando las estaciones CI y CII diferencia molar negativa entre las concentraciones SEM-AVS. Observando el contenido en Cu y Cd, todas las estaciones presentaron niveles bajos de contaminación (Long *et al.*, 1995), mientras que los niveles de Zn clasificaron a UR y BW como altamente contaminadas y a la estación PW como moderadamente contaminada. Los niveles de Pb por su parte apuntaron a un nivel alto de contaminación en UR, BW, PW y PH, siendo este moderado en las estaciones CI y CII (Tabla 2).

Tabla 1.- Resumen de los análisis físico-químicos de los sedimentos. Porcentaje de la fracción de finos (% finos) y arenas (% arenas), contenido en materia orgánica (%MO) y en carbono orgánico total (%COT), concentración de amonio (mg/l), de metales pesados (Zn, Pb, Cu y Cd), metales extraídos de forma simultánea a los sulfuros (SEM=Zn+Pb+Cu+Cd) y la concentración de sulfuros (AVS). Las concentraciones de metales, SEM y AVS están dadas en (μmol/g sed. seco). ND = no detectable, para Cu y Cd dichos límites son 0,003 y 0.002 μmol/g sed. seco, respectivamente. Valor medio (desviación estándar).

| Parámetros | Portmán | | | | | | Mar Menor | | | | | |
|-----------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| | PG | PN | CN | CM | PL | PE | UR | BW | PW | PH | CI | CII |
| % finos | 4,19 (0,11) | 4,3 (2,7) | 0,2 (0,17) | 3 (1,0) | 0,72 (0,07) | 0,41 (0,11) | 0,45 (0,19) | 10,53 (5,29) | 0,58 (0,10) | 0,18 (0,12) | 0,16 (0,02) | 8,39 (0,58) |
| % arena | 95,8 (0,12) | 79,3 (9,1) | 61,5 (9,4) | 96,9 (0,96) | 99,3 (0,07) | 99,6 (0,11) | 99,1 (0,45) | 89,1 (6,62) | 95,0 (0,49) | 89,9 (2,60) | 96,3 (6,14) | 81,7 (8,5) |
| % MO | 6,22 (0,5) | 5,16 (0,81) | 1,38 (0,15) | 2,28 (0,10) | 0,74 (0,08) | 0,73 (0,07) | 3,08 (0,18) | 8,17 (0,32) | 2,43 (0,41) | 2,23 (0,07) | 3,17 (0,14) | 3,06 (0,02) |
| % COT | 18,3 (3,3) | 16,7 (0,5) | 0,58 (0,02) | 1,49 (0,18) | 0,29 (0,007) | 0,12 (0,004) | 0,85 (0,02) | 1,60 (0,24) | 1,40 (0,03) | 0,90 (0,02) | 1,17 (0,05) | 1,29 (0,61) |
| NH₄ | 0,003 (0,0005) | 0,006 (0,00) | 0,007 (0,0005) | 0,005 (0,0005) | 0,006 (0,00) | 0,004 (0,0005) | 0,005 (0,001) | 0,010 (0,003) | 0,006 (0,001) | 0,005 (0,0004) | 0,007 (0,001) | 0,007 (0,002) |
| Zn | 15,34 (3,07) | 13,47 (0,45) | 0,34 (0,02) | 1,17 (0,19) | 0,21 (0,005) | 0,08 (0,00) | 6,37 (1,09) | 62,07 (4,35) | 4,12 (0,43) | 0,81 (0,02) | 1,14 (0,14) | 0,97 (0,23) |
| Pb | 2,98 (0,31) | 3,14 (0,20) | 0,20 (0,005) | 0,30 (0,02) | 0,08 (0,008) | 0,04 (0,00) | 6,62 (0,21) | 45,98 (13,10) | 1,25 (0,15) | 1,21 (0,09) | 0,29 (0,01) | 0,25 (0,04) |
| Cu | 0,007 (0,009) | 0,003 (0,005) | ND | ND | ND | ND | 0,06 (0,02) | 0,55 (0,02) | 0,18 (0,03) | 0,02 (0,004) | 0,02 (0,004) | 0,03 (0,008) |
| Cd | ND | ND | ND | ND | ND | ND | 0,01 (0,001) | 0,02 (0,01) | 0,005 (0,001) | 0,002 (0,0005) | 0,003 (0,0005) | 0,004 (0,001) |
| SEM | 18,32 (3,32) | 16,67 (0,054) | 0,59 (0,03) | 1,49 (0,18) | 0,29 (0,008) | 0,12 (0,005) | 13,06 (1,21) | 108,62 (14,48) | 5,56 (0,50) | 2,04 (0,10) | 1,46 (0,14) | 1,25 (0,26) |
| AVS | 0,32 (0,31) | 0,28 (0,09) | 0,25 (0,04) | 0,30 (0,05) | 0,29 (0,07) | 0,012 (0,005) | 1,48 (0,67) | 2,44 (2,72) | 5,46 (1,10) | 0,50 (0,04) | 1,47 (0,33) | 2,83 (0,97) |
| SEM-AVS | 18,00 (3,02) | 16,39 (0,52) | 0,34 (0,03) | 1,18 (0,22) | -0,005 (0,06) | 0,10 (0,01) | 11,58 (0,81) | 106,18 (5,18) | 0,10 (0,08) | 1,54 (0,14) | -0,02 (0,02) | -1,58 (0,78) |

Tabla 2.- Clasificación de la contaminación de las estaciones de estudio en función de sus concentraciones de metales de acuerdo con la clasificación propuesta por Long *et al.* (1995). Contaminación baja o ausente (B), contaminación intermedia o moderada (M), y contaminación alta (A).

| Metales | Portmán | | | | | | Mar Menor | | | | | |
|----------------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| | PG | PN | CN | CM | PL | PE | UR | BW | PW | PH | CI | CII |
| Zn | A | A | B | B | B | B | A | A | M | B | B | B |
| Pb | A | A | B | M | B | B | A | A | A | A | M | M |
| Cu | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B |
| Cd | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B | B |

3.2. Pruebas de toxicidad

En ambos ecosistemas estudiados, las dos especies de erizos marinos empleados en los bioensayos de toxicidad presentaron respuestas similares entre sí. Los mayores efectos tóxicos se encontraron en aquellas estaciones cuyos sedimentos presentaron los mayores contenidos en metales. Estas estaciones se corresponden con los lugares localizados cerca de las descargas de residuos mineros (PG y PN en la costa de Portmán y BW, PW y UR en el Mar Menor)(Tabla 3). Las muestras control empleadas en las pruebas validaron los resultados obtenidos al presentar porcentajes de larvas normalmente desarrolladas de $89,7 \pm 5,5$ y $87,5 \pm 5,3$ para *A. lixula* y *P. lividus* respectivamente. Los valores medios obtenidos uniendo las respuestas de ambas especies clasificaron las estaciones de la siguiente manera: para la costa de Portmán, EcoQ *alto* en PE, EcoQ *bueno* en PL, *moderado* en CM, *pobre* en CN y *malo* en las estaciones PN y PG. Por su parte, en el caso del Mar Menor los resultados de toxicidad clasificaron a la estación CI con un EcoQ *bueno*, con EcoQ *moderado* la estación PH, a las estaciones PW y UR les correspondió un EcoQ *pobre*, mientras la estación BW mostró un EcoQ *malo* (Tabla 4).

Tabla 3.- Resumen de los índices aplicados: número de especies, abundancia (N/m²), riqueza de Margalef (S), diversidad de Shannon-Wiener (H', log₂ basis), equitatividad de Pielou (J), dominancia de Simpson (D), AMBI (coeficiente biótico, CB), BENTHIX, RBI y ABC (W-statistic), y test de toxicidad con erizos (porcentaje de larvas pluteus). Valores medios ± desviación estándar. N.D. dato no disponible.

| Índices | Portmán | | | | | | Mar Menor | | | | | |
|--|-----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | PG | PN | CN | CM | PL | PE | UR | BW | PW | PH | CI | CII |
| Nº especies | 7 ± 1 | 15 ± 3 | 8 ± 2 | 18 ± 2 | 19 ± 4 | 26 ± 2 | 7 ± 1 | 4 ± 1 | 7 ± 4 | 5 ± 2 | 9 ± 2 | 11 ± 2 |
| Nº Indiv. (N/m²) | 2956 ± 787 | 2416 ± 672 | 450 ± 144 | 3238 ± 1345 | 2250 ± 1026 | 2025 ± 235 | 272 ± 87 | 183 ± 46 | 367 ± 108 | 2731 ± 827 | 4305 ± 1852 | 1139 ± 692 |
| Riqueza (S) | 1,38 ± 0,30 | 3,51 ± 0,82 | 2,86 ± 0,39 | 3,86 ± 0,37 | 4,25 ± 0,86 | 5,87 ± 0,48 | 1,81 ± 0,16 | 1,10 ± 0,56 | 1,77 ± 1,03 | 0,63 ± 0,40 | 1,42 ± 0,33 | 2,31 ± 0,14 |
| Diversidad H' (log₂) | 0,80 ± 0,22 | 2,04 ± 0,27 | 1,95 ± 0,15 | 2,12 ± 0,23 | 2,43 ± 0,23 | 2,93 ± 0,14 | 1,52 ± 0,08 | 1,03 ± 0,57 | 1,24 ± 0,73 | 0,50 ± 0,12 | 0,31 ± 0,22 | 1,31 ± 0,34 |
| Equitatividad (J) | 0,39 ± 0,08 | 0,72 ± 0,07 | 0,88 ± 0,03 | 0,72 ± 0,07 | 0,82 ± 0,02 | 0,89 ± 0,03 | 0,80 ± 0,07 | 0,71 ± 0,27 | 0,62 ± 0,21 | 0,39 ± 0,12 | 0,14 ± 0,10 | 0,55 ± 0,18 |
| Dominancia (D) | 0,61 ± 0,12 | 0,21 ± 0,05 | 0,18 ± 0,02 | 0,18 ± 0,05 | 0,13 ± 0,03 | 0,07 ± 0,02 | 0,28 ± 0,04 | 0,46 ± 0,02 | 0,46 ± 0,29 | 0,74 ± 0,06 | 0,89 ± 0,09 | 0,47 ± 0,16 |
| AMBI (BC) | 2,67 ± 0,15 | 1,20 ± 0,31 | 1,15 ± 0,49 | 2,39 ± 1,19 | 1,14 ± 0,53 | 0,98 ± 0,28 | 0,35 ± 0,16 | 0,99 ± 1,01 | 1,74 ± 1,54 | 0,01 ± 0,03 | 0,12 ± 0,09 | 0,73 ± 0,39 |
| BENTHIX | 5,27 ± 0,85 | 3,21 ± 0,71 | 5,38 ± 0,48 | 3,21 ± 0,50 | 3,74 ± 0,27 | 4,21 ± 0,35 | 3,91 ± 0,47 | 4,23 ± 1,43 | 2,91 ± 1,12 | 5,98 ± 0,03 | 5,86 ± 0,13 | 5,23 ± 0,45 |
| RBI | 0,31 ± 0,05 | 0,28 ± 0,08 | 0,26 ± 0,05 | 0,42 ± 0,08 | 0,46 ± 0,12 | 0,65 ± 0,08 | 0,44 ± 0,05 | 0,29 ± 0,11 | 0,32 ± 0,11 | 0,55 ± 0,10 | 0,73 ± 0,11 | 0,60 ± 0,06 |
| ABC (W) | -0,01 ± 0,10 | 0,06 ± 0,05 | 0,41 ± 0,17 | -0,01 ± 0,05 | 0,19 ± 0,14 | 0,08 ± 0,07 | 0,121 ± 0,06 | 0,22 ± 0,27 | 0,16 ± 0,14 | -0,34 ± 0,09 | -0,21 ± 0,18 | -0,16 ± 0,22 |
| A. lixula (% Pluteus) | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 27,2 ± 2,5 | 41,25 ± 5,38 | 63,7 ± 5,06 | 91,7 ± 2,2 | 24,5 ± 2,1 | 11,5 ± 1,9 | 35,5 ± 5,5 | 48 ± 8,6 | 73,3 ± 5,51 | N.D. |
| P. lividus (% Pluteus) | 0 ± 0 | 8,5 ± 5,1 | 40,5 ± 5,2 | 40,7 ± 2,6 | 83 ± 1,4 | 85 ± 1,8 | 19,2 ± 4,1 | 9,5 ± 5,25 | 23 ± 2,2 | 53,2 ± 5,6 | 67,7 ± 3,1 | N.D. |

3.3. Parámetros descriptivos de la comunidad y análisis multivariantes

Se encontraron un total 83 especies en la costa de Portmán de las cuales solo cuatro, *Ampelisca typica*, *Apseudes latreillei*, *Photis longipes* y *Tellina donacina*, estuvieron presentes en todas las estaciones. La estación PG, cercana al punto de vertido en el lado oeste de la bahía, mostró los menores valores en abundancia, riqueza de especies S, diversidad H y equitatividad (Tabla 3). Presentando por otro lado los mayores valores de dominancia, al estar compuesta por dos especies muy abundantes, el crustáceo *Apseudes latreillei* y un poliqueto de la familia Sabellidae, alcanzando el primero densidades de 2225 individuos/m² y el segundo de 550 individuos/m² aproximadamente. Estos dos organismos fueron también las especies dominantes en la estación PN (lado este de la bahía) con densidades de 640 y 731 individuos/m² respectivamente.

Por su parte, la estación CN situada cercana a la bahía presentó los menores valores de abundancia, y junto con PG el menor número de especies. Los valores de riqueza y diversidad fueron bajos al igual que los de dominancia. Sin embargo, la estación CM, localizada entre las estaciones cercanas al emisario (PN, PG y CN) y las más alejadas (PE y PL), fue la estación que presentó los mayores valores de abundancia, siendo las especies más abundantes los poliquetos de las familias Capitellidae (*Capitella sp.*), Cirratulidae (*Chaetozone setosa*), Spionidae (*Prionospio sp.*) y Syllidae, algunas de ellas conocidas como indicadoras de inestabilidad ambiental (Simboura *et al.*, 1995; Picard, 1965; Pearson y Rosenberg, 1978), y el crustáceo *Monoculodes carinatus* el cual ha sido descrito como sensible a los contaminantes (Borja *et al.*, 2000; Simboura y Zenetos, 2002).

Los mayores niveles de riqueza, diversidad y equitatividad se encontraron en la estación más alejada de la bahía (PE), siendo en la única donde se encontraron las especies *Branchiostoma lanceolatum*, *Lucinella divaricata*, *Erichthonius punctatus* y *Apherusa alacris*, que han sido descritas como especies indicadoras sensibles (Simboura y Zenetos, 2002). La estación PL también presentó un alto número de especies y altos valores de diversidad y equitatividad, siendo su composición faunística similar a la de la estación PE. Las especies comunes a ambas estaciones fueron los crustáceos *Bathyporeira guilliamsoniana*, *Harpinia sp.*, *Phoxocephalus aquosus*, *Urothoe grimaldii* y la ofiura *Amphiura chiajei*. Aunque la composición de poliquetos de ambas estaciones (PE y PL) fueron similares a las de CM, la composición de crustáceos y moluscos fueron generalmente distintas, excepto en el caso de *Monoculodes carinatus*, un crustáceo identificado como sensible a los contaminantes (Simboura y Zenetos, 2002) y presente en las tres estaciones.

En la costa de Portmán, la técnica de ordenación empleada (MDS)(figura 2) mostró un gradiente claramente definido desde la estación PG a la PE. Las réplicas de la estación CN fueron representadas totalmente separadas del resto de estaciones y fuera del gradiente definido.

Portmán

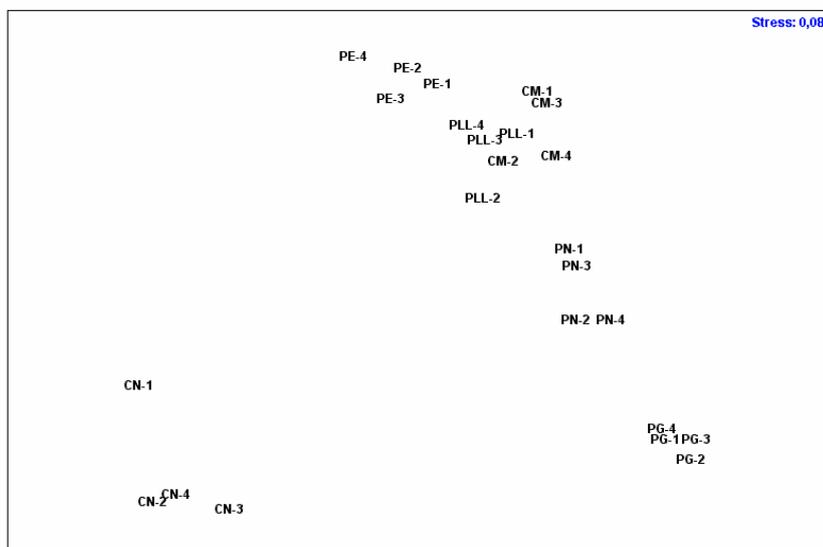


Figura 2.- Representación gráfica de la ordenación obtenida con el escalamiento multidimensional (MDS) de las estaciones de Portmán.

En la laguna costera del Mar Menor se encontraron un total de 31 especies. El anfípodo *Siphonoecetes sabatieri* presente en todas las estaciones, mostró una abundancia descendiente de la siguiente forma: CI > PH > CII > UR > BW > PW. Aunque las estaciones de la Isla del Ciervo, CI y CII presentaron el mayor número de especies (Tabla 3), fue la estación CI la que presentó los valores más bajos de diversidad y la mayor dominancia debido a la alta abundancia de *S. sabatieri* (4131 ± 1852 individuos/m²). Las especies sensibles *Cirrophorus sp* y *Venerupis aurea*, y la familia de poliquetos Maldanidae fueron encontrados únicamente en CII junto con la especie tolerante *Lucinella divaricata*. La estación PH también mostró niveles bajos de diversidad debido a la alta dominancia del poliqueto *Scolopos armiger* y del anfípodo *S. sabatieri*, especies claramente dominantes en esta estación con densidades de 363 ± 138 y 2308 ± 674 individuos/m² respectivamente. Los mayores niveles de diversidad fueron encontrados en la estación UR; y aunque presentó un número medio de especies y un número bajo de individuos, la distribución equitativa de los individuos entre las distintas especies mejoró los valores de diversidad. En esta misma estación se encontraron especies sensibles como *Cyclope neritea* (también presente en BW y PW) y *Tapes decussatus*, y especies tolerantes como *Turboella radiata* y *Loripes lacteus* (72 individuos/m²), siendo los moluscos el taxón dominante.

En la estación de la rambla de Ponce (PW) se encontraron varias especies descritas como tolerantes, entre ellas los poliquetos *Cirriiformia tentaculata* (83 individuos/m²) y *Platynereis dumerilii*, o el molusco *Cerastoderma glaucum* encontrado en bajas densidades. Observándose a su vez la presencia especies sensibles como *Tapes decussatus* y *Sphaeromma serratum*.

Respecto al número de especies y de individuos, la estación de la rambla de El Beal fue la que presentó los menores valores, mostrando una población similar a la de la rambla de Ponce, excepto por la ausencia de *Cirriformia tentaculata* y *Tapes decussatus*.

El escalamiento multidimensional (MDS) clasificó las estaciones de la laguna en tres grupos de acuerdo con las similitudes entre sus composiciones faunísticas (figura 3). Uno de los grupos estaba compuesto por las estaciones PH, CI y CII, con una réplica de la última estación (CII3) fuera del grupo. La estación UR formó otro grupo con las cuatro réplicas bien agrupadas, y las estaciones de las ramblas (BW y PW) cuyas réplicas estaban mezcladas y bien dispersas en el lado derecho de la gráfica, formaron un tercer grupo.

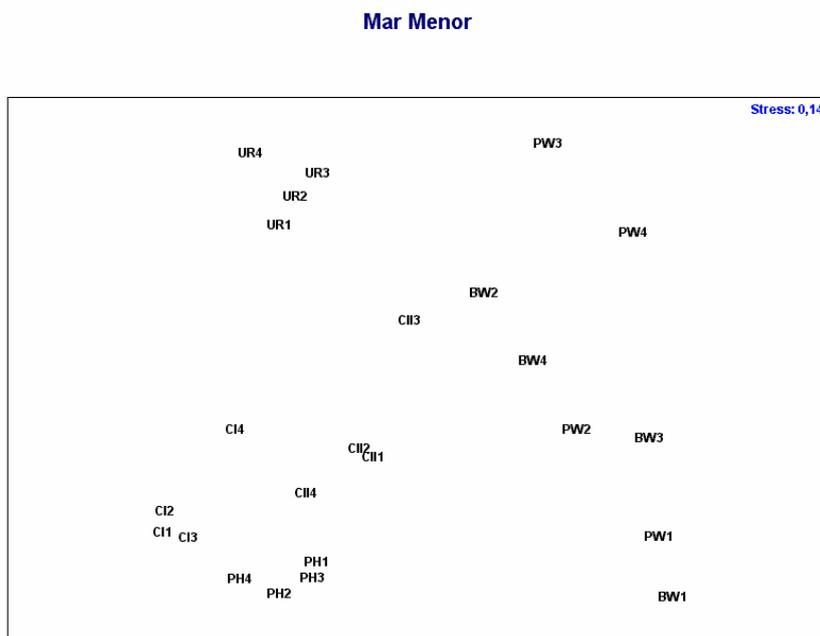


Figura 3.- Representación gráfica de la ordenación obtenida con el escalamiento multidimensional (MDS) de las estaciones del Mar Menor.

3.4. Índices biológicos bentónicos

AMBI

La aplicación del AMBI a la costa de Portmán ordenó la estaciones de la siguiente manera: PG>CM>PN>CN>PL>PE. Las estaciones más alejadas de la bahía, PE y PL, junto con CN fueron identificadas como no contaminadas, presentando la última la mayor variación entre sus réplicas (Tabla 3). El coeficiente biótico clasificó dichas estaciones con un EcoQ *alto* (Tabla 4), indicando por lo tanto que se trataba de comunidades bentónicas empobrecidas. Por otro lado, las estaciones situadas a ambos lados de la bahía, PG y PN, junto con la situada a una distancia intermedia del gradiente (CM) fueron clasificadas como ligeramente contaminadas con un EcoQ *bueno*, mostrando que sus comunidades bentónicas presentaban un estado de salud desequilibrado. Siendo la estación PG situada en la bahía,

la que presentó los mayores coeficientes bióticos y la mayor concordancia entre sus réplicas y CM situada a una distancia intermedia la mayor variabilidad entre réplicas (desde no contaminadas a principalmente contaminadas). En cualquier caso el porcentaje de individuos no asignados a ningún EG fue bajo (<5%).

En el caso de la laguna costera del Mar Menor, el AMBI clasificó todas las estaciones como no contaminadas con un EcoQ *alto*, excepto PW clasificada como ligeramente contaminada (EcoQ *bueno*). El índice biótico indicó que en el caso de las estaciones PH y CI, estas presentaban una comunidad bentónica con un estado de salud normal; con un estado de salud desequilibrado fue clasificada la estación PW; y con una salud empobrecida las comunidades del resto de estaciones (UR, BW y CII). Todas las estaciones presentaron gran uniformidad en la clasificación de sus réplicas, excepto PW donde las réplicas fueron clasificadas desde no contaminadas a principalmente contaminadas. El porcentaje de individuos no asignados a ningún GE fue bajo (<10%) en todas las estaciones.

BENTIX

Los resultados obtenidos aplicando el índice BENTIX en ambos ecosistemas se muestran en la Tabla 2. En las estaciones de la costa de Portmán, la clasificación de las estaciones en función de su grado de contaminación presentó a las estaciones CN y PG como lugares prístinos con un EcoQ *alto*. Las estaciones PE y PL alejadas de la bahía contaminada obtuvieron un EcoQ *bueno*, siendo clasificadas como ligeramente contaminadas. Y como lugares moderadamente contaminados, con un EcoQ *moderado* fueron clasificadas las estaciones PN y CM (Tabla 4).

Cuando el BENTIX fue aplicado en el Mar Menor, las estaciones fueron clasificadas de la siguiente forma: con una clasificación de prístino y con un EcoQ *alto* fueron clasificadas las estaciones PH, CI y CII, presentando un alto grado de concordancia entre réplicas. Aunque estas estaciones mostraron algunas especies tolerantes (*Heteromastus filiformis*, *Cirriformia tentaculata* y *Cerastoderma glaucum*), la gran abundancia del anfípodo *S. sabatieri* incrementó el porcentaje de individuos pertenecientes al GEI (especies sensibles) a más del 85%. Las estaciones UR y BW fueron clasificadas como ligeramente contaminadas o lugares de transición con un EcoQ *bueno*. Presentando la última de estas dos estaciones un alto grado de variabilidad entre réplicas, desde EcoQ *alto* (BENTIX=6) en una réplica donde solo se encontraba presente un organismo sensible (*Cyclope neritea*) hasta moderado (BENTIX=2,5) debido a la presencia de algunos individuos de *H. filiformis* y porque el 94% de su fauna, principalmente *S. armiger*, no fueron asignados a ningún GE. La estación PW fue clasificada como moderadamente contaminada, obteniendo diferentes valores de EcoQ entre sus réplicas: EcoQ *malo* en dos réplicas principalmente compuestas de *H. filiformis* y *C. tentaculata*, y una réplica con un EcoQ *bueno* presentando algunos individuos de *S. sabatieri*, *S. serratum* y *C. neritea*. El porcentaje de individuos no asignados a ningún GE

varió ampliamente entre estaciones, con los menores porcentajes correspondiendo a estaciones “prístinas” (<15%) y los mayores a las estaciones “contaminadas” (2,4-94%).

RBI

Los valores obtenidos aplicando el RBI a los dos ecosistemas estudiados se muestran en la Tabla 3. En el caso de la costa de Portmán las especies positivas/sensibles seleccionadas fueron las especies *Phoxocephalus aquosus*, *Urothoe grimaldii* (Amphipoda) y *Branchiostoma lanceolatum* (Branchiostomida), mientras que en el caso de las especies indicadoras negativas/tolerantes le correspondió al crustáceo *Apseudes latreillei* (Tanaidacea). Cuando el índice es dividido en los cinco estados de calidad ecológicos propuestos en la DMA, las estaciones fueron clasificadas de la siguiente forma: un EcoQ *bueno* para la estación PE, localizada lejos del punto de vertido de los residuos, un EcoQ *moderado* para las estaciones PL y CM situadas en la parte intermedia del transecto y un EcoQ *malo* a las estaciones PN, PG y CN localizadas cerca de la bahía (Tabla 4).

En el Mar Menor fueron identificadas como especies positivas/sensibles *Siphonoecetes sabatieri* (Amphipoda) y *Chamelea gallina* (Bivalvia) y como especies negativas/tolerantes el tanaidáceo *Leptochelia dubia*. Cuando el RBI fue aplicado en este ecosistema, las estaciones CI y CII fueron clasificadas con un EcoQ *bueno*, UR y PH con un EcoQ *moderado*, y aquellas estaciones localizadas en la desembocadura de las ramblas donde los residuos mineros eran descargados históricamente, un EcoQ *malo*. Las especies seleccionadas como positivas o negativas se corresponden con especies sensibles y tolerantes respectivamente, según la clasificación propuesta por Simboura y Zenetos (2002) y Borja *et al.* (2000).

Método de comparación de la Abundancia y la Biomasa

La aplicación del método ABC en la costa mediterránea de Portmán (figura 4) y los valores del estadístico *W* obtenidos (Tabla 3) mostraron que las estaciones PL y CN, ambos con sus curvas de abundancia y biomasa claramente separadas podían ser clasificadas como no perturbadas. El estadístico *W* obtenido en este par de estaciones fue mayor que 0,15, indicando un EcoQ *bueno*, mientras que en el resto de estaciones (PE, CM, PN y PG) se encontró un grado de perturbación moderado, ya que ambas curvas se encontraban cercanas y se cruzaban entre ellas. El estadístico *W* calculado para estas últimas estaciones ($-0,14 < W < 0,14$) las clasificaba teniendo un EcoQ *moderado* (Tabla 4).

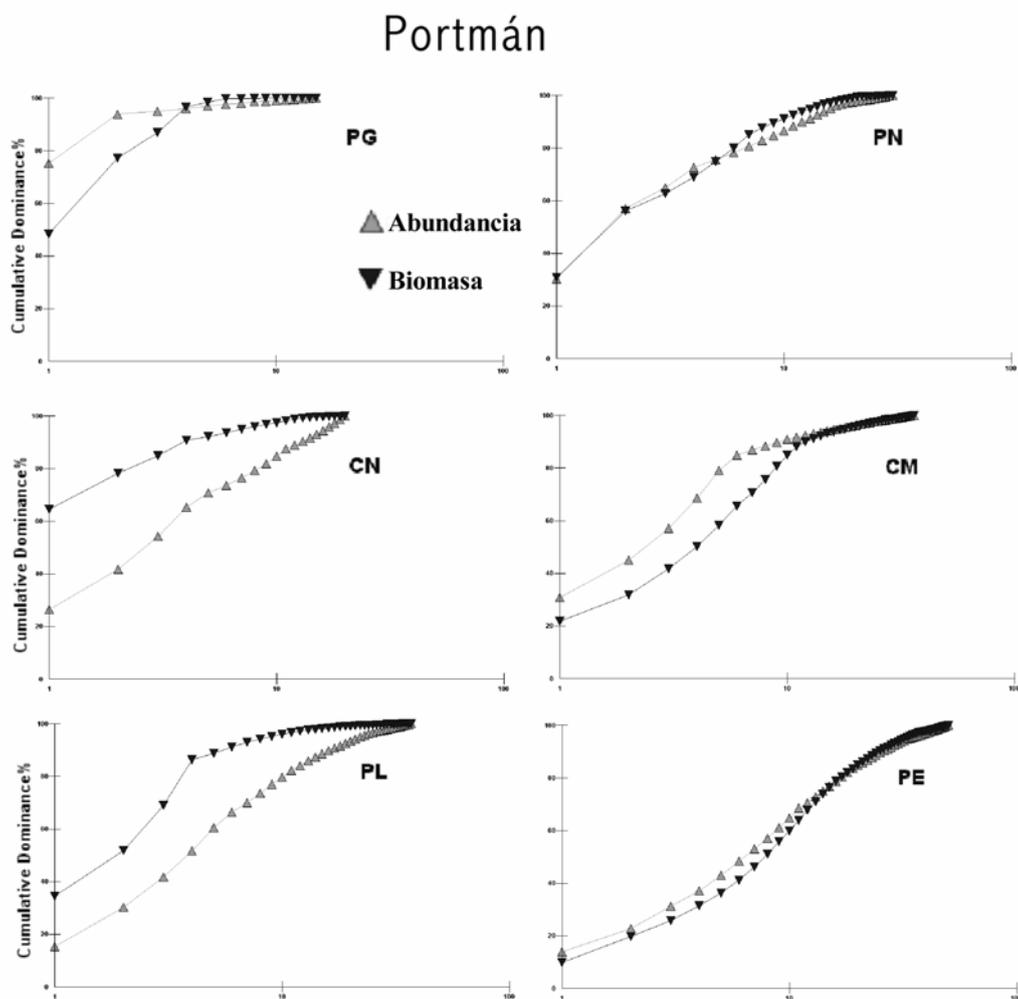


Figura 4.- Gráficas del método de comparación de la abundancia y la biomasa (ABC) de las estaciones de la costa de Portmán.

En la laguna del Mar Menor, las estaciones PH, CI y CII parecían estar perturbadas en un grado de moderado a alto al presentar sus curvas de abundancia por encima de las de biomasa (figura 5). Los valores negativos del estadístico W obtenidos en estas estaciones ($-0,49 < W < -0,15$) apuntaban a un EcoQ pobre (Tabla 2). Por su parte, en la estación UR, cuyas curvas de abundancia y biomasa se cruzaban y con valores del estadístico W comprendidos entre $-0,14$ - $0,14$, obtenía un EcoQ *moderado*. Por último, las estaciones BW y PW con $0,15 < W < 0,49$ eran clasificadas con un EcoQ *bueno*, presentando gran variabilidad entre sus réplicas.

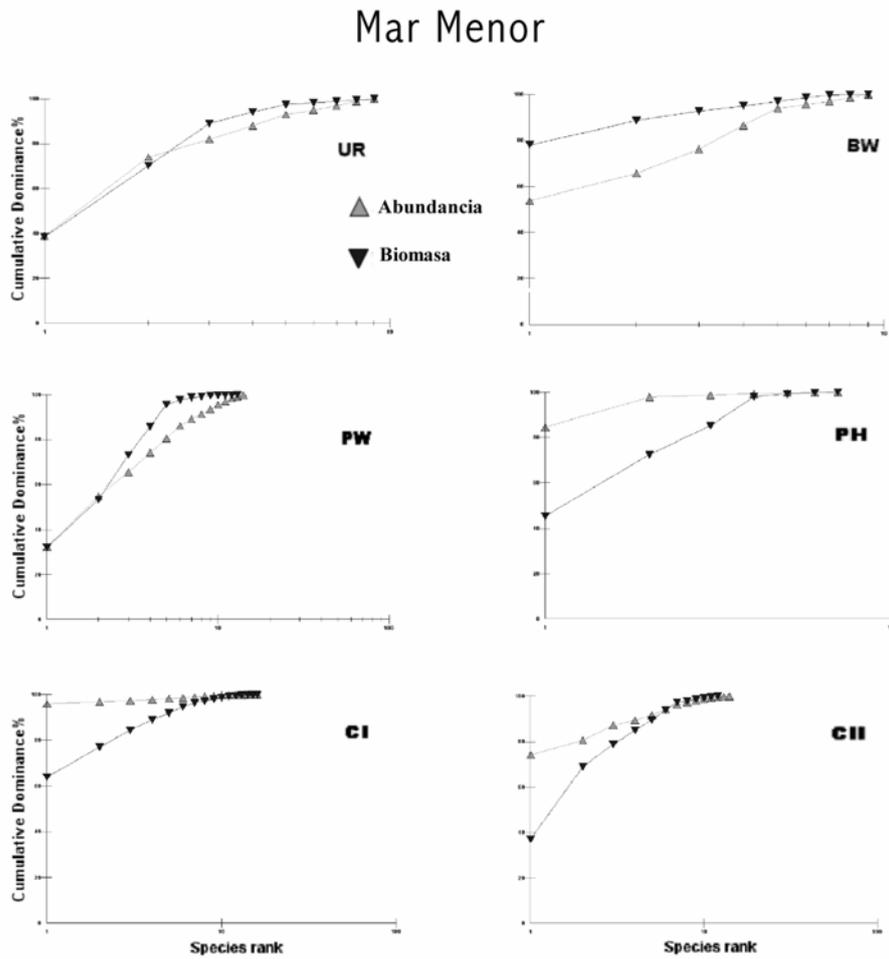


Figura 5.- Gráficas del método de comparación de la abundancia y la biomasa (ABC) de las estaciones del Mar Menor.

Tabla 4.- Resumen de los estados de calidad ecológicos (EcoQ) obtenidos mediante la aplicación de las distintas aproximaciones empleadas: índices bióticos bentónicos (AMBI, BENTHIX y RBI), el método de comparación entre la abundancia y la biomasa (ABC) y las pruebas de toxicidad con erizos (Toxicidad) en ambos ecosistemas estudiados, la costa de Portmán y la laguna costera del Mar Menor. N.D. dato no disponible.

| Parámetros | Portmán | | | | | | Mar Menor | | | | | |
|---------------------------------|-----------------|-----------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|-----------------|-----------------|--------------|--------------|
| | PG | PN | CN | CM | PL | PE | UR | BW | PW | PH | CI | CII |
| EcoQ AMBI | <i>bueno</i> | <i>bueno</i> | <i>alto</i> | <i>bueno</i> | <i>alto</i> | <i>alto</i> | <i>alto</i> | <i>alto</i> | <i>bueno</i> | <i>alto</i> | <i>alto</i> | <i>alto</i> |
| EcoQ BENTHIX | <i>alto</i> | <i>moderado</i> | <i>alto</i> | <i>moderado</i> | <i>bueno</i> | <i>bueno</i> | <i>bueno</i> | <i>bueno</i> | <i>moderado</i> | <i>alto</i> | <i>alto</i> | <i>alto</i> |
| EcoQ RBI | <i>pobre</i> | <i>pobre</i> | <i>pobre</i> | <i>moderado</i> | <i>moderado</i> | <i>bueno</i> | <i>moderado</i> | <i>pobre</i> | <i>pobre</i> | <i>moderado</i> | <i>bueno</i> | <i>bueno</i> |
| EcoQ - ABC (W-statistic) | <i>moderado</i> | <i>moderado</i> | <i>bueno</i> | <i>moderado</i> | <i>bueno</i> | <i>moderado</i> | <i>moderado</i> | <i>bueno</i> | <i>bueno</i> | <i>pobre</i> | <i>pobre</i> | <i>pobre</i> |
| EcoQ toxicidad | <i>malo</i> | <i>malo</i> | <i>pobre</i> | <i>moderado</i> | <i>bueno</i> | <i>alto</i> | <i>pobre</i> | <i>Malo</i> | <i>pobre</i> | <i>moderado</i> | <i>bueno</i> | <i>N.D.</i> |

4. Discusión

Las antiguas actividades mineras desarrolladas en la Sierra de Cartagena-La Unión han causado la contaminación por metales pesados en dos ecosistemas acuáticos mediterráneos próximos: la costa mediterránea de Portmán y la laguna costera del Mar Menor. En ambos ecosistemas se ha encontrado un amplio rango de concentraciones de metales en los sedimentos, presentando los lugares más próximos a las descargas de residuos mineros las mayores concentraciones, decreciendo estas conforme nos alejamos de dichos puntos de vertido. Estos gradientes de concentraciones de metales pueden ser identificados en ambos ecosistemas por medio de pruebas de toxicidad de la interfase agua-sedimento empleando erizos marinos. Las estaciones de estudio fueron clasificadas a través de dichas pruebas de toxicidad de acuerdo con los cinco estados de calidad ecológicos (EcoQs) propuestos en la Directiva, con clasificaciones que iban desde EcoQs *malos* a *altos*. Los bioensayos de toxicidad con erizos para la valoración de la calidad de sedimentos marinos han sido previamente empleados en otras zonas costeras mediterráneas y lagunas costeras, donde en general, las respuestas toxicológicas se correspondían de manera satisfactoria con los niveles de contaminación (Volpi Ghirardini *et al.*, 2003; Cesar *et al.*, 2004). En nuestro caso, cuando los resultados de los análisis químicos y de las pruebas de toxicidad de 11 estaciones (6 estaciones de Portmán y 5 del Mar Menor) con cuatro réplicas cada una (N=44) eran analizados con un análisis de correlaciones de Pearson, se obtuvieron correlaciones negativas significativas ($p < 0,001$ para Zn, $r = -0,53$; $p < 0,01$ para Pb, SEM y SEM-AVS, $r = -0,39$, $-0,46$ y $-0,47$, respectivamente; $p < 0,05$ para Cd y Cu, $r = -0,32$ y $-0,35$, respectivamente). La exposición de embriones de erizo en desarrollo a la interfase entre el sedimento y el agua proporciona un bioensayo de toxicidad ecológicamente más relevante para estas especies (Anderson *et al.*, 1996), pudiéndose considerar los resultados de estas pruebas de toxicidad como pronóstico de cambios ecológicos entre estaciones, ya que se trata de pruebas de toxicidad subcrónica que reflejan por lo tanto impactos crónicos en estaciones individuales.

Los parámetros clásicos descriptivos de la comunidad (riqueza de Margalef, diversidad de Shannon-Wiener, equitatividad de Pielou y dominancia de Simpson) mostraron una variación progresiva en las comunidades bentónicas a lo largo del gradiente de contaminación de la costa de Portmán. Aquellas estaciones con un bentos degradado (PG, PN y CN) presentaron menor número de especies, menor abundancia, menor diversidad y menores valores de índices bentónicos que aquellas estaciones con un bentos saludable (PE y PL). En la costa de Portmán, la ordenación de las estaciones obtenida por medio del MDS las agrupó en conformidad con el gradiente de contaminación comprendido entre las estaciones PG a PE, y de manera consistente con el contenido en metales analizado y con la clasificación obtenida en las pruebas de toxicidad. Sin embargo, los índices descriptivos clásicos no caracterizaron correctamente las estaciones de la laguna costera, mostrando las estaciones UR, BW y PW, que se encuentran claramente contaminadas por metales,

mayores valores de diversidad que la estación CI con un nivel moderado de contaminación por metales. Esta inconsistencia se debió principalmente a la gran abundancia (altos valores de dominancia) de una especie (*S. sabatieri*) en las estaciones CI, CII y PH. La contaminación por metales probablemente causa un efecto adverso para este anfípodo, disminuyendo su dominancia y por lo tanto incrementando los valores de diversidad de estas estaciones contaminadas. Un efecto similar ha sido recientemente descrito por Salas *et al.* (2004) en el estuario de Montego (Portugal), donde la abundancia de un pequeño crustáceo *Elminius* spp., producía una disminución en los valores de diversidad. Al igual que se ha observado anteriormente en ambientes naturalmente estresados (DelValls *et al.*, 1998; DelValls y Chapman, 1998; Drake *et al.*, 1999), la técnica multivariante empleada (MDS) agrupó y clasificó las estaciones de la laguna costera, en relación a su salud ecológica, mejor que los índices clásicos. En la laguna del Mar Menor, el MDS proporcionó conclusiones más consistentes que aquellas obtenidas con los parámetros descriptivos y parece ser una herramienta útil para evaluar la calidad ambiental de la laguna.

El método ABC (Warwick, 1986) no pareció funcionar de manera adecuada en ninguno de los ecosistemas estudiados contaminados por metales tóxicos. No se encontraron correlaciones significativas entre los resultados obtenidos con este método y las concentraciones de metales en los sedimentos o los resultados de las pruebas de toxicidad. Aunque este método es aplicable a una amplia variedad de tipos de perturbaciones, su aplicación en el caso de contaminación puramente tóxica (p.e. contaminación por metales) es cuestionable (Warwick *et al.*, 1987; Anderlini y Wear, 1992). Todas las estaciones de la costa de Portmán fueron clasificadas con EcoQs de *bueno* a *moderado*. A una estación claramente perturbada (CN) se la clasificó con un EcoQ *bueno*, mientras que la estación PE sin perturbación junto con las estaciones contaminadas fue clasificada con un EcoQ *moderado*. Aunque este método ha sido empleado con éxito en lagunas costeras Mediterráneas perturbadas por enriquecimiento orgánico debido al desarrollo de actividades acuícolas (Reizopoulou *et al.*, 1996), su aplicación en la laguna costera del Mar Menor clasificó las estaciones de forma contraria a su nivel de contaminación, debido principalmente a la alta abundancia del pequeño anfípodo *S. sabatieri* en las estaciones no contaminadas donde alcanzó en algunas réplicas el 95% de la abundancia total. Una situación similar ha sido descrita en dos estudios previos (Beukema, 1998; Salas *et al.*, 2004) donde la alta abundancia de pequeñas especies fuerza a zonas sin contaminación a ser clasificadas como perturbadas.

El índice RBI aplicado en USA para el control regional de la calidad del agua (Anderson *et al.*, 2001; Hunt *et al.*, 2001a), fue el índice que mejor clasificó las estaciones muestreadas en función de su grado de contaminación. Los resultados obtenidos con este índice se encontraron altamente correlacionados de forma positiva con los resultados de toxicidad ($p < 0,001$; $r = 0,69$) y negativamente correlacionados con los análisis químicos ($p < 0,05$ para Zn, SEM y SEM-AVS; $r = -0,38$, $-0,34$ y $-0,33$, respectivamente). El índice está

basado en la historia natural y la toxicología, teniendo en cuenta las respuestas de las comunidades marinas bentónicas a las perturbaciones naturales y antrópicas, siendo desarrollado para zonas concretas mediante la selección de diferentes especies indicadoras (Anderson *et al.*, 1996). La selección de las especies indicadoras debe basarse en respuestas conocidas ante perturbaciones, tales como atributos de la historia de la vida de las especies, así como de patrones de abundancia a lo largo de gradientes ambientales y entre estaciones de estudio (Anderson *et al.*, 1998). Por consiguiente, la selección de especies indicadoras a lo largo de gradientes ambientales o entre estaciones pueden influenciar los resultados obtenidos con el RBI, ya que las especies son seleccionadas en relación a su presencia-abundancia en ambos extremos del gradiente o en estaciones contaminadas-no contaminadas. En este sentido, antes de seleccionar las especies como positivas/sensibles o negativas/tolerantes, debemos de asegurarnos que estas mismas especies han sido previamente citadas como indicadoras para el mismo tipo de contaminación. Por otra parte, el RBI no tiene en cuenta la ausencia de verdaderas estaciones sin contaminar, como puede ser el caso del Mar Menor, limitando la selección de especies positivas y/o negativas y por lo tanto su aplicabilidad.

Uno de los índices bióticos bentónicos propuestos por el grupo de trabajo 2.4 del CIS (Coast) (Vincent *et al.*, 2002) para su aplicación en el ámbito de la DMA es el AMBI (Azti's Marine Biotic Index) (Borja *et al.*, 2000). Cuando el AMBI fue aplicado en ambos ecosistemas mediterráneos, solo se obtuvieron clasificaciones de EcoQs *altos* y *buenos* y no se encontraron correlaciones significativas entre este índice y el contenido en metales de los sedimentos. Aunque las clasificaciones obtenidas con este índice no parecen ser muy conservadoras al clasificar 9 de las 12 estaciones como con un EcoQ *alto*, en el caso de los valores obtenidos en la costa de Portmán, las estaciones fueron ordenadas de forma más o menos similar a la ordenación obtenida con los resultados químicos. En un trabajo previo, Borja *et al.* (2003a) analizó tres estaciones a lo largo de un transecto en profundidad situado frente a la Bahía de Portmán, obteniendo un EcoQ *bueno* ($2,0 < BC < 2,3$), una clasificación que parece ser excesivamente generosa puesto que Cesar *et al.* (2003) encontró altos niveles de metales y toxicidad en estaciones localizadas muy cerca de las estudiadas por Borja *et al.* (2003a). En este sentido, pensamos que ya que las especies indicadoras generadas para el AMBI están basadas principalmente en literatura concerniente a contaminación orgánica (Borja *et al.*, 2000), cuando otros contaminantes tóxicos, como es el caso de los metales, son los causantes de la perturbación, la respuesta de las especies no debe ser la misma y por lo tanto la clasificación obtenida no reflejará el estado ecológico real. Algo similar debe ocurrir cuando se emplea el índice BENTIX (Simboura y Zenetos, 2002), otro índice biótico bentónico propuesto para su empleo en la DMA (Vincent *et al.*, 2002), a comunidades afectadas por contaminantes tóxicos. Las listas de especies indicadoras propuestas por Simboura y Zenetos (2002), en función del tipo de comunidad, están basadas en información extraída de estudios de contaminación orgánica, además, el índice fue validado

en Golfo griego de Saronikos, el cual recibe una alta carga de contaminación orgánica. Por lo tanto, su aplicación en el caso de contaminación puramente tóxica puede no ser correcta. La clasificación obtenida con el BENTIX en ambos ecosistemas estudiados, no se correlacionó con la clasificación obtenida con las pruebas de toxicidad, y solo la concentración de cobre se relacionó negativamente con los resultados del BENTIX ($p < 0,05$, $r = 0,30$). Por su parte, el fallo del índice en la laguna costera del Mar Menor no fue sorprendente, ya que se han descrito previamente sus limitaciones en su aplicación en estuarios y lagunas (Simboura y Zenetos, 2002). Por otro lado, hemos encontrado incompletas las listas de especies presentadas en el BENTIX ya que solo incluye un número muy bajo de especies de crustáceos, taxón reconocido por ser generalmente más sensible a la contaminación ambiental y otras perturbaciones antrópicas que la mayoría de los componentes de la infauna, y más particularmente los poliquetos (Pearson y Rosenberg, 1978). En este sentido, la lista de especies indicadoras propuesta en el AMBI incluye un mayor número de especies y es más completa que la propuesta por Simboura y Zenetos, y aunque la aplicación de ambos índices requiere un elevado esfuerzo taxonómico, el hecho que muchas de las especies de la lista propuesta en el AMBI se encuentren también clasificadas a nivel de familia significa que dicho esfuerzo puede ser menor empleando dicho índice. Cuando ambas listas de especies (AMBI y BENTIX) son comparadas, se puede observar que algunas especies son clasificadas dentro de grupos ecológicos distintos; por ejemplo, *Perinereis cultrifera* y *Aonides oxycephala* son clasificadas por el AMBI como especies tolerantes a un enriquecimiento orgánico en exceso (GEIII), mientras que en el caso del BENTIX dichas especies son clasificadas como sensibles a perturbaciones en general (GE1). El desarrollo de herramientas ambientales de este tipo requiere el consenso de los científicos en la asignación de una determinada especie a un determinado grupo ecológico. Recientemente se ha originado una controversia concerniente con los dos índices mencionados y su aplicación como nuevas herramientas de vigilancia ambiental en la DMA (Borja *et al.*, 2004; Simboura, 2004). En nuestro caso, cuando ambos índices son aplicados en dos ecosistemas distintos impactados por residuos mineros, ninguno obtuvo buenos resultados, e incluso especies descritas como sensibles a la contaminación fueron encontradas en estaciones altamente contaminadas (ejem. *Cyclope neritea*, en la estación BW). Aunque ninguno de los dos índices (AMBI y BENTIX) caracterizó correctamente las localizaciones estudiadas, apoyamos la filosofía en la que se basan (especies indicadoras), pero al igual que muchos otros científicos han sugerido (ejem. Washington, 1984), aceptamos la improbabilidad de que un índice biótico sea universalmente aplicable, ya que no todos los organismos son igual de sensibles a todos los tipos de contaminación. Ambos índices han sido desarrollados para casos de contaminación por enriquecimiento orgánico y han sido aplicados con éxito en estos casos (Borja *et al.*, 2000; 2003b; Salas *et al.*, 2004; Simboura and Zenetos, 2002). Por lo tanto, el desarrollo de nuevas listas de especies indicadoras en función del tipo de contaminación podría servir para mejorar los resultados

de dichos índices cuando se apliquen a sistemas con estos otros tipos de contaminación. Consideramos por lo tanto muy importante el desarrollo de nuevas especies indicadoras más relacionadas específicamente con el tipo de contaminación (metales, pesticidas, hidrocarburos, etc.). Por lo tanto, ya que actualmente uno de los objetivos en la fase inicial de la DMA es el desarrollo de “tipos-específicos” de condiciones de referencia, es decir una descripción de los elementos de calidad biológica que existen o deberían de existir en aguas con alto estado de calidad ecológico, por ejemplo sin perturbación o perturbación muy pequeña de actividades humanas (WFD 2000/60/EC). Dichas condiciones de referencia junto con sus valores biológicos pueden ser empleadas para la selección de especies indicadoras, ya que las poblaciones encontradas en estas condiciones van a estar compuestas de, entre otras, especies sensibles y, en contraste, las especies tolerantes serán solo encontradas en lugares contaminados. Por lo tanto, dichos valores biológicos de referencia podrían ayudar en la creación de nuevas listas indicadoras de especies en función del tipo de contaminación. Otras herramientas que podrían ayudar en el desarrollo de nuevas listas de especies indicadoras podrían ser las pruebas ecotoxicológicas; pues se supone que cuando los sedimentos de un determinado lugar presentan toxicidad, los organismos que viven en estos sedimentos deben de ser tolerantes a los contaminantes presentes y por lo tanto deben ser incluidos como organismos tolerantes en las listas de especies necesitadas para ese tipo de contaminación concreto. De hecho, Chapman (1995) afirmó que una de las primeras ventajas de las pruebas de toxicidad en laboratorio eran su capacidad para establecer y validar bioindicadores de campo.

En conclusión, en el establecimiento del estado de calidad ecológico en ecosistemas acuáticos de fondos blandos en función de medidas biológicas bentónicas, debe tenerse en cuenta que no todos los tipos de contaminación deben de ser tratados de la misma manera, ya que las respuestas biológicas son distintas variando en función del tipo de contaminación. Por consiguiente, se necesitan desarrollar nuevas listas de especies indicadoras para distintos tipos de contaminación para su aplicación en los índices biológicos bentónicos aplicados en el ámbito de la DMA, ya que se ha visto que son buenas herramientas ambientales en el caso de contaminación orgánica. Consideramos las pruebas de toxicidad como herramientas útiles para la valoración ambiental de ecosistemas acuáticos, como ha sido demostrado aquí y en otros estudios (p. ejem. Bryn *et al.*, 1998; Hunt *et al.*, 2001b; Cesar *et al.*, 2004). Dichas pruebas se encuentran técnicamente bien desarrolladas (USEPA, 1994; ASTM, 1997) y son ampliamente aceptadas como herramientas prácticas para una amplia variedad de finalidades tanto reguladoras como de investigación (Swartz, 1989; Burton, 1991; Luoma y Ho, 1993). Por lo tanto, deben ser tenidas en cuenta antes de aplicar la Directiva, de la misma manera que otros países no europeos las han incorporado en sus planes de seguimiento ambiental (Environment Canada, 1992; CETESB, 1999; Kiddon *et al.*, 2003; USEPA, 1995; 2002). Finalmente, antes de establecer la calidad ambiental de un ecosistema acuático, se recomienda el empleo de diferentes metodologías,

como pruebas de toxicidad, técnicas de ordenación multivariantes y/o análisis químicos de los contaminantes (Dauer, 1993; Elliot, 1994), ya que ayuda a evitar inconsistencias en la clasificación de los lugares.

5. Referencias bibliográficas

Allen, H.E., Gongmin, F., Deng, B. 1993. Analysis of acid volatile sulfide (AVS) and simultaneously extracted metals (SEM) for estimation of potential toxicity in aquatic sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12: 1441-1453.

American Society for Testing and Materials, ASTM. 1997. Standard guide for conducting 10-day static sediment toxicity tests with marine and estuarine amphipods. E1367-92. In Annual Book of ASTM Standards, Vol 11.05. Philadelphia, PA, pp. 731-756.

Anderlini, V.C., Wear, R.G. 1992. The effects of sewage and natural seasonal disturbances on benthic macrofaunal communities in Fitzroy Bay, Wellington, New Zealand. *Marine Pollution Bulletin*, 24: 21-26.

Anderson, B., Hunt, J., Hester, M., Phillips, B. 1996. Assessment of sediment toxicity at the sediment-water interface. En: G.K. Ostrander (Ed.). *Techniques in Aquatic Toxicology*. Lewis Publishers: Ann Arbor, MI.

Anderson, B.S., Hunt, J.W., Phillips, B.M., Fairey, R., Roberts, C.A., Oakden, J.M., Puckett, H.M., Stephenson, M., Tjeerdema, R.S., Long, E.R., Wilson, C.J., Lyons, J.M. 1998. Chemistry, toxicity and benthic community conditions in selected sediments of the Los Angeles Region. Final Report. State Water Resources Control Board, Sacramento, CA, USA.

Anderson, B.S., Hunt, J.W., Phillips, B.M., Fairey, R., Roberts, C.A., Oakden, J.M., Puckett, H.M., Stephenson, M., Tjeerdema, R.S., Long, E.R., Wilson, C.J., Lyons, J.M. 2001. Sediment quality in Los Angeles Harbor, USA: A Triad assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 359-370.

Beukema, J.J. 1988. An evaluation of the ABC method abundance/biomass comparison as applied to macrozoobenthic communities living on tidal flats in the Dutch Wadden Sea. *Marine Biology*, 99: 425-433.

Borja, Á., Franco, J., Pérez, V. 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 1100-1114.

Borja, Á., Franco, J., Pérez, V. 2004. The biotic indices and the water framework directive: the required consensus in the new benthic monitoring tools. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 405-408.

Borja, Á., Muxika, I., Franco, J. 2003a. The application of a marine biotic index to different impact sources affecting soft-bottom benthic communities along European coasts. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 835-845.

Borja, Á., Muxika, I., Franco, J. 2003b. Classification tools for marine ecological quality assessment: the usefulness of macrobenthic communities in an area affected by a submarine outfall. ICES CM 2003/Session J-02, Tallinn (Estonia), 24-28 September, 2003.

Bryan, G.W., Langston, W.J. 1992. Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environmental Pollution*, 76: 89-131.

Bryn, M.P., Brian, S.A., Hunt, J.W. 1998. Spatial and temporal variation in results of purple urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) toxicity tests with zinc. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17: 453-459.

Burton, G.A.Jr., 1991. Assessing the toxicity of freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 10: 1585-1627.

Cesar, A., Marín, A., Marín-Guirao, L., Vita, R. 2004. Amphipod and sea urchin tests to assess the toxicity of Mediterranean sediments: the case of Portmán bay. *Scientia Marina*, 68: 205-213.

CETESB. 1999. Método de ensaio: Água do mar - Teste de toxicidade crônica de curta duração com *Lytechinus variegatus*, Lamark, 1816 (Echinodermata: Echinoidea). L5.250. *Cia. de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo, Brasil.*, 22 p.

Chapman, J.C. 1995. The role of ecotoxicology testing in assessing water quality. *Australian Journal of Ecology*, 20: 7-20.

Clarke, K.R. 1990. Comparisons of dominance curves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 138: 143-157.

Clarke, K.R., Gorley, R.N. 2001. PRIMER v5: User Manual/Tutorial. Plymouth, United Kingdom.

Dauer, D.M. 1993. Biological criteria, environmental health and estuarine macrobenthic community structure. *Marine Pollution Bulletin*, 26: 249-257.

De Leon A.R., Guerrero J., Faraco F. 1982. Evolution of the pollution of the coastal lagoon of Mar Menor. *VI Journées Étud. Pollutions*, Cannes, C.I.E.S.M.

De Leon, A.R., Mas, J., Guerrero, J., Jornet, A. 1984. Monitoring of heavy metals in superficial sediment and some marine organisms from the western Mediterranean coast. *VIIes Journées Étud. Pollutions*, Lucerne, C.I.E.S.M. pp 321-326.

DelValls, T.A., Chapman, P.M. 1998. The use of multivariate analysis to link the sediment quality triad components to site-specific sediment quality values in the Gulf of Cádiz (Spain) and in San Francisco Bay (USA). *Ciencias Marinas*, 24: 313-336.

DelValls, T.A., Conradi, M., García-Adiego, E., Forja, J.M., Gomez-Parra, A. 1998. Analysis of macrobenthic community structure in relation to different environmental

sources of contamination in two littoral ecosystems from the Gulf of Cádiz (SW Spain). *Hydrobiología*, 385: 59-70.

Drake, P., Baldó, F., Sáez, V., Arias, A. 1999. Macrobenthic Community Structure in Estuarine Pollution Assessment on the Gulf of Cádiz (SW Spain): is the Phylum-level Meta-analysis Approach Applicable?. *Marine Pollution Bulletin*, 38: 1038-1047.

Elliot, M., 1994. The analysis of macrobenthic community data. *Marine Pollution Bulletin*, 28: 62-64.

Environment Canada. 1992. Biological test method: Fertilization assay using echinoids (sea urchins and sand dollars), amended November 1997. EPS 1/RM/27. North Vancouver, BC., 97 pp.

Grall, J., Glémarec, M. 1997. Using biotic indices to estimate macrobenthic community perturbations in the Bay of Brest. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 44: 43-53.

Hunt, J.W., Anderson, B.S., Phillips, B.M., Tjeerdema, R.S., Taberski, K.M., Wilson, C.J., Puckett, H.M., Stephenson, M., Fairey, R., Oakden, J. 2001a. A large-scale categorization of sites in San Francisco Bay, USA, based on the sediment quality triad, toxicity identification evaluations, and gradient studies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 1252-1265.

Hunt, J.W., Anderson, B.S., Phillips, B.M., Newman, R.S., Tjeerdema, R.S., Fairey, R., Puckett, H.M., Stephenson, M., Smith, R.W., Wilson, C.J., Taberski, K.M. 2001b. Evaluation and use of sediment toxicity reference sites for statistical comparisons in regional assessments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 1266-1275.

Ingersoll, C.G. 1995. Sediment tests. En: Rand, G.M. (Ed.), *Fundamentals of toxicology effects, environmental fate and risk assessment*, 2nd ed. Taylor and Francis. pp. 231-255.

Kiddon, J.A., Paul, J.F., Buffum, H.W., Strobel, C.S., Hale, S.S., Cobb, D., Brown, B.S. 2003. Ecological condition of US Mid-Atlantic estuaries, 1997-1998. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 1224-1244.

Long, E.R., MacDonald, D.D., Smith, S.L., Calder, F.D. 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental Management*, 19: 81-97.

Luoma, S.N., Ho, K.T. 1993. Appropriate uses of marine and estuarine sediment bioassays. En: Calow, P. (Ed.), *Handbook of Ecotoxicology*. Blackwell Scientific, Oxford, UK, pp. 193-226.

Pearson, T.H., Rosenberg, R. 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology, Annual Review* 16, 229-311.

Pérez, J.G., Puente, C.R. 1989. Estudio de la contaminación marina entre Cabo de Palos y Cabo Tiñoso (SE-España). Concentraciones de cadmio, plomo y cinc en sedimentos superficiales. Informes Técnicos Instituto Español de Oceanografía. MAPA. 13 pp.

Picard, J. 1965. Recherches qualitatives sur les biocénoses marines des substrats meubles dragables de la région marseillaise. *Rec. Trav. Stn. Mar. End.*, 36: 1-160.

Reizopoulou, S., Thessalou-Legaki, M., Nicolaidou, A. 1996. Assessment of disturbance in Mediterranean lagoons: an evaluation of methods. *Marine Biology*, 125: 189-197.

Salas, F., Neto, J.M., Borja, A., Marques, J.C. 2004. Evaluation of the applicability of a marine biotic index to characterize the status of estuarine ecosystems: the case of Mondego estuary (Portugal). *Ecological Indicators*, 4: 215-225.

Simboura, N. 2004. BENTIX Index vs. Biotic Index in monitoring: an answer to Borja et al., 2003. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 404-405.

Simboura, N., Zenetos, A. 2002. Benthic indicators to use in Ecological Quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new Biotic Index. *Mediterranean Marine Science*, 3: 77-111.

Simboura, N., Zenetos, A., Panayotidis, P., Makra, A. 1995. Changes of benthic community structure along an environmental pollution gradient. *Marine Pollution Bulletin*, 30: 470-474.

Swartz, R.C. 1989. Marine sediment toxicity tests. En: Contaminated Marine Sediments – Assessment and Remediation. National Academy Press, Washington, D.C. pp. 115-129.

USEPA, 1994. Methods for assessing the toxicity of sediment-associated contaminants with estuarine and marine amphipods. EPA/600/-94/025, Narragansett, Rhode Island 02882.

USEPA, 1995. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to west coast marine and estuarine organisms. EPA/ 600/ R-95-136. Cincinnati, Ohio.

USEPA, 2002. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms. EPA-821-R-02-014. Washington, DC 20460.

Verdardo, D.J., Forelich, P.N., McIntyre, A., 1990. Determination of organic carbon and nitrogen in marine sediments using the Carlo Erba NA-1500 analyzer. *Deep Sea Research*, 37: 157-165.

Vincent, C., Heinrich, H., Edwards, A., Nygaard, K., Haythornthwaite, J. 2002. Guidance on typology, reference conditions and classification systems for transitional and coastal

waters. Produced by: CIS Working Group 2.4 (Coast), Common Implementation Strategy of the Water Framework Directive, European Commission, 119 pp.

Volpi Ghirardini, A.M., Arizzi Novelli, A., Losso, C., Ghetti, P.F. 2003. Sea urchin bioassays for sediment quality assessment in the lagoon of Venice (Italy). *Chemistry and Ecology*, 19: 99-111.

Warwick, R.M. 1986. A new method for detecting pollution effects on marine macrobenthic communities. *Marine Biology*, 92: 557-562.

Warwick, R.M., Pearson, T.H., Ruswahyuni. 1987. Detection of pollution on marine macrobenthos: Further evaluation of the species abundance/biomass method. *Marine Biology*, 95: 193-200.

Washington, H.G. 1984. Diversity, biotic and similarity indices. A review with special relevance to aquatic ecosystems. *Water Research*, 18: 653-694.

Conclusiones

Conclusiones

Capítulo I.- Descarga de residuos mineros en la laguna costera del Mar Menor: comportamiento y distribución de los metales y toxicidad asociada al agua.

- Las ramblas de El Beal y Ponce que drenan la Sierra Minera introducen residuos mineros en el interior del Mar Menor durante los fenómenos de lluvias torrenciales.
- Las aguas que fluyen por la rambla de El Beal con elevados contenidos en sólidos en suspensión y altas concentraciones de metales en estado particulado muestran como los residuos mineros erosionados por las lluvias son transportados hasta la laguna. Por otro lado, las características ácidas de estas aguas y las altas concentraciones de metales en estado disuelto manifiestan la generación de drenajes ácidos mineros por oxidación de los sulfuros contenidos en los residuos.
- El zinc y el cadmio presentaron elevadas concentraciones en estado disuelto mostrándose como los metales más móviles de los residuos, frente al plomo y el cobre que se encuentran principalmente en estado particulado.
- Al entrar en la laguna los metales disueltos son rápidamente eliminados de la columna de agua debido principalmente al incremento en salinidad y pH, afectando a las zonas adyacentes a las desembocadura de las ramblas. Sin embargo los metales en estado particulado se mantienen durante más tiempo en las aguas de la laguna afectando a un área mayor.
- Con la descarga de residuos mineros a través de las ramblas, las aguas de la laguna se vuelven tóxicas. La toxicidad desaparece rápidamente en las zonas que no se encuentran directamente influenciadas, mientras que la zona adyacente a la desembocadura de las ramblas esta se mantiene durante varios días y parece depender de las condiciones climáticas.

Capítulo II.- Valoración de la contaminación por metales en los sedimentos de la laguna costera del Mar Menor: distribución de metales, toxicidad y estructura de las comunidades bentónicas.

- Los sedimentos del Mar Menor se encuentran fuertemente contaminados por metales pesados procedentes de los residuos mineros. Las altas concentraciones de metales muestran a los sedimentos como el sumidero donde son concentrados. Las mayores concentraciones fueron encontradas en la orilla sur de la laguna en las zonas cercanas a la desembocadura de las ramblas que drenan la Sierra de Cartagena-La Unión.

- Los sedimentos de la cubeta sur exhibieron toxicidad en las pruebas de toxicidad en laboratorio con varias especies de invertebrados marinos indicando la biodisponibilidad de los metales.
- La fanerógama marina *Cymodocea nodosa* que crecía en los sedimentos contaminados acumuló grandes cantidades de metales en sus tejidos, evidenciando la biodisponibilidad de los metales contenidos en los sedimentos para las plantas vasculares. La planta presentó distintos patrones de acumulación en los distintos tejidos analizados, acumulando los tallos menos metales que las raíces o las hojas.
- Las comunidades de invertebrados bentónicos no mostraron alteraciones en sus estructuras a través de los descriptores clásicos de comunidades, sin embargo, las técnicas multivariantes reflejaron cierto nivel de perturbación en las comunidades afectadas por las ramblas y los residuos mineros.

Capítulo III.- Efectos de los residuos mineros en praderas de *Cymodocea nodosa*: acumulación de metales y biodisponibilidad, dinámica de la planta y estructura de las comunidades asociadas.

- *Cymodocea nodosa* se comportó como un indicador útil de la contaminación de los sedimentos al acumular metales en sus tejidos, pudiendo servir para estudiar la evolución a largo plazo de la carga de contaminantes en los sedimentos de la laguna.
- Las mayores concentraciones de metales fueron encontrados en el biofilm que se desarrolla sobre la superficie de las hojas, por su gran capacidad para retener y acumular metales. El biofilm puede, por lo tanto, ser empleado como centinela ambiental de la entrada o resuspensión de metales en las aguas de la laguna.
- Algunos parámetros físico-químicos del sedimento como el contenido en limos y arcillas o en materia orgánica parecen influenciar en la disponibilidad de los metales para las plantas que crecen en los sedimentos contaminados. Sin embargo la concentración de sulfuros no parece tener un efecto importante por la oxidación de los sedimentos inducida por las raíces de la planta.
- Todas las praderas estudiadas se han encontrado en expansión y no se han observado efectos adversos en las plantas que crecen en los sedimentos altamente contaminados de la laguna. La mayor biomasa de hojas y superficie fotosintética se ha observado en las praderas situadas en la desembocadura de las ramblas, indicando una mayor productividad, tal vez por la presencia de elementos limitantes.
- El alto contenido en metales tóxicos en fuentes de alimento como las hojas de la fanerógama, el biofilm que crece sobre ellas o los sedimentos parecen estar causando cambios en la estructura de las comunidades de invertebrados asociados con las praderas contaminadas.

Capítulo IV.- Composición isotópica y transferencia trófica de metales en comunidades impactadas por la minería en el Mar Menor.

- Sedimentos, productores primarios, invertebrados y peces de la cubeta sur del Mar Menor presentaron acumulación de metales. La proximidad de las ramblas que introducen esporádicamente metales en la laguna, provoca una mayor biodisponibilidad de los mismos en esta zona lo que se ve reflejado en mayores concentraciones de metales en los organismos que la habitan, disminuyendo con la distancia a la desembocadura de las ramblas.
- El enriquecimiento en $\delta^{15}\text{N}$ de los organismos de la zona interna de la laguna influenciada por la descarga de las ramblas refleja la entrada de aguas residuales urbanas en zonas cercanas. Este enriquecimiento produce cambios en la posición trófica de productores primarios (*C. nodosa* y biofilm) y consumidores primarios (*Goniostoma oblonga*) con respecto a zonas más alejadas y menos influenciadas por las ramblas.
- Los valores empobrecidos en $\delta^{13}\text{C}$ de los organismos de esta parte interna de la laguna parecen indicar la entrada a través de las ramblas y humedales adyacentes de material vegetal de origen terrestre así como la entrada de agua dulce que introduce carbono inorgánico disuelto más ligero en las aguas de la laguna influenciadas.
- Mientras que ni las hojas de *Cymodocea nodosa* ni el detrito que generan parecen formar parte importante de la dieta de las comunidades de la cubeta sur de la laguna, el biofilm que se desarrolla sobre las hojas si parece jugar un papel trófico importante principalmente en la zona influenciada por las ramblas, donde crece en grandes cantidades. Las elevadas concentraciones de metales en este compartimento suponen un importante eslabón en la transferencia de metales a lo largo de la cadena trófica.
- Las regresiones entre las concentraciones de metales en los organismos y su posición trófica ($\delta^{15}\text{N}$) indican la biodilución del zinc, plomo y cadmio en los poblamientos de invertebrados contaminados por metales pesados. Sin embargo, la posición trófica no presenta ningún efecto en los niveles de cobre, posiblemente por el papel fisiológico que juega en determinados invertebrados marinos. En el caso de las comunidades de peces no mostraron patrones claros posiblemente debido al estadio juvenil de algunas de las especies analizadas.
- Las regresiones entre los contenidos en metales en los organismos frente a sus niveles de $\delta^{13}\text{C}$ indican un origen terrestre del zinc contenido en los invertebrados de la laguna.

Capítulo V.- Establecimiento del estado de calidad ecológico de los fondos del Mar Menor y Portmán impactados por la minería en el ámbito de la Directiva Marco del Agua.

- Tanto la laguna costera del Mar Menor como la costa mediterránea de Portmán se encuentran contaminados por metales pesados procedentes de actividades mineras, mostrando ambos sistemas un gradiente de concentraciones de metales decreciente con el aumento de la distancia a los puntos de descarga de los residuos.
- Las pruebas de toxicidad de la interfase agua-sedimento con larvas de erizos identificaron ambos gradientes de contaminación mostrándose útiles para su aplicación en la Directiva Marco del Agua en la clasificación del estado de calidad ecológico de fondos blandos impactados por contaminación tóxica.
- Los descriptores clásicos de comunidades clasificaron correctamente el gradiente de la costa de Portmán, sin embargo no resultaron útiles en el caso del Mar Menor posiblemente por tratarse de un sistema naturalmente estresado. Por su parte la técnica multivariante de ordenación empleada (MDS) proporcionó conclusiones consistentes en ambos ecosistemas mostrándose útil en el ámbito de la Directiva Marco del Agua.
- El método de comparación de la abundancia y la biomasa (ABC) no ofreció resultados adecuados en ninguno de los dos ecosistemas posiblemente debido a la existencia de contaminación puramente tóxica como es el caso de los metales.
- Los índices bióticos bentónicos AMBI y BENTIX propuestos para su aplicación en la Directiva Marco del Agua no clasificaron correctamente las estaciones de ambos ecosistemas contaminados por metales pesados, al estar basados, al igual que el método ABC, en contaminación por enriquecimiento orgánico. El desarrollo de listas de especies indicadoras en función del tipo de contaminación podría mejorar sus resultados cuando se trate de clasificar estaciones con contaminación de tipo tóxico (metales, pesticidas, hidrocarburos...). No obstante para ello se requiere del consenso científico a la hora de asignar las especies indicadoras, una de las carencias encontradas en estos índices.