

## Resúmenes

## Presentaciones orales

Puesta al día sobre la investigación acerca de contaminantes emergentes y prioritarios en el medio ambiente: incidencias y detección precoz de sus efectos:

1. Identificación de mutágenos en ríos europeos. **Bougeard C., Gallampois C., Kormos J.L., Simon E., Brack W., Lamoree M. y Ternes T.A.**
2. Organismos acuáticos como bioindicadores a distintas escalas. **Agbo S., Möller A., Shinn C. y Sloomweg T.**
3. Contaminantes prioritarios y emergentes en el medio ambiente: recomendaciones para la estrategia de muestreo y las técnicas de análisis correspondientes. **Barceló D. y López de Alda M.**
4. Búsqueda de nuevos contaminantes: "Effect Directed Analysis" y su aplicación para el monitoreo. **Brack W., Balaam J., Bandow N., Barceló D., Brix R., Lamoree M., Leonards P., Lübcke-von Varel U., Machala M., Thomas K. y Weiss J.**
5. Contaminantes emergentes y prioritarios: el papel de WWTP para el saneamiento y la significación de los productos de transformación. **Kormos J.L., Schulz M., Wick, A. y Ternes, T.A.**
6. Aplicabilidad y limitaciones en el uso de los biomarcadores. **Segner H. y Möller A.M.**

Puesta al día sobre la investigación acerca de contaminantes emergentes y prioritarios en el medio ambiente: efectos en el ecosistema y recomendaciones para futuras políticas hídricas

7. Uso de las comunidades del biofilm para evaluar los riesgos ecológicos de los contaminantes en los ecosistemas acuáticos. **Bonnineau C., Sans-Piché F., Proia L., Lubarsky H., Geiszinger A., Romaní A.M., Schmitt-Jansen M., Gerbersdorf S. y Guasch H.**
8. Mejoras en el muestreo de datos para un diagnóstico del ecosistema más ajustado. **Faggiano L., Guénard G., Gevrey M. y Lek S.**
9. Sesión plenaria. Ecotoxicología en ecosistemas fluviales: des de ensayos estandarizados con monocultivos hasta la manipulación del ecosistema. **Clements W.**
10. Aproximaciones actuales utilizadas para la evaluación de la integridad ecológica: índices biológicos versus estudios ecotoxicológicos a nivel de comunidad. **Sabater S. y Muñoz I.**
11. Recomendaciones para el Diseño de Programas de Seguimiento de la Calidad del Agua basadas en Métodos Complementarios recientemente desarrollados. **Carafa R., Real M., Munné A., Ginebreda A. y Guasch H.**

Consideraciones generales sobre los planes de gestión

12. Contaminantes prioritarios en Francia: aplicación de la directiva 2008/105/CE. **Rebillard J.P., Allonier-Fernandes A.S., Riou C., Halkett C., Pelte T., Verlhac A. y Demouliere R.**
13. Implantación del buen estado ecológico del agua en España. Aplicación de la directiva 2008/105/CE. **Puig A.**
14. Métodos de análisis de contaminantes emergentes y prioritarios: problemas en el establecimiento de estándares de calidad. **Caixach J.**
15. Seguimiento de sustancias prioritarias y relacionadas en los ríos de Catalunya, en el marco de la aplicación de la WFD: presentación de los resultados i evaluación de riesgo. **Ginebreda A., Munné A., Carafa R. y Tirapu Ll.**
16. Control de sustancias peligrosas en la cuenca del río Ebro. **Cortés S.**

## Presentaciones de pósters

1. Relación entre las variaciones espaciotemporales en la contaminación por diurón y la tolerancia inducida en biofilms en ríos. **Pesce S., Margoum C. y Montuelle B.**
2. Las respuestas de los biomarcadores múltiples de macroinvertebrados bentónicos como herramienta de diagnóstico del estado ecológico de los ríos contaminados. **Damasio J., Puértolas L., Prat N., Rieradevall M., Soares A.M.V.M. y Barata C.**
3. Patrones estructurales de las comunidades de diatomeas en ríos sometidos a una contaminación por metales pesados de diferentes países y consecuencias para el biocontrol. **Morin S., Cordonier A., Duong T.T., Lavoie I., Tornés E., Bonet B., Corcoll N., Faggiano L., Guasch H., Sabater S. y Coste M.**
4. Gradientes de pesticidas en los ríos: estudio de campo basado en peces. **Shinn C., Grenouillet G. y Lek S.**
5. Análisis EDA de una cadena alimentaria bentónica por cribado de genotoxicidad. **Simon E., Lamoree M., Leonards P., Hamers T., Reifferscheid G., Spira D., Rudoll R. y Boer J.**
6. Análisis EDA de sedimentos de un río europeo para identificar los compuestos alteradores de andrógenos. **Weiss J., Hamers T., van der Linden S., Leonards P. y Lamoree M.**
7. Identificación de los compuestos alteradores de andrógenos en sedimentos fluviales sometidos a análisis EDA con LTQ-Orbitrap. **Weiss J., Leonards P., Stroomberg G., de Boer R. y Lamoree M.**
8. Biodegradación de compuestos farmacéuticos en el tratamiento de aguas residuales y evaluación de la proteómica para dilucidar las vías metabólicas. **Collado N., Osuna B., Comas J., Rodríguez-Roda I. y Sipma J.**
9. Absorción y efectos del pentacloronaftaleno 1, 2, 3, 5 y 7 en una cadena alimentaria acuática: del sedimento, a través de organismos bentónicos (*Lumbriculus variegatus*), hasta la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). **Slootweg T., Dömötörvá M., Fabišiková A., Igunnova E., Mayer P., Möller A., Nikiforov V., Schmidt J., Smith K. y Liebig M.**
10. El uso de una nueva serie de biomarcadores de los biofilms fluviales para evaluar los efectos de los metales: contribución a la aplicación de la Directiva marco del agua. **Bonet B., Corcoll N., Morin S. y Guasch H.**
11. Predicción de los efectos de sustancias tóxicas en la diversidad funcional de especies de peces norteamericanas. **Faggiano L., de Zwar D., Dyer S., Lek S. y Gevrey M.**
12. Análisis del destino ambiental de los contaminantes emergentes y prioritarios: identificación de los productos de transformación. **Kormos J.L., Schulz M. y Ternes T.A.**
13. Evaluación de la toxicidad del agua de los ríos catalanes a partir de la distribución de sensibilidades de las especies y de redes neuronales artificiales. **Carafa R., Faggiano L., Real M., Munné A., Ginebreda A., Guasch H., Flo M. y Tirapu Ll.**
14. La sensibilidad de los índices bióticos a los microcontaminantes de los ríos. Comparación de métricas a partir de las diatomeas y los macroinvertebrados. **Blanco S. y Bécares E.**

## Identificación de mutágenos en ríos europeos

Bougeard C.<sup>1</sup>, Gallampois C.<sup>1</sup>, Kormos J. L.<sup>2</sup>, Simon E.<sup>3</sup>, Brack W.<sup>1</sup>, Lamoree M.<sup>3</sup>  
y Ternes T. A.<sup>2</sup>

1. Department of Effect-Directed Analysis, Centre for Environmental Research, UFZ, Leipzig, Germany

2. Federal Institute of Hydrology (BfG), Koblenz, Germany

3. Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit (VU), Amsterdam, The Netherlands

Contacto: [cynthia.bougeard@ufz.de](mailto:cynthia.bougeard@ufz.de)

La forma más eficaz para comprender la relación causa-efecto de los contaminantes químicos en los ecosistemas fluviales europeos pasa por la identificación de los agentes tóxicos clave y su biodisponibilidad, destino, transporte y efectos biológicos. En KEYBIOEFFECTS se han establecido varios enfoques con el objetivo de identificar los contaminantes ambientales clave, aunque la complejidad de la contaminación ambiental a menudo dificulta la identificación de agentes tóxicos desconocidos. Por consiguiente, relacionar la presencia de un compuesto o una mezcla compleja de compuestos con el impacto biológico o con los efectos observados en el medio natural constituye un auténtico desafío. Para realizar la identificación de los compuestos tóxicos en mezclas ambientales complejas, se optó por el análisis EDA (Effect-Directed Analysis) y la combinación de bioensayos, fraccionamiento y análisis químicos.

El objetivo del estudio de EDA que aquí presentamos era la identificación de los mutágenos, principalmente compuestos poliaromáticos con un mínimo de tres anillos fusionados. El método del EDA se basa en el uso de un muestreador pasivo específico, un sistema Blue Rayon (BR) capaz de absorber los compuestos químicos aromáticos planares, un método de fraccionamiento de tres pasos y un método de LC/MS/MS de alta resolución. Los métodos de fraccionamiento y análisis se desarrollaron con 50 estándares seleccionados en función de la planaridad, la mutagenicidad, la lipofiliidad, la polaridad, etc. El primer paso, la separación de los compuestos de la muestra, se basó en su comportamiento en el agua (neutro, básico o ácido). El extracto de BR se fraccionó en compuestos ácidos, básicos y neutros mediante bombas de intercambio de iones. Los dos siguientes pasos del fraccionamiento se realizaron mediante la separación con HPLC, en dos fases estáticas diferentes (fenil-hexil y C18 polimérico). Para el análisis de las fracciones mutagénicas se utilizó una Orbitrap LC/MS/MS de alta resolución (ThermoFisher), equipada con una fuente de ionización por electroespray para los compuestos más polares y una fuente de ionización química a presión para los compuestos menos polares. Para determinar la mutagenicidad se aplicó una prueba de fluctuación AMES con la *Salmonella* TA98.

Aunque el EDA se ha aplicado con buenos resultados en la identificación de los agentes tóxicos, la prueba del procedimiento de mutagenicidad puede desembocar en una interpretación errónea de los resultados. Se considera que los compuestos orgánicos hidrofóbicos se pierden por sorción en las placas de plástico que se utilizan para el cultivo de células y en las bacterias, lo que provoca una sobreestimación de la concentración real que ejerce mutagenicidad. Para abordar este problema, en este caso aplicamos una dosificación pasiva basada en el fraccionamiento de los mutágenos en juntas tóricas de silicona, lo que nos permitió disponer de una concentración definida y en disolución libre constante. Experimentos previos utilizando una nueva configuración de SPME en placas de 24 pozos

combinadas con GC-MS revelaron una difusión del compuesto similar con y sin bacterias. Por tanto, se realizaron pruebas paralelas en las que el primer lote de experimentos permitiría determinar la mutagenicidad a partir de agentes tóxicos cargados en juntas tóricas de silicona y el segundo lote serviría para cuantificar la concentración en disolución libre disponible en la prueba mutagénica, inyectando en la LC/MS el pozo con las juntas tóricas de silicona y el agua bidestilada.

## Organismos acuáticos como bioindicadores a distintas escalas

Agbo S.<sup>1</sup>, Möller A.<sup>2</sup>, Shinn C.<sup>3</sup> y Slootweg T.<sup>4</sup>

1. University of Eastern Finland, Faculty of Biosciences, Joensuu, Finland

2. Centre for Fish and Wildlife Health, University of Berne, Berne, Switzerland

3. Laboratoire Evolution et Diversité Biologique (EDB), CNRS, Université Paul Sabatier, Toulouse, France

4. ECT Oekotoxikologie GmbH, Flörsheim, Germany

Contacto: Stanley.Agbo@joensuu.fi

### 1. Introducción

Para mantener y restablecer la calidad ecológica en un sistema fluvial, hay que entender su funcionamiento. Si se pueden relacionar los efectos adversos observados sobre el terreno con los factores de estrés del ecosistema que los provocan podrán tomarse medidas efectivas. Establecer este tipo de relaciones causa-efecto sobre el terreno resulta realmente complicado a causa de la complejidad del ecosistema, que puede verse influido por una gran variedad de factores (por ejemplo, los parámetros físicos y químicos, los cambios en el hábitat y la presencia de contaminantes). En el marco del proyecto Keybioeffects se están realizando varios tipos de investigación para descubrir las relaciones causa-efecto de los contaminantes en varios niveles. En esta presentación queremos centrarnos en los peces y los invertebrados acuáticos como bioindicadores del estrés tóxico. En los subproyectos de Keybioeffects se estudiaron los efectos sobre los peces y los invertebrados acuáticos en varios niveles:

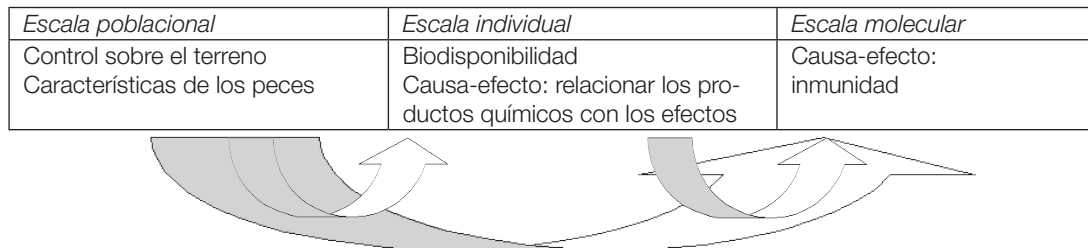
- Población: a través de un control de investigación sobre el terreno y la observación de varias características de los peces.
- Individual:
  - Estudiando la bioacumulación y los efectos de las sustancias orgánicas sobre los invertebrados acuáticos en relación con las condiciones abióticas.
  - Estudiando la biodisponibilidad y los efectos (relacionados con contaminantes específicos) sobre los peces en sistemas de laboratorio.
- Molecular: estudiando el mecanismo inmunotóxico de los contaminantes en los peces.

La investigación mecanicista de los efectos de los contaminantes sobre los peces es importante porque nos permite conocer mejor de qué modo interactúan los contaminantes con los peces del entorno y como es posible que actúen. Gracias a esta información podemos empezar a establecer una relación causa-efecto y determinar qué medidas podemos adoptar para minimizar los efectos sobre el terreno.

Nuestros objetivos son, en primer lugar, mostrar la contribución de este tipo de estudios y, en segundo lugar, explicar por qué combinar los resultados de los estudios aporta valor añadido en la gestión de la calidad ecológica de los sistemas fluviales.

### 2. Vinculación de varios niveles

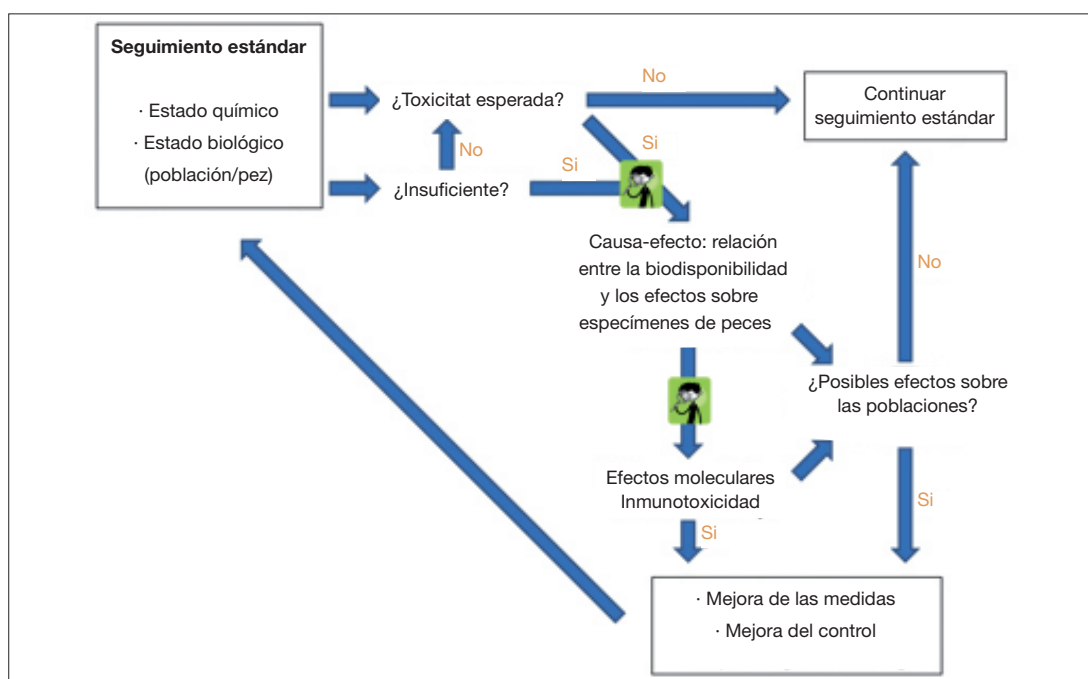
La figura 1 consiste en un esquema que muestra los vínculos existentes entre los distintos niveles.



**Figura 1.** Relación entre los niveles de la investigación en peces

Dado que resulta imposible comprobar qué efectos específicos tiene cada sustancia química, es posible seguir la secuencia descendente representada en la figura 2, que empieza con el control del estado químico y biológico de un sistema fluvial. Si se observan efectos adversos en las poblaciones de peces, hay que pasar al nivel individual e investigar la biodisponibilidad de sustancias químicas concretas y sus efectos sobre los invertebrados y los peces. Para descubrir cómo actúa concretamente la sustancia química correspondiente, el estudio pasa al nivel molecular y examina el mecanismo de toxicidad de dicha sustancia. Esta secuencia descendente desde los efectos sobre la población hasta los efectos a nivel molecular permite relacionar de un modo más concreto los efectos con las causas específicas. La información obtenida de este modo nos permitirá tomar decisiones adecuadas sobre las medidas que hay que tomar respecto al sistema fluvial.

A modo de ejemplo de secuencia descendente, supongamos que durante el seguimiento sobre el terreno se observa que los peces presentan parásitos, lo cual puede indicar que han dejado de ser inmunes. A nivel molecular se investiga el mecanismo de toxicidad de las sustancias químicas detectadas en el río para establecer una correlación entre sus efectos sobre la inmunidad y los efectos adversos sobre la población. En este caso, se utilizan células de peces para investigar cómo responden los tejidos a la toxina.



**Figura 2.** Diagrama de decisiones sobre la gestión del agua.

Otro ejemplo es la vinculación de los efectos tóxicos sobre los peces con la bioacumulación de agentes tóxicos en invertebrados acuáticos. Teniendo en cuenta la abundancia, el patrón de alimentación y el potencial de bioacumulación de los invertebrados acuáticos, su posición en la cadena alimentaria predispone a los peces y otras especies a los riesgos químicos derivados de la alimentación que pueden desembocar en la acumulación de sustancias químicas potencialmente dañinas en los tejidos de los peces.

### **Conclusión**

- La investigación en varios niveles permite descubrir las relaciones causa-efecto de las sustancias químicas presentes en el medio ambiente.
- Para evaluar, mejorar y gestionar el estado ecológico de un sistema fluvial se puede utilizar una secuencia descendiente de análisis que va de la observación de efectos en los peces o en la población a la escala molecular, en la que se investiga de qué modo actúa una sustancia química determinada.
- A la hora de determinar los riesgos potenciales de las sustancias químicas puede aprovecharse la sensibilidad de las especies de invertebrados acuáticos de menor tamaño.

*Agradecimiento:* estos estudios fueron realizados en el marco del proyecto KEYBIOEFFECTS (MRTN-CT 2006-035695), financiado por las Acciones Marie Curie del 6º Programa Marco.

## **Contaminantes prioritarios y emergentes en el medio ambiente: recomendaciones de estrategias de muestreo y procedimientos analíticos**

Barceló D.<sup>1,2</sup> y López de Alda M.<sup>1</sup>

1. Departamento de Química Ambiental. Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua (IDAEA-CSIC)  
C/ Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, España
2. Instituto Catalán de Investigación del Agua- ICRA. Parque Científico y Tecnológico de la Universidad de Girona  
C/Emili Grahit, 101, Edificio H2O, E-17003 Girona, España

Contacto: [dbcqam@cid.csic.es](mailto:dbcqam@cid.csic.es)

La investigación de la presencia de contaminantes prioritarios y emergentes en el medio ambiente es de obligado cumplimiento en el primer caso (en algunos compartimentos ambientales), y necesario en el segundo, para poder prevenir y controlar la contaminación y proteger la salud humana y medioambiental de posibles efectos adversos ocasionados por la exposición a estos compuestos. Su análisis requiere, en general, el empleo de métodos muy sensibles y selectivos que permitan la determinación de los mismos a las muy bajas concentraciones a las que se encuentran en el medio ambiente, y/o a los niveles fijados como estándares de calidad.

En las últimas décadas la instrumentación analítica ha experimentado un gran desarrollo que se ha traducido en métodos más eficaces y fiables con mejores parámetros de calidad. Esta presentación aborda con ejemplos las últimas tendencias en la aplicación de esta instrumentación a la toma de muestra, extracción y análisis de contaminantes prioritarios y emergentes en el medio ambiente.

La toma de muestra es el primer y, a menudo, el más importante paso en el análisis de contaminantes ambientales, al que, no obstante, en ocasiones, no se le presta la atención debida. La mayor parte de los estudios ambientales se basan en el análisis de muestras discretas, y en menor medida, muestras integradas. En las últimas décadas, otras estrategias de toma de muestra más avanzadas, como, por ejemplo, los sistemas de muestreo pasivo, que combinan en un solo paso toma de muestra, y separación y preconcentración del analito, están siendo desarrolladas e implementadas con el doble objetivo de, por un lado, ahorrar tiempo y, por otro, ganar en información.

Las técnicas de extracción también han mejorado considerablemente a lo largo de los años. Ejemplos de técnicas de extracción avanzadas aplicadas al análisis ambiental de contaminantes prioritarios y emergentes son la extracción con líquidos presurizados (PLE), aplicada a matrices sólidas, y la extracción en fase sólida on-line para muestras de agua. Estas técnicas ofrecen importantes ventajas con respecto a las técnicas tradicionales, sobre todo, en términos de tiempo y coste del análisis, y también de consumo de disolventes y reactivos.

Para el análisis, la cromatografía de gases (GC) y la de líquidos (LC), ambas acopladas a espectrometría de masas (MS) o espectrometría de masas en tándem (M/MS), son las técnicas más utilizadas. GC-MS es la técnica de elección para el análisis de compuestos volátiles apolares y termolábiles, y la más usada en el análisis de contaminantes prioritarios, tales como hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), difenil éteres polibromados (PBDEs), bifenilos policlorados (PCBs), o dioxinas.

La mayoría de los contaminantes emergentes, no obstante, son compuestos polares cuyo



análisis requiere el empleo de LC-MS. Hoy en día, las diversas técnicas de LC-MS/MS disponibles, con analizadores de tipo triple cuadrupolo (QqQ), cuadrupolo-trampa iónica lineal (Q-LIT), y cuadrupolo-tiempo de vuelo (Q-TOF), permiten medir niveles muy bajos de los contaminantes, en el rango incluso de pg/L o pg/g, en matrices complejas, como aguas residuales, con gran selectividad. No obstante, la principal limitación de estas técnicas es la posible existencia de efectos de matriz que interfieran la señal del analito y conduzcan a resultados inexactos. Hay varias estrategias para tratar de solucionar este problema, de las cuales una de las más convenientes es el uso de compuestos marcados isotópicamente como estándares internos para la cuantificación. Estas técnicas de LC-MS/MS, las posibilidades que ofrecen en la identificación de contaminantes desconocidos, recomendaciones de operación para asegurar una identificación inequívoca de los analitos, el uso de dilución isotópica para compensar posibles efectos de matriz, etc., se ilustran con ejemplos de la investigación de contaminantes emergentes, tales como fármacos, drogas, etc., en muestras ambientales.

## Búsqueda de nuevos contaminantes: “Effect Directed Analysis” y su aplicación para el monitoreo

Brack W.<sup>1</sup>, Balaam J.<sup>2</sup>, Bandow N.<sup>1</sup>, Barceló D.<sup>3,4</sup>, Brix R.<sup>4</sup>, Lamoree M.<sup>5</sup>, Leonards P.<sup>5</sup>, Lübbcke-von Varel U.<sup>1</sup>, Machala M.<sup>6</sup>, Thomas K.<sup>7</sup> y Weiss J.<sup>1</sup>

1. Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ), Germany
2. Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science (CEFAS), United Kingdom
3. Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC), Spain
4. Catalan Institute for Water Research (ICRA), Spain
5. Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands
6. Veterinay Research Institute, Czech Republic
7. Norsk Institutt for vannforsk (NIVA), Norway

Contacto: werner.brack@ufz.de

La evaluación de las masas de agua europeas de conformidad con la Directiva Marco del Agua de la UE analiza su estado ecológico a la luz de los elementos de la calidad biológica (BQE) de los peces, macroinvertebrados, fitoplancton y macrófitos, mientras que el estado químico se centra en la concentración de los 33(+8) contaminantes prioritarios actuales del agua y los sedimentos. El proyecto MODELKEY demuestra con pruebas sólidas que estos contaminantes prioritarios permiten explicar solo una mínima parte de los efectos medibles en las masas de agua europeas. Sin embargo, hay muchos otros agentes tóxicos con capacidad para influir en el estado ecológico de ríos y lagos.

Dado que la Comisión Europea es muy consciente de este problema, se ha fijado el cometido de revisar la lista de sustancias prioritarias atendiendo a dos enfoques: un enfoque basado en el control y otro basado en la modelización de la exposición, utilizando volúmenes de producción y patrones de uso. Aunque esta revisión implicará un importante avance, requerirá también afrontar posibles obstáculos, como por ejemplo los compuestos no sujetos a control, la escasez de datos disponibles y el gran número de productos derivados y de transformación. Por tanto, a los efectos de cumplir con los requisitos de la Directiva Marco del Agua y salvaguardar los recursos hídricos europeos, planteamos la posibilidad de incorporar otro enfoque, basado en pruebas de campo recogidas agua abajo de puntos de origen importantes para el conjunto de una cuenca (grandes ciudades, complejos industriales, zonas de agricultura intensiva, etc.) en depósitos integradores (embalses, estuarios, puertos, etc.) y en puntos de interés especial (abstracción de agua potable, ecosistemas con valor específico, zonas de drenaje, etc.). El enfoque más interesante para detectar los agentes tóxicos clave específicos de las masas de agua mediante pruebas de campo es el análisis EDA (Effect-Directed Analysis). Este sistema utiliza muestras de agua, sedimentos o biota recogidas en puntos de interés específico y evalúa sus efectos, en la medida de lo posible aplicando un amplio abanico de identificadores toxicológicos importantes para los ecosistemas y para la salud humana. Acto seguido, las muestras tóxicas se fraccionan para reducir la complejidad de las mezclas ambientales y se realizan bioensayos con las fracciones obtenidas para identificar las que acumulan un mayor potencial de riesgo y, por tanto, tienen más prioridad. Las fracciones de riesgo se someten a un análisis químico de objetivos y no objetivos. La dilucidación de la estructura de los elementos desconocidos aplicando técnicas de GC-MS y LC-MS, además de las herramientas informáticas más modernas, constituye uno de los puntos más complejos. Por último, solo queda confirmar que los compuestos identificados tentativamente

tienen una contribución significativa sobre el efecto medido. Con MODELKEY, el enfoque EDA ha experimentado un notable avance y se ha aplicado a varios puntos de interés de tres cuencas fluviales. Además de los ensayos clásicos *in vivo* correspondientes a los BQE de la Directiva Marco del Agua, se aplicaron diferentes sistemas de ensayos *in vitro* a un amplio abanico de indicadores endocrinos, como la estrogenicidad, la androgenicidad, los efectos mediados por el receptor Ah, la alteración de las hormonas tiroideas, la mutagenicidad y la actividad antibiótica. El EDA hizo especial énfasis en los sedimentos, a causa de su potencial de acumulación de diferentes agentes tóxicos. Aunque los contaminantes orgánicos clásicos persistentes no polares poseen todavía su importancia en las masas de agua evaluadas por MODELKEY, el EDA puso de relieve de una forma clara el elevado potencial dañino de las fracciones polares en la mayor parte de los indicadores. Dicha tendencia quedó todavía más demostrada al valorar la biodisponibilidad en los estudios de EDA. Los compuestos derivados de productos cosméticos y de higiene personal, como el triclosán biocida y varios compuestos de almizcle, fueron los principales agentes tóxicos identificados en los sedimentos. Otros ejemplos serían los compuestos de esteroides, el tris(2-cloroisopropílico)fosfato retardante de llama y diferentes nitro-HAP. Una primera comparación de los agentes tóxicos identificados mediante el enfoque basado en EDA, con intentos de priorización basados en el control y la modelización, indica que el enfoque basado en pruebas de campo permite incorporar nuevos agentes tóxicos potenciales, lo que debería tenerse en cuenta al realizar el control y la priorización. Además de su valor para la priorización, el EDA constituye una herramienta muy potente para el control de investigación en el contexto de la Directiva Marco del Agua en puntos en los que los indicadores dejen entrever (si el índice de especies en riesgo SPEAR es bajo) que los agentes tóxicos son los causantes del mal estado ecológico, aunque los análisis de objetivos no permitan justificar los efectos medidos.

## **Contaminantes emergentes y prioritarios: el papel de las WWTP para el saneamiento y la significación de los productos de transformación**

Kormos J. L., Schulz M., Wick A. y Ternes T. A.

Federal Institute of Hydrology (BfG), Koblenz, Germany

Contacto: Ternes@bafg.de

La presencia de contaminantes emergentes (esto es, compuestos farmacéuticos, productos de higiene personal y cosmética, compuestos de perfluorados o retardantes de llama bromados) en el medio ambiente está ampliamente documentada en la bibliografía especializada. Dichos contaminantes se han detectado en varias matrices ambientales de la parte baja de  $\mu\text{g/l}$ , tanto en Europa como en América del Norte y Asia. La conclusión alcanzada es que el origen principal de dichos contaminantes emergentes que penetran en el medio acuático son los vertidos de las plantas de tratamiento de aguas residuales (WWTP). Sin embargo, pueden ser también consecuencia de los vertidos industriales, los vertidos ilegales, las filtraciones de los vertederos y los vertidos de aguas residuales hospitalarias.

A lo largo de los últimos años, los estudios han tratado básicamente de optimizar y desarrollar tecnologías de tratamiento de aguas residuales capaces de eliminar de forma satisfactoria dichos compuestos emergentes y evitar la proliferación de la contaminación en el medio acuático.

Para limitar o impedir que dichos compuestos penetren en las aguas superficiales y en los acuíferos, se ha estudiado la aplicación de tecnologías de membrana (membranas de nanofiltración), filtros de sorción (GAC, PAC), oxidación química (ozono, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), parámetros operativos (edad de los lodos, tiempo de retención hidráulica), así como los tratamientos biológicos (biorreactores, bacterias nitrificantes). No obstante, hasta la fecha han sido pocos los estudios que han analizado los efectos de dichos tratamientos sobre la composición de los efluentes vertidos en los ecosistemas acuáticos.

La formación y la identificación de los productos de transformación (TP) de los contaminantes emergentes es un campo de investigación relativamente nuevo, que trata de arrojar un poco de luz sobre las implicaciones de los procesos de tratamiento aplicados. En la mayoría de los casos, la eliminación de un compuesto no indica necesariamente que se haya producido mineralización, sino que, muy probablemente, el compuesto original se haya transformado de algún modo, con posibles cambios en la funcionalidad y la toxicidad. Los estudios han analizado la biotransformación de una selección de compuestos farmacéuticos (medios de contraste yodados por rayos X y opiáceos), así como la oxidación química de determinados microcontaminantes. Los resultados ilustran claramente que los productos de transformación de los compuestos farmacéuticos seleccionados se forman en sistemas de lotes a escala de banco y que se detectan los mismos TP en las plantas de tratamiento de aguas residuales y en los medios acuáticos.

Esta presentación versará sobre la aplicación de distintos tratamientos de aguas residuales, de la eficiencia de eliminación de determinados microcontaminantes polares (compuestos farmacéuticos) y también de la formación de TP tras la aplicación de ciertos procesos de tratamiento.

## Aplicabilidad y limitaciones en el uso de los biomarcadores

Segner H. y Möller A.M.

Centre for Fish and Wildlife Health  
University of Bern  
PO Box 8466  
CH-3001 Bern  
Switzerland

Contacto: [helmut.segner@itpa.unibe.ch](mailto:helmut.segner@itpa.unibe.ch)

Un biomarcador puede definirse como un cambio biológico en respuesta a la exposición a compuestos químicos ambientales y/o sus posibles efectos. En teoría, cualquier respuesta que vaya desde los cambios moleculares hasta los ecológicos puede servir como biomarcador. Sin embargo, en la práctica el término “biomarcador” se limita a las respuestas moleculares, bioquímicas, celulares y fisiológicas de los organismos, mientras que las respuestas de un nivel superior se designan con el término “bioindicadores” o “indicadores ecológicos”. Algunos ejemplos de biomarcadores empleados en el control de los organismos acuáticos son las enzimas y los productos de biotransformación, las proteínas del estrés, las metalotioneínas, los parámetros inmunológicos, los parámetros endocrinos, los parámetros genotóxicos y las alteraciones histopatológicas. Debe tenerse en cuenta que, con el desarrollo de las tecnologías toxicogenómicas, es probable que aparezcan nuevos biomarcadores.

Dado que los biomarcadores indican si un organismo está expuesto a compuestos químicos tóxicos y si ello puede tener relación con efectos adversos para la salud, estos biomarcadores permiten relacionar el estado químico y ecológico de los hábitats acuáticos, tal como establece, por ejemplo, la Directiva Marco del Agua. La gran ventaja de los biomarcadores reside en su utilidad como herramienta de diagnóstico para establecer relaciones causa-efecto. En cambio es objeto de debate, su capacidad predictiva, esto es, su capacidad de pronosticar cambios ecológicos.

Los biomarcadores constituyen respuestas integradas de los organismos biológicos. Una de sus ventajas, por tanto, es que pueden mostrar el impacto acumulado de todos los compuestos químicos a los que está expuesto el organismo. En cambio, un inconveniente es que la respuesta del biomarcador no solo recibe la influencia de la exposición química, sino también de diferentes factores químicos, biológicos y físicos, como el estado reproductivo del organismo o la temperatura ambiental. Esta regulación múltiple de las respuestas de los biomarcadores debe valorarse con suma atención al diseñar los programas de control, con el objeto de poder distinguir entre la influencia de los factores de estrés y la del resto de factores.

La presentación girará en torno al alcance y las limitaciones del uso de biomarcadores para el control y la evaluación del estado de los hábitats acuáticos.

## Uso de las comunidades del biofilm para evaluar los riesgos ecológicos de los contaminantes en los ecosistemas acuáticos

Bonnineau C.<sup>1</sup>, Sans-Piché F.<sup>2</sup>, Proia L.<sup>1</sup>, Lubarsky H.<sup>3</sup>, Geiszinger A.<sup>1</sup>, Romání A.M.<sup>1</sup>, Schmitt-Jansen M.<sup>2</sup>, Gerbersdorf S.<sup>3</sup> y Guasch H.<sup>1</sup>

1. Institute of Aquatic Ecology, University of Girona, Spain

2. Dep. of Bioanalytical Ecotoxicology, Centre for Environmental Research (UFZ), Leipzig, Germany

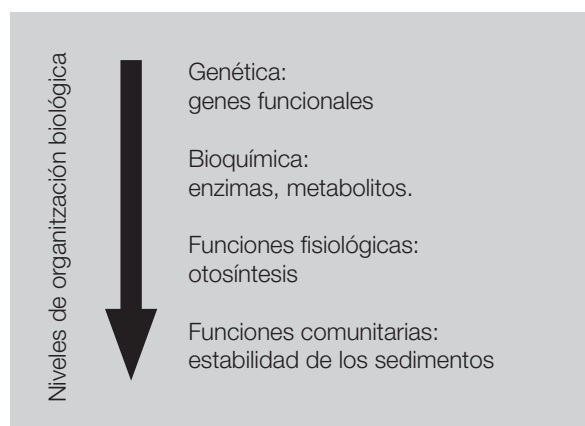
3. Institute of Hydraulics, Faculty of Civil Engineering and Environmental Science, University of Stuttgart, Germany

Contacto: chloe.bonnineau@udg.edu

De conformidad con la Directiva Marco del Agua, en 2015 todas las masas de agua deben haber alcanzado un buen estado ecológico. Según la directiva citada, el biofilm es un instrumento que debe someterse a seguimiento para evaluar la calidad de las aguas superficiales. Los biofilms son comunidades vivas que crecen en sedimentos (fitobentos) o en otras superficies (perifiton). Estas comunidades, formadas por algas, bacterias, protozoos y hongos, se encuentran incrustadas en una matriz extracelular de polímeros segregados por microbios. Las pautas para el control de los biofilms se centran en los elementos estructurales de la comunidad autotrófica, utilizando herramientas contrastadas: determinación de los taxones, abundancia e índices relacionados. Sin embargo, también hay que tener en cuenta la respuesta funcional de las comunidades, puesto que llevan a cabo funciones cruciales para los ecosistemas. Por ello, el proyecto Keybioeffects ha desarrollado varias herramientas concebidas para evaluar las respuestas funcionales de las comunidades de los biofilms.

### 1. ¿Cómo investigar la complejidad de los biofilms?

Las comunidades de los biofilms, que pueden encontrarse en varios niveles del ecosistema acuático, constituyen una interfaz entre el agua que fluye y el cauce o los sedimentos del curso. A causa de su omnipresencia y su importancia como productores principales en los flujos de nutrientes y las cascadas tróficas, los **biofilms constituyen unos indicadores fiables de la salud de un ecosistema integrado**. Es más, los biofilms presentan una gran riqueza de especies, entre las que figura una cantidad fiable de especies sensibles y con capacidad de discriminación, lo cual, combinado con el poco tiempo que tardan en generarse, los convierte en **un eficaz sistema de alerta rápida** de las alteraciones del ecosistema [1, 2]. Nuestros grupos han estudiado los distintos niveles de complejidad en las fases correspondientes de la colonización del biofilm, desde los monocultivos y los monocultivos mixtos



**Figura 1:** niveles de organización biológica integrados en el desarrollo de las herramientas. En cada nivel se indica un ejemplo de criterio de valoración.

hasta los biofilms naturales en microcosmos, mesocosmos y canales artificiales, o bien en arroyos y ríos. Para investigar la complejidad biológica de los biofilms, hemos desarrollado herramientas que analizan **varios niveles de organización biológica**, desde las respuestas genéticas hasta las funciones del ecosistema (Fig. 1). Lo que buscamos no son respuestas estructurales, sino más bien respuestas funcionales e integradas.

## 2. Ejemplos de investigaciones concretas:

Nuestros grupos están trabajando para desarrollar, optimizar y validar estas herramientas (Fig. 1). Actualmente se están comprobando las respuestas a los cambios abióticos y la presión tóxica a fin de investigar el potencial de las herramientas a la hora de evaluar el riesgo de los compuestos químicos presentes en el entorno.

### 2.1 Interacciones entre los factores ambientales y los contaminantes

Se desarrollaron biofilms en mesocosmos bajo luces de distinta intensidad y posteriormente se expusieron durante seis horas a varios herbicidas. En general, se observó que la luz bajo la que se habían desarrollado los biofilms influía en sus respuestas a los herbicidas. Los análisis de las respuestas de las enzimas antioxidantes mostraron que, según la luz bajo la cual se habían desarrollado, los biofilms utilizaban enzimas distintas para combatir el estrés oxidante provocado por los herbicidas.

### 2.2 Contaminantes emergentes: evaluación de la toxicidad de los betabloqueantes en biofilms fluviales [3]

Utilizando un biomarcador que comprendía varios niveles de organización biológica, se evaluó la toxicidad de tres betabloqueantes detectados en el intervalo ng/L en el río Llobregat (España). Tras 24 horas de exposición en microcosmos, se comprobó la respuesta de los marcadores. Según los resultados, el betabloqueante más tóxico era el propranolol, que afectaba considerablemente a la eficiencia fotosintética de los biofilms. Aunque cabía esperar que los betabloqueantes actuaran de modo parecido en los organismos objetivo, el enfoque que adoptamos demostró que cada uno afectaba de un modo distinto a los niveles de los biofilms y que podían tener efectos adversos una vez mezclados.

### 2.3 Pulsos de contaminación del triclosán y el diurón

Se utilizaron biofilms fluviales para evaluar los riesgos ecológicos asociados a la entrada de pulsos del bactericida triclosán (TCS) y el herbicida diurón (DIU). El TCS inhibió directamente la penetración de fosfatos, aumentó la mortalidad de las bacterias y afectó de modo indirecto a las diatomeas. Es posible que la inhibición de la penetración de fosfatos reduzca la capacidad de autodepuración del ecosistema fluvial. El DIU afectó sobre todo al nivel algal del biofilm: su eficiencia fotosintética disminuyó y la mortalidad de las diatomeas aumentó tras la exposición al herbicida. Estos resultados confirman que cada uno de estos productos actúa de modo distinto en el nivel de la comunidad del biofilm y ponen de manifiesto el riesgo que suponen para el río en el plano ecosistémico.

### 2.4 Metabolómica para comprender la toxicidad de la prometrina sobre los biofilms

Se realizó una investigación para evaluar hasta qué punto la tecnología metabolómica es adecuada para estudiar el perifiton incubado en microcosmos. Durante la incubación se expusieron algunos microcosmos al herbicida prometrina y se extrajeron los perfiles metabólicos del perifiton utilizando un “protocolo metabolómico” optimizado. Aunque se observó que tras la exposición a la prometrina se habían producido cambios en los perfiles metabólicos de la comunidad, aún no se ha conseguido reducir la variabilidad no deseada.

### 2.5 Componentes clave para la bioestabilización de los sedimentos

El triclosán, un contaminante antropogénico habitual y persistente en los hábitats acuáticos, afectó considerablemente al ensamblaje bacteriano expuesto directamente a él en una concentración de 2-100 µg/l. El TCS inhibió considerablemente el potencial de estabilización de las bacterias, una función ecosistémica importante en el hábitat acuático [4,5]. Ambas variables presentaron una correlación negativa. La exposición al TCS tuvo un impacto considerable en la cantidad de células bacterianas y el crecimiento bacteriano, lo cual afectó a la secreción de EPS y, con ello, a la estabilidad de los sedimentos.

## 3. Perspectivas del uso de biofilms para evaluar la toxicidad y realizar controles de investigación

### 3.1 Evaluación de la toxicidad

Los biofilms son comunidades complejas que integran, a lo largo de periodos prolongados, efectos directos e indirectos de las sustancias tóxicas, por lo cual resultan sumamente interesantes a la hora de evaluar la toxicidad. Para desarrollar bioensayos de laboratorio es necesaria cierta **estandarización de los procedimientos de colonización y evaluación de la toxicidad**. El tipo de sustratos, la colonización y el tiempo de exposición y los biomarcadores fiables y adecuados pueden variar según el hábitat y la comunidad estudiada (arroyos, lagos, sedimentos, etc.). Esta uniformización podría resultar útil para **comparar los parámetros ecotoxicológicos obtenidos para las distintas comunidades en distintos laboratorios**.

### 3.2 Control de investigación: el biofilm como indicador centinela de la salud del hábitat

El control de investigación puede centrarse en el desarrollo de sistemas de alerta rápida. Teniendo en cuenta que es posible que se produzcan respuestas funcionales antes de que el efecto estructural se haga visible, las herramientas desarrolladas en el marco de Keybioeffects pueden resultar útiles a la hora de realizar controles de investigación. Antes de utilizar estas herramientas de modo rutinario, hay que adaptarlas y optimizarlas para los contextos *in situ*, para lo cual se recomienda un enfoque que combine el trabajo de campo y el de laboratorio.

Las herramientas desarrolladas en el laboratorio para determinar nuevos parámetros (por ejemplo genes, enzimas o metabolitos) y funciones de la comunidad (por ejemplo, productores principales a través de la fotosíntesis o estabilidad de los sedimentos) pueden aplicarse a situaciones concretas de trabajo de campo. Posteriormente, las muestras tomadas *in situ* pueden seguir optimizándose y validarse en el laboratorio. Por último, la combinación de las herramientas adecuadas podría generar un conjunto de herramientas de biomarcadores válido para el control de investigación, por ejemplo cuando se desconocen las fuentes de la contaminación.

### Referencias

- [1] Sabater, S., Admiraal, W., 2005. Periphyton as Biological Indicators in Managed Aquatic Ecosystems. In Periphyton: Ecology, exploitation and management, 159-178. CABI Publishing. M.E. Azim, M.C.J. Verdegem, van A.A. Dam, M.C.M. Beveridge.
- [2] Sabater S., Guasch H., Ricart M., Romani A., Vidal G., Klünder Ch. & Schmitt-Jansen M., 2007. Monitoring the effect of chemicals on biological communities: the biofilm as an interface. *Anal Bioanal Chem* 387, 1425-1434.
- [3] Bonninaeu, C., Guasch, H., Proia, L., Ricart, M., Geiszinger, A., Romani, A.M., Sabater, S. 2010. Fluvial biofilms: A pertinent tool to assess  $\beta$ -blockers toxicity. *Aquat.Toxicol.* 96, 225-233
- [4] Gerbersdorf, S.U., Manz, W., and Paterson, D.M., 2008: The engineering potential of natural benthic bacterial assemblages in terms of the erosion resistance of sediments. *FEMS Microbiology Ecology* 66, 282-294.
- [5] Gerbersdorf, S.U., Bittner, R., Lubarsky H., Manz, W., and Paterson, D.M., 2009: "Microbial assemblages as ecosystem engineers of sediment stability". *JSS, Journal of Soils and Sediments* 9, 640-652.



## Mejoras en el muestreo de datos para un diagnóstico del ecosistema más ajustado

Faggiano L.<sup>1</sup>, Guénard G.<sup>2</sup>, Gevrey M.<sup>2</sup> y Lek S.<sup>2</sup>

1. Insitute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona, Spain
2. University Paul-Sabatier, CNRS-EDB (UMR 5174), Toulouse, France

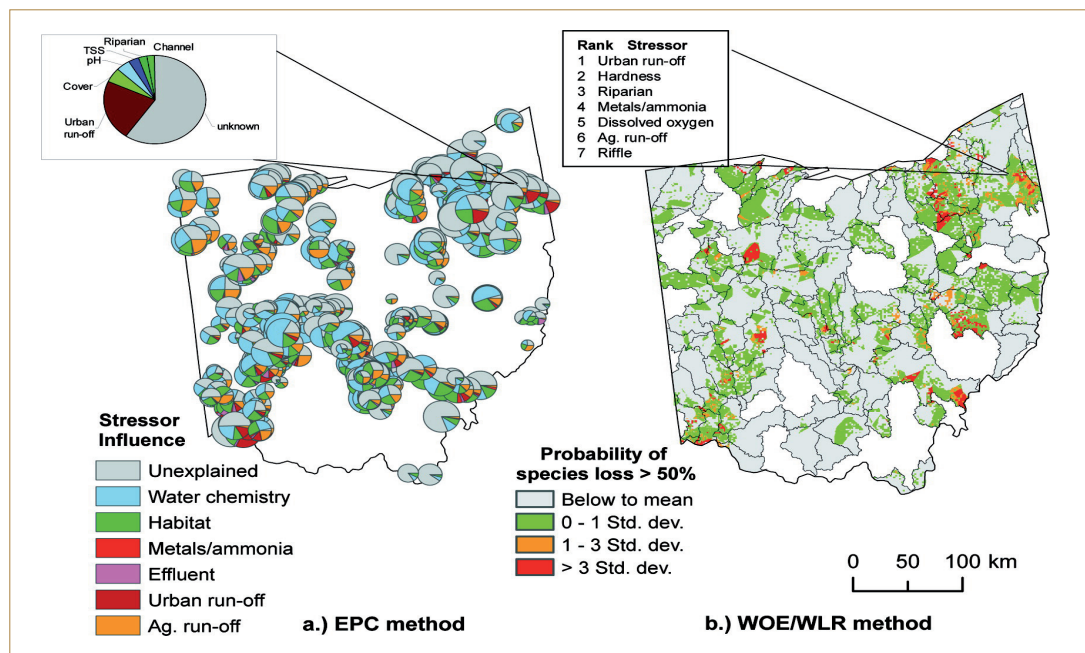
contacto: leslie.faggiano@udg.edu

El uso del suelo, la contaminación y el cambio climático tienen un impacto profundo sobre los ecosistemas de agua dulce. En virtud de la Directiva Marco del Agua (DMA) de la UE, todos los Estados Miembros se han comprometido a conseguir que las aguas superficiales se encuentren en buen estado ecológico en el año 2015. La DMA pretende fomentar el desarrollo de herramientas para evaluar de modo fiable el estado químico y ecológico de las masas de agua y crear estándares comunes para la gestión de las aguas superficiales y subterráneas. El objetivo es frenar la contaminación y mejorar el estado de los ecosistemas para garantizar la protección a largo plazo de los recursos hídricos. Pese a los esfuerzos realizados por la comunidad científica, sigue resultando difícil definir con precisión qué debemos entender por “mala calidad del agua” e identificar de modo fiable las causas de su deterioro. En la mayoría de casos, la mala calidad del agua no se debe a un solo factor de estrés, sino que suele ser consecuencia de varios factores que conforman sinergias o se entorpecen mutuamente (por ejemplo la contaminación química, la alteración del hábitat o los cambios climáticos). Además, estos factores suelen formar parte de procesos espaciales y temporales que se producen en distintos niveles en el territorio. Para cumplir e incluso superar los objetivos de la DMA, obtener evaluaciones geográficas de los impactos biológicos e identificar los factores de estrés de un modo fiable es necesario contar con información explícita desde el punto de vista espacial y temporal.

Las agencias nacionales del agua europeas —los organismos encargados de aplicar la DMA— han propuesto varios programas de control, en la mayoría de casos basados en inventarios biológicos o en procesos de medición de la contaminación química, como por ejemplo la detección de pesticidas y sustancias prioritarias en los ecosistemas de agua dulce. Sin embargo, dichas agencias no acordaron entre sí los puntos de muestreo, por lo cual las actividades de control se realizan en ubicaciones distintas. A modo de ejemplo, en la cuenca del Adur-Garona (suroeste de Francia) la información sobre pesticidas (recogida por la agencia del agua francesa en 130 puntos de muestreo) y la información sobre peces (recogida por la agencia de pesca francesa en 140 puntos de muestreo) estaban demasiado alejadas geográficamente (10,5 kilómetros de media) para establecer correspondencias efectivas. El resultado de este tipo de situaciones es que solo una pequeña parte de la información obtenida tras la fusión de datos procedentes de distintas agencias puede utilizarse para investigar posibles relaciones causa-efecto entre los factores químicos y las respuestas de la comunidad biótica.

Las evaluaciones de bases de datos espaciales, que forman parte de las evaluaciones diagnósticas de cribado, tienen como objetivo desarrollar una comprensión científica de las relaciones espaciales cuantitativas existentes entre las variables medioambientales (explicativas) y biológicas (respuestas). Este tipo de actividades cada vez está más solicitado, puesto que sus resultados pueden utilizarse como orientación para la realización de estudios

de control específicos y el establecimiento de prioridades en los objetivos de gestión de divisorias de aguas regionales y locales [1]. Relacionar el estado biológico, las características del hábitat (incluidos los riesgos de mezclas) y la abundancia de especies nos permite distinguir entre causas naturales y causas antropogénicas en el deterioro de los ecosistemas.



**Figura 1.** Resultados del mapeado SIG de Ohio: (a) Gráfico circular y mapa del modelo de efectos y causas probables. (b) Mapa rasterizado interactivo basado en el modelo de ponderación de evidencia según SIG/regresión logística ponderada. En cada uno de los mapas se muestra un ejemplo de consulta sobre la influencia de un factor de estrés en una ubicación del río Mahoning (Kapo et al., 2008).

Los métodos utilizados pueden ir de análisis de correlación sencillos a complejas técnicas de análisis multivariante [2-5]. A modo de ejemplo, la metodología denominada “gráfico circular de efecto y causa probable” (EPC, por sus siglas en inglés) permite asociar las contribuciones probables de varios factores de estrés a la pérdida de especies. El tamaño de los gráficos representa la magnitud del deterioro local (véase figura 1a de Kapo *et al.*, 2008). Otra metodología es la ponderación de pruebas según SIG/regresión logística ponderada [6-7], en la que se utilizan las relaciones entre varios puntos de formación conocidos y los patrones geográficos de dos o más variables para predecir la presencia de puntos de interés desconocidos y determinar la influencia relativa de variables concretas (véase figura 1b de Kapo *et al.*, 2008).

Hasta la fecha, en Europa existen pocas bases de datos que permitan realizar este tipo de análisis (incluidas las variables químicas, biológicas y relacionadas con el hábitat). A fin de mejorar el diagnóstico de los ecosistemas y cumplir con la DMA, las partes implicadas deben buscar soluciones para mejorar la comunicación entre agencias. En este sentido, una solución podría ser la creación de comités interagencias, como por ejemplo un comité geológico que incluya a las agencias responsables de los inventarios biológicos y el control químico que se encargue de que ambas actividades se realicen utilizando un conjunto de puntos estándar.

Este tipo de colaboración ya se ha iniciado en la cuenca del Adur-Garona y se espera una gran mejora de cara a los próximos años.

**Referencias:**

- [1] de Zwart D., Dyer S. D., Posthuma L., and Hawkins C. P. Predictive models attribute effects on fish assemblages to toxicity and habitat alteration. *Ecological Applications*, 2006, 16(4) :1295–1310.
- [2] Burton, G. A., Jr., Dyer, S. D., Cormier, S. M., Suter, G. W., and Dorowd-King, E. J. Identifying Watershed Stressors Using Database Evaluations Linked with Field and Laboratory Studies: A Case Example. In *Ecological Variability: Separating Natural from Anthropogenic Causes of Ecosystem Impairment*; Baird, D. J., and Burton, G. A., eds. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC): Brussels, 2001
- [3] Dyer, S. D., White-Hull, C., Wang, X., Johnson, T., Carr, G. Determining the influence of habitat and chemical factors on instream biotic integrity for a Southern Ohio watershed *Journal of Aquatic Ecosystem Stress Recovery*, 1998, 6:91-110.
- [4] Norton, S. B., Cormier, S. M., Smith, M., Jones, R. C., Berigan, M. S. Predicting levels of stress from biological assessment data: empirical models from the Eastern Cornbelt Plains, Ohio, USA *Environ. Toxicological Chemistry*, 2002, 21:1168-1175.
- [5] Kapo, K. E., Burton, G. A. A GIS-based weights-of-evidence approach for diagnosing aquatic ecosystem impairment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25:2237-2249.
- [6] Agterberg, F. P.; Bonham Carter, G. F.; Cheng, Q.; Wright, D. F. Weights of Evidence Modeling and Weighted Logistic Regression for Mineral Potential Mapping. In *Computers in Geology, 25 Years of Progress*; Davis, J. C.; Herzfeld, U. C., Eds.; Oxford University Press: Oxford, UK, 1993; pp 13– 32.
- [7] Sawatzky, D. L.; Raines, G. L.; Bonham-Carter, G. F.; Looney, C. G. ArcSDM2: Arcmap Extension for Spatial Data Modelling Using Weights of Evidence, Logistic Regression, Fuzzy Logic and Neural Network Analysis.
- [8] Kapo, K., Burton G. A., de Zwart, D., Posthuma, L and Dyer, S. D. Quantitative Lines of Evidence for Screening-Level Diagnostic Assessment of Regional Fish Community Impacts: A Comparison of Spatial Database Evaluation Methods. *Environmental Science and Technology*, 2008, 42 (24) : 9412–9418.

*Agradecimientos.* Este trabajo ha sido financiado por el proyecto europeo KEYBIOEFFECTS (MRTN-CT-2006-035695).

## **Ecotoxicología en ecosistemas fluviales: desde ensayos estandarizados con monocultivos hasta la manipulación del ecosistema**

William H. Clements

Department of Fish, Wildlife and Conservation Biology  
Colorado State University  
Fort Collins, CO 80523, USA

Contacto: willc@warnercnr.colostate.edu

El control biológico de las comunidades acuáticas se emplea rutinariamente para evaluar el impacto de los factores de estrés físicos y químicos en la integridad ecológica. Uno de los puntos de partida básicos de este tipo de evaluaciones es que los patrones de composición de la comunidad observados en los puntos contaminados reflejan la presencia de factores de estrés concretos. Sin embargo, las diferencias entre los puntos de referencia y los puntos contaminados se deben a numerosos factores, que van más allá de los factores de estrés físicos y químicos, por lo que demostrar la existencia de una relación de causalidad en un estudio descriptivo constituye una tarea sumamente compleja. A modo de ejemplo, los estudios descriptivos pueden mostrar que la composición de la comunidad de dos puntos es distinta, pero con frecuencia no son capaces de señalar la causa concreta de las diferencias. Aunque se han propuesto enfoques desarrollados en el ámbito de la epidemiología humana (Hill, 1965) para trazar relaciones causales más sólidas en las bioevaluaciones de cursos de agua (Suter, 1993), según algunos investigadores ninguna técnica resulta tan efectiva como la manipulación experimental (Lubchenco y Real, 1991).

La relación entre el enfoque descriptivo y el enfoque experimental en el ámbito de la ecotoxicología puede describirse como un continuo a lo largo de dos ejes, de los cuales uno refleja el grado de control y reproducción experimental y el otro, la relevancia ecológica del sistema de ensayo correspondiente. Los enfoques experimentales tradicionales utilizados en toxicología acuática, como por ejemplo los bioensayos de laboratorio con una sola especie, son la base en la que suelen sustentarse los responsables de la regulación medioambiental (Cairns, 1986). Estos experimentos, que se utilizan de modo rutinario para detectar los efectos de las sustancias químicas y establecer criterios químicos, permiten controlar de un modo estricto las variables de confusión y son fáciles de reproducir. Sin embargo, las pruebas de toxicidad realizadas en el laboratorio no son realistas desde el punto de vista ecológico y no explican los efectos indirectos que se producen en las comunidades naturales. Por su parte, los estudios puramente descriptivos (por ejemplo, el biocontrol rutinario) no se pueden reproducir en sentido estricto y en ellos no se asignan aleatoriamente los tratamientos a las unidades experimentales. El resultado es que las diferencias entre los puntos de referencia y los puntos contaminados no pueden atribuirse directamente a ningún factor de estrés concreto.

Se han desarrollado enfoques más sofisticados —como experimentos con microcosmos y mesocosmos— para evaluar las respuestas en niveles superiores de la organización biológica (por ejemplo, las comunidades y los ecosistemas), pero dichos enfoques no se suelen utilizar en un contexto normativo. Mi opinión es que tradicionalmente ha existido una preferencia por los enfoques reduccionistas (como por ejemplo las pruebas de toxicidad a una sola especie) que ha impedido la aplicación de estos enfoques experimentales, más realistas desde el punto

de vista ecológico. Realizar experimentos a una escala espacio-temporal relevante desde el punto de vista ecológico en los niveles superiores de la organización biológica (poblaciones, comunidades, ecosistemas) es una tarea compleja, por lo que algunos investigadores han puesto en tela de juicio la validez de los estudios a pequeña escala (Carpenter, 1996). Para que los enfoques experimentales desempeñen un papel más importante en la ecotoxicología, los investigadores deben despejar las dudas existentes en torno a la escala espacio-temporal y diseñar estudios más realistas desde el punto de vista ecológico.

Además de evaluar los efectos en la escala espacio-temporal adecuada, los ecotoxicólogos son cada vez más conscientes de la necesidad de utilizar una amplia variedad de criterios de valoración significativos desde el punto de vista ecológico. En los niveles inferiores de organización suelen producirse respuestas a un contaminante concreto (por ejemplo, la inducción de metalotioneína y la exposición a metales pesados) que, en general, tienen una base mecanicista conocida, pero todavía no se ha conseguido describir las consecuencias ecológicas de la mayoría de respuestas bioquímicas, fisiológicas e individuales para las poblaciones y las comunidades. Aunque las respuestas en los niveles más elevados de la organización biológica son más relevantes desde el punto de vista ecológico, también resultan menos específicas y carecen de una base mecanicista. Por este motivo, algunos investigadores son partidarios de integrar las mediciones en todos los niveles de la organización biológica al evaluar los efectos de los factores de estrés (Clements, 2000). Los experimentos en microcosmos y mesocosmos suelen comprender la exposición de sistemas complejos, por lo cual proporcionan interesantes oportunidades para investigar las respuestas a los factores de estrés en los distintos niveles de la organización biológica.

La transición desde enfoques puramente descriptivos hasta otros experimentales y la capacidad de poner a prueba hipótesis a través de experimentos controlados suele considerarse una señal de madurez científica (Popper, 1972). Aunque en el ámbito de la ecotoxicología se está produciendo la transición indicada, existen dudas considerables en torno a las escalas espacio-temporales y los niveles de la organización biológica adecuados. En esta presentación describiré los puntos fuertes y débiles de los enfoques experimentales en distintas escalas espaciales y temporales en el ámbito de la ecotoxicología. Utilizando datos recabados durante un experimento natural realizado a lo largo de 20 años en un arroyo contaminado con metales, explicaré de qué modo los resultados de los enfoques descriptivos y experimentales pueden integrarse para mostrar las relaciones causa-efecto existentes entre los factores de estrés y las respuestas ecológicas. Asimismo, utilizaré los resultados de una manipulación *in situ* realizada a gran escala en 12 arroyos distintos a fin de demostrar que los efectos de los factores de estrés deben investigarse en el marco del cambio global. El objetivo de la presentación es mostrar de qué modo pueden utilizarse los resultados de los estudios descriptivos y experimentales para establecer relaciones causales e identificar concentraciones seguras de contaminantes prioritarios y emergentes en ecosistemas acuáticos.

#### Referencias

- Cairns, J.Jr. 1986. The myth of the most sensitive species. *BioScience* 36: 670-672.
- Carpenter, S.R. 1996. Microcosm experiments have limited relevance for community and ecosystem ecology. *Ecology* 77: 677-680.
- Clements, W.H. 2000. Integrating effects of contaminants across levels of biological organization: an overview. *J. Aquat. Eco. Stress Recov.* 7: 113-116.
- Hill, A.B. 1965. The environment and disease: association or causation. *Proceed. Royal Soc. Medicine* 58: 295-300.
- Lubchenco, J. and L.A. Real. 1991. Manipulative experiments as tests of ecological theory. *In Foundations of ecology. Edited by L.A. Real and J.H. Brown. Chicago University Press, Chicago, pp. 715-733.*
- Popper, K.R. 1972. *The Logic of Scientific Discovery*, 3rd edition. Hutchinson, London, England.
- Suter, G.W. 1993. *Ecological Risk Assessment*. Lewis Publ., Chelsea, MI.

## Aproximaciones actuales utilizadas para la evaluación de la integridad ecológica: índices biológicos versus estudios ecotoxicológicos a nivel de comunidad

Sabater S.<sup>1,2</sup> y Muñoz I.<sup>3</sup>

1. Institute of Aquatic Ecology (IEA), University of Girona, Campus Montilivi, 17071 Girona
2. Catalan Institute for Water Research (ICRA), Scientific and Technologic Park of the University of Girona, 17003 Girona, Spain.
3. Department of Ecology, University of Barcelona, Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona, Spain.

Contacto: sergi.sabater@udg.edu or imunoz@ub.edu

Para cumplir la Directiva Marco del Agua (DMA), los estados miembros y la comunidad científica deben reflexionar sobre la protección y la gestión de los sistemas de agua dulce. De conformidad con la Directiva, para determinar el estado ecológico de las masas de agua hay que tener en cuenta no sólo las presiones a las que se encuentran sometidos los distintos grupos bióticos sino también la desviación de la comunidad respecto a sus condiciones inalteradas.

Con frecuencia resulta difícil establecer relaciones causa-efecto entre las características químicas del agua de los ríos y las comunidades biológicas. Además, es posible que la degradación del estado ecológico se deba a otros factores de estrés. Las métricas más habituales—basadas en las estructuras de las comunidades, como, por ejemplo, los índices bióticos—no reflejan los efectos combinados de los factores de estrés y, además, debe tenerse en cuenta que dichos efectos varían de un nivel biológico a otro. Para evaluar la relevancia de varios factores de estrés el análisis debe incluir diferentes parámetros y utilizar análisis estadísticos multivariantes a fin de confirmar tanto el papel que desempeña cada factor de estrés como las interacciones entre ellos.

En el marco del proyecto MODELKEY se han desplegado varios enfoques de experimentación, observación y modelización destinados a valorar el potencial y las limitaciones de la evaluación conjunta de múltiples factores de estrés. Utilizando las herramientas disponibles, se han podido analizar los datos a varios niveles (incluidos la comunidad, los compuestos químicos y los descriptores de toxicidad) a fin de evaluar el impacto de los contaminantes clave en la estructura y la biodiversidad de la comunidad. El Llobregat es uno de los ríos examinados por el proyecto. Su cuenca se caracteriza por la existencia de grandes fluctuaciones en el caudal, consecuencia de la influencia del clima mediterráneo. La cabecera del río se caracteriza por el desarrollo de actividades agrícolas, mientras que en el curso intermedio e inferior se observa el impacto de la industria y de las aglomeraciones urbanas. En la cuenca del río Llobregat viven más de cinco millones de personas, y la contaminación química va acompañada de salinidad, enriquecimiento de nutrientes, deterioro del hábitat y abstracción de agua. En varios puntos del curso inferior del río los análisis químicos han revelado la presencia de contaminantes prioritarios y emergentes, como, por ejemplo, pesticidas (Ricart *et al.* 2009), compuestos farmacéuticos (Muñoz *et al.* 2009) y compuestos alquilfenoles (Petrovic *et al.*, 2002).

En primavera y otoño de 2005 y 2006 se tomaron simultáneamente varias muestras químicas y biológicas en el curso inferior del río Llobregat. Posteriormente se utilizaron

técnicas estadísticas de análisis multivariante para determinar la mejor correspondencia entre los patrones entre muestras de una comunidad y los patrones de variables ambientales asociadas a dichas muestras. Los resultados mostraron que las comunidades estudiadas se ven afectadas por factores diferentes:

- Las variables físicas y químicas (principalmente la temperatura y la concentración de sulfatos) explican el alto porcentaje de variabilidad de las actividades exoenzimáticas del nivel bacteriano del biofilm.
- La presencia y la concentración de los pesticidas, así como la disponibilidad de los nutrientes, estaban relacionados con los cambios en la biomasa, la composición de la comunidad y la eficiencia fotosintética de las algas del biofilm.
- La abundancia de biomasa en la comunidad macroinvertebrada estaba relacionada con la concentración de determinados agentes farmacéuticos (principalmente antiinflamatorios).

Aunque estos resultados no permitieron hallar pruebas de relaciones causa-efecto, los experimentos ecotoxicológicos realizados en el laboratorio confirman parcialmente los resultados obtenidos en el trabajo de campo. La combinación de ambos enfoques puede ser determinante para descubrir cuáles son los factores responsables de los cambios en las comunidades biológicas. Los estudios de campo pueden resultar útiles para encontrar la correlación espacial y temporal del factor de estrés y sus efectos en los gradientes, mientras que los experimentos con las comunidades realizados en el laboratorio son necesarios para examinar las hipótesis derivadas de los estudios de campo. La combinación entre el conocimiento de los patrones del estudio de campo y las actividades de laboratorio puede resultar útil para orientar las posteriores actividades de control, así como para identificar los taxones clave y utilizarlos como indicadores ecológicos de factores de estrés específicos (o predominantes) en caso de que haya múltiples factores de estrés. Puede que esta vía también resulte útil para tomar decisiones de gestión de riesgos en el futuro.

### Recomendaciones

Proponemos varias medidas y recomendaciones para mejorar la evaluación y la gestión de las cuencas fluviales:

- Toma de muestras simultánea en el tiempo y el espacio que comprenda parámetros físicos, químicos y biológicos.
- Realización de cribados generales en las cuencas de los ríos a fin de detectar nuevos componentes y determinar su posible toxicidad para la comunidad con vistas a la selección de los componentes que se incluirán en el control rutinario.
- Modelización para realizar estimaciones de los impactos de los distintos factores de estrés en las comunidades biológicas, tanto localmente como a nivel de la cuenca.

### Referencias

- Muñoz, I., López-Doval, J.C., Ricart, M., Villagrasa, M., Brix, R., Geszinger, A., Ginebreda, A., Guasch, H., López de Alda, M., Romani, A.M., Sabater, S., Barceló, D. 2009. Bridging levels of pharmaceuticals in river water with biological community structure in the Llobregat river basin (NE Spain). *Environmental Toxicology and Chemistry* 28 (12):2706-2714.
- Petrovic M, Solé M, López de Alda MJ, Barceló D. 2002. Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments: integration of chemical analysis and biological effects on feral carp. *Environ Toxicol Chem* 21: 2146-2156.
- Ricart, M., Guasch, H., Barceló, D., Brix, R., Conceicao, M.H., Geszinger, A., López de Alda, M., López-Doval, J.C., Muñoz, I., Postigo, C., Romani, A.M., Villagrasa, M., Sabater, S., 2009. Primary and complex stressors in polluted Mediterranean rivers: pesticide effects on biological communities. *Journal of hydrology*, DOI: 10.1016/j.jhydrol.2009.08.014

## **Recomendaciones para el diseño de programas de seguimiento de la calidad del agua basadas en métodos complementarios desarrollados recientemente**

Carafa R.<sup>1</sup>, Real M.<sup>1</sup>, Munné A.<sup>2</sup>, Ginebreda A.<sup>3</sup> y Guasch H.<sup>4</sup>

1. URSCorp, C/ Urgell 143, 4ª planta, 08036 Barcelona, Spain

2. Agència Catalana de l'Aigua, c/ Provença, 204-208, 08036 Barcelona, Spain

3. Department of Environmental Chemistry, ID/EA-CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

4. Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona, Campus Montilivi s/n - Facultat de Ciències, 17071 Girona, Spain

Contacto: [Roberta\\_Carafa@URSCorp.com](mailto:Roberta_Carafa@URSCorp.com)

### **Introducción**

De conformidad con los principios de la Directiva Marco del Agua de la Unión Europea, los aspectos más importantes al evaluar el estado químico de las masas de agua europeas son: la identificación de los principales agentes tóxicos, la cuantificación de la influencia de las condiciones medioambientales sobre la disponibilidad de dichos agentes y el análisis de sus efectos en mezclas de diferentes niveles del ecosistema.

Los organismos regionales con competencias en la materia deben complementar los sistemas habituales de control con herramientas más sostenibles, tanto en lo que respecta al recorte de los costes y del impacto ambiental como al aumento de la fiabilidad y la eficiencia en la identificación de las fuentes de contaminación. Dichas herramientas incipientes de control (como el biocontrol o los biomarcadores, etc.) ofrecen una imagen más completa del estado general del ecosistema, pues permiten relacionar el estado químico con el estado ecológico.

La integración del control de la exposición y de los efectos abrirá la puerta al diseño de programas de control más rentables, además de sentar las bases para elaborar una estrategia de control de la contaminación basada en riesgos.

El presente estudio forma parte del proyecto europeo Keybioeffects, incluido en la red de formación Marie Curie, que pretende mejorar nuestro conocimiento de los problemas relacionados con la preservación de la biodiversidad y la contaminación del agua de los ríos europeos, para luego transmitirlo a los distintos agentes implicados. Actualmente, se encuentra en fase de desarrollo un documento de orientación basado en casos concretos, concebido como herramienta de apoyo para las agencias del agua al evaluar el estado químico y ecológico en relación con los contaminantes prioritarios y emergentes.

### **Herramientas de apoyo a la toma de decisiones y priorización**

La reducción de la frecuencia de muestreo puede justificarse utilizando sensores como herramientas de cribado (por ejemplo, sistemas de detección precoz). El uso del muestreo en los análisis químicos puede subordinarse a la respuesta de un sensor, cuando supera un determinado umbral.

Un buen ejemplo de dicho funcionamiento es el uso de biofilms fluviales o biomarcadores de peces como bioindicadores de alteraciones medioambientales en el ecosistema acuático.



Dichos sistemas continuos en tiempo real proporcionan una evaluación y detección rápida de la variación temporal en la calidad del agua. Estos métodos permiten detectar el desequilibrio biológico y la toxicidad potencial en una fase inicial, además de evaluar la acción conjunta de varios factores de estrés (como factores ambientales y la concentración de agentes tóxicos), lo que da pie a reconocer interacciones y efectos imprevistos.

La identificación de zonas problemáticas, así como también de espacios sin problemas, es posible mediante el uso de técnicas avanzadas de modelización, por ejemplo al agrupar masas de agua para realizar un control.

Los modelos predictivos y de diagnóstico aplicados a los datos de control y de emisión existentes pueden utilizarse para predecir el impacto de los principales contaminantes emergentes en la biodiversidad de los ecosistemas de agua dulce.

Dichos modelos pueden predecir los factores de estrés que han contribuido al deterioro de las comunidades bióticas, así como ofrecer un análisis predictivo de los efectos más probables de agentes tóxicos concretos o combinados sobre la biodiversidad.

En concreto, proponemos una evaluación de los riesgos basada en la distribución de las sensibilidades de las especies (SSD) y varias redes neuronales artificiales (ANN) para analizar grandes conjuntos de datos e identificar patrones de diversidad espacial de toxicidad química.

### **Herramientas de control**

Con respecto a los programas de control de la calidad del agua, es necesario un gran esfuerzo de armonización de los métodos a escala europea, sobre todo en el caso de las cuencas fluviales internacionales. Una completa cobertura espacial y la regularidad en los muestreos son factores cruciales para elaborar un mapa de la evolución de contaminación a lo largo del tiempo y del espacio. De este modo, podrán aplicarse herramientas de modelización y, por consiguiente, identificar mejor los espacios críticos que necesitan más atención para reducir la contaminación.

Los instrumentos de muestreo pasivos ofrecen una evaluación representativa de la calidad del agua en una cuenca fluvial con fluctuaciones rápidas en las concentraciones de contaminantes y permiten integrar la concentración de contaminantes durante todo el periodo de muestreo. Además, resultan útiles para concentrar compuestos que presentan niveles ambientales bajos y pueden emplearse cuando el periodo de muestreo es corto (unas horas) o simplemente para muestreos de agua puntuales. Las técnicas de muestreo, extracción y limpieza son sencillas, al igual que el transporte y el almacenamiento de las muestras.

En la Directiva, la Comisión Europea subraya la importancia de los sedimentos y la biota en el proceso de distribución y bioacumulación de compuestos tóxicos, razón por la que obliga los estados miembros a elaborar un programa de control de la calidad que tenga en cuenta ambos factores.

Se proponen nuevos métodos para la limpieza y la extracción de agentes tóxicos de los sedimentos y los peces.

Parece también importante tener en cuenta la biodisponibilidad y unas concentraciones de agentes tóxicos de exposición en agua fiables: los sistemas de extracción con separación (por ejemplo, SPME) o los modelos de biodisponibilidad pueden ayudar a realizar estimaciones de la separación de los agentes tóxicos en el agua y también de los riesgos tóxicos asociados.

Un uso continuado de dichas técnicas permite determinar las tendencias a largo plazo en las cargas de agentes tóxicos.

**Herramientas de investigación**

En caso de deterioro de la biota, y cuando la causa del deterioro sea desconocida (buen estado químico según las sustancias prioritarias), pueden combinarse los métodos de control con bioensayos in vitro y métodos de fraccionamiento y aislamiento químico. Actualmente, se encuentran en proceso de desarrollo nuevos métodos de muestreo, fraccionamiento y análisis para cribar e identificar contaminantes emergentes desconocidos en una mezcla compleja de muestras ambientales complejas y también para identificar los contaminantes con efectos perjudiciales sobre la biota, como mutagenicidad, carcinogenicidad, alteración endocrina y trastornos en el desarrollo (por ejemplo, Brack, 2003).

Otro recurso para identificar el estrés tóxico cuando la respuesta de los bioensayos es ambigua o poco concluyente son las técnicas del campo de la metabolómica, concebidas para entender y comparar los procesos fisiológicos en condiciones naturales o de estrés.

Se recomiendan herramientas de investigación específicas para solucionar problemas relacionados con la bioacumulación, las vías de degradación y las propiedades de capacidad de enlace y estabilidad de los sedimentos.

**Referencias**

Brack, W., 2003. Effect-directed analysis: a promising tool for the identification of organic toxicants in complex mixtures? *Anal Bioanal Chem* 377:397–407.

## **Contaminantes prioritarios en Francia: aplicación de la Directiva 2008/105/CE**

Rebillard J.P.<sup>1</sup>, Allonier Fernades A.S.<sup>2</sup>, Riou C.<sup>3</sup>, Halkett C.<sup>4</sup> Pelte T.<sup>5</sup>,  
Verlhac A.<sup>6</sup> y Demouliere R.<sup>7</sup>

1. Agence de l'eau Adour-Garonne, France.
2. Agence de l'eau Seine Normandie, France.
3. Agence de l'eau Rhin Meuse, France.
4. Agence de l'eau Artois Picardie, France.
5. Agence de l'eau Rhône Méditerranée et Corse, France.
6. Agence de l'eau Loire Bretagne, France.
7. Ministère de l'écologie, de l'énergie, du développement durable et de la mer, France.

Contacto: jean-pierre.rebillard@eau-adour-garonne.fr

---

En Francia, los organismos encargados del control del estado químico del agua son las agencias del agua.

Con el objeto de evaluar el estado químico de las masas de agua se realiza un control de 41 sustancias prioritarias o prioritarias peligrosas (véase el apéndice X de la Directiva Marco del Agua).

Una directiva europea denominada “de sustancias prioritarias” define las Normas de Calidad Ambiental (NCA) para dichas moléculas (concentración máxima aceptable y concentración media anual).

El objetivo es comparar dichas normas con las medias y máximas observadas.

En 2007 se tomaron muestras de estas 41 sustancias con dos periodicidades distintas:

- Una vez al mes en los ríos.
- Cuatro veces al año en los lagos.

Se han extraído muestras de todas las estaciones de agua de la red de control.

Sin embargo, en total solo disponemos de datos de mediciones correspondientes a una cuarta parte del territorio francés (aproximadamente 2.400 estaciones para unas 9.300 masas de agua).

De conformidad con el decreto de 17 de marzo de 2006, que explica el contenido del plan director SDAGE (herramienta de planificación de la gestión hídrica), en estos 2.400 puntos se ha determinado el estado químico de las masas de agua dulce superficiales. El Ministerio de Medio Ambiente, Energía, Desarrollo Sostenible y el Mar (MEDDM, por sus siglas en francés) decidió limitar el número de masas de agua sin estado químico, por lo cual cada agencia del agua asigna un estado químico utilizando sus propios métodos. Dichos métodos pueden resumirse en dos: I) evaluación de las presiones e impactos, y II) idéntica calidad para la masa de agua principal y sus afluentes.

## **Implantación del buen estado ecológico del agua en España. Aplicación de la directiva 2008/105/CE.**

Puig A.

Dirección General del Agua. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino.  
Plaza San Juan de la Cruz, s/n. 28071-MADRID, España

Contacto: apinfante@mma.es

La aprobación en el año 2000 de la Directiva Marco de Aguas, supuso un hito en el desarrollo de la política de aguas y en particular de su protección frente a sustancias peligrosas. La nueva directiva incorpora las obligaciones previstas en la legislación anterior, añadiendo nuevas exigencias. La estrategia para combatir la contaminación de las aguas por sustancias peligrosas se desarrolla fundamentalmente en el artículo 16. *Estrategias para combatir la contaminación de las aguas*, y debe implantarse conforme a los requisitos previstos en el artículo 10. *Planteamiento combinado respecto de las fuentes puntuales y difusas de la misma*.

El artículo 16 establece que la protección de las aguas frente a las sustancias prioritarias debe desarrollarse atendiendo a dos grandes frentes. Por un lado, se debe actuar sobre las fuentes de emisión, estableciendo medidas encaminadas bien a reducir, bien a eliminar el vertido de estas las sustancias en el medio acuático. Por el otro lado, es preciso actuar en el medio receptor, de modo que siempre se cumpla la norma de calidad ambiental. Esta norma es un umbral de concentración en el medio por debajo del cual la presencia de una sustancia no genera efectos negativos para el medio acuático.

Los principales cometidos sobre los que se que se desarrolla la estrategia son tres. Inicialmente deben seleccionarse las sustancias relevantes, es decir, las sustancias peligrosas cuya presencia supone un riesgo para el medioambiente o, a través de él, para la salud humana. Seguidamente deberán implantarse las medidas de reducción de la contaminación para cada sustancia seleccionada y, finalmente, calcularse la norma de calidad ambiental en el medio acuático.

El desarrollo de la estrategia prevista en el artículo 16 se concreta en la aprobación de dos actos legislativos derivados. El primero es la Decisión N° 2455/2001/CE de 20 de noviembre de 2001 por la que se aprueba la lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas, y que constituye el Anexo X de la Directiva Marco del Agua. A continuación, y tras varios años de intensa negociación, la Directiva 2008/105/CE de 16 de diciembre de 2008 relativa a las normas de calidad ambiental (en adelante NCA) en el ámbito de la política de aguas, por la que se modifican y derogan las Directivas 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE y 86/280/CEE del Consejo.

Esta última Directiva fija una NCA para cada sustancia en aguas continentales, costeras y de transición. Además existe una NCA en biota para el mercurio, hexaclorobenceno y hexaclorobutadieno. La NCA se expresa como media anual y concentración máxima admisible. En compuestos orgánicos, los valores de NCA oscilan desde 0,2 ng/L para el tributilestano ó 0,5 ng/L en difeniléteres bromados hasta 2,5 µg/L para el triclorometano. En metales los valores son de 0,05 µg/L para el mercurio a 20 µg/L para el níquel. Se deja a juicio de los Estado Miembros la definición de NCAs en sedimento y biota para determinadas categorías de masas de aguas. Los valores aprobados en estas matrices deberán tener el mismo grado

de protección que los definidos para aguas. Esta posibilidad es importante para sustancias fuertemente hidrófugas como son los cloroalcanos o los pentabromodifeniléteres. También es interesante para el control de aguas costeras, donde las matrices que suelen capturarse para medir los efectos de contaminación son los mejillones o el sedimento.

Paralelamente, la directiva obliga a vigilar la tendencia en el contenido de los contaminantes en sedimento o biota. En concreto, se deben controlar las sustancias que tienden a acumularse en estas matrices, como son los metales, los hidrocarburos aromáticos policíclicos o las sustancias organocloradas. En este caso se trata de vigilar que la concentración de estas sustancias no aumente con el tiempo.

Es importante señalar que la Comisión está trabajando en la modificación de la relación de sustancias prioritarias con la intención de añadir más. Por el momento está manejando una lista tentativa de 42 sustancias obtenidas tras un nuevo proceso de priorización, entre las que se encuentran los contaminantes incluidos en Anexo III de la Directiva de NCAs, tanto los históricos como PCBs o Dioxinas u otros menos habituales en las redes de control, como EDTA, PFOs, Glifosato, AMPA, Bisfenol A. Se han añadido algunos nuevos, y en algunos casos emergentes como Trichlorfon, Dichlorvos, Ibuprofeno, Irgarol o Carbamazepin entre otros.

Los controles analíticos deberán cumplir los requisitos previstos en la Directiva 2009/90/CE de la Comisión de 31 de julio de 2009 que establece las especificaciones técnicas del análisis químico y del seguimiento del estado de las aguas, sedimentos y seres vivos, así como normas dirigidas a demostrar la calidad de los resultados analíticos.

Todo este marco legislativo complejo y extenso, señala las directrices sobre las que se está desarrollando la estrategia sobre sustancias prioritarias en España. Además, se aplican los mismos principios para proteger a las aguas frente a otro tipo de sustancias, es decir, sobre sustancias preferentes priorizados a nivel estatal y contaminantes relevantes de cada Demarcación Hidrográfica. Así, si por ejemplo existe buen estado químico de las aguas superficiales cuando se cumplen las NCA de la Directiva 2008/105/CE. Análogamente, existe buen estado ecológico –en relación a los contaminantes- si se cumplen las NCA de las sustancias preferentes establecidas en el Real Decreto 995/2000 de 2 de junio para aguas continentales y en las Secciones B y C del Anexo I, y Anexo II del Real Decreto 258/1989, de 10 de marzo, sobre vertidos de sustancias peligrosas desde tierra al mar. Así mismo, para otros contaminantes hay que cumplir con las NCA calculadas con arreglo a las disposiciones del Anexo V de la Directiva Marco del Agua y aprobadas en cada Plan Hidrológico.

Desde el Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, la Dirección General del Agua conjuntamente con la Dirección General de Sostenibilidad de la Costa y el Mar están trabajando en la elaboración del texto de transposición de la Directiva. Así mismo tiene previsto estudiar la posibilidad de fijar NCAs de referencia en sedimento y biota.

## **Métodos de análisis de contaminantes emergentes y prioritarios: problemas en el establecimiento de estándares de calidad**

Caixach J.

Mass Spectrometry Laboratory & Organic Pollutants in Aquatic Environment.  
Institute of Environment Assessment & Water Research .  
IDAEA- CSIC

Contacto: Josep.Caixach@cid.csic.es

La Directiva Marco del Agua (DMA) (2000/60/CE) regula la contaminación química de las masas de agua europeas a través de la Decisión 2455/2001/CE, por la que se aprueba la lista de sustancias prioritarias y el establecimiento de Normas de Calidad Ambiental a escala europea a través de la Directiva de desarrollo 2008/105/CE. En lo relativo a los contaminantes específicos de las cuencas fluviales, la DMA obliga a identificar los contaminantes relevantes a escalas espaciales más reducidas, así como a adaptar los valores límite adecuados en el ámbito estatal. La Directiva de Aguas Subterráneas (2006/118/CE) garantiza la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro. Para ello, los estados miembros deben crear programas de control de la calidad del agua que incluyan una amplia selección de contaminantes para identificar los posibles riesgos, los temas prioritarios y los aspectos sobre los que hay que actuar.

La Directiva de desarrollo de la DMA 2008/105/CE, relativa a las Normas de Calidad Ambiental en las políticas hídricas, regula la contaminación por sustancias químicas en las aguas europeas. En un borrador de Directiva de la Comisión relativa al control analítico de la calidad se proponen indicadores de efectividad.

El centro de investigación JRC IES ha ido acompañando la elaboración de la próxima Directiva de desarrollo de la DMA COM(2006)398, relativa a las Normas de Calidad Ambiental, primero desde la presidencia del grupo de trabajo de Análisis y Control de Sustancias Prioritarias (2003-2004), luego desde la copresidencia de la elaboración del borrador del Documento guía sobre aguas superficiales en el marco de la Actividad de Control Químico (2005-2006) y, actualmente, desde la copresidencia de la Actividad de Control Químico para el periodo 2007-2009.

Uno de los principales objetivos de la actividad de control químico es evaluar los métodos disponibles para comprobar el cumplimiento de la DMA. Es importante que todas las metodologías satisfagan los requisitos de control químico establecidos en la DMA, por ejemplo a la hora de proporcionar datos de concentración con una calidad suficiente para evaluar si se cumple la Directiva. Una buena orientación sobre las disposiciones generales de control de la DMA es el Documento guía n.º 7 “Control de conformidad con la Directiva Marco del Agua”, mientras que para cuestiones relacionadas con la regulación de las aguas subterráneas se aplica el Documento Guía n.º 15 de la Estrategia Común de Implementación de la DMA, “Seguimiento de las aguas subterráneas”, así como al Documento Guía n.º 19 de la estrategia citada, “Control químico de las aguas superficiales”.

En el borrador de Directiva de la Comisión, por la que se adoptan especificaciones técnicas para el control químico y la calidad de los resultados analíticos de conformidad con la Directiva 2000/60/CE, del Parlamento Europeo y el Consejo, se formula una propuesta de

indicadores de efectividad de las mediciones analíticas de los métodos de control químico. En dicho borrador se establece que, para cumplir con la DMA, el límite de cuantificación debe ser  $\leq 30\%$  al estipulado en las Normas de Calidad Ambiental (Directiva 2009/90/CE).

En general, las metodologías que se utilizan para analizar los contaminantes orgánicos presentes en el agua están consolidadas y se basan en GC/MS (o en GC/HRMS) y en LC-MS (o en LC-MS/MS). Sin embargo, los valores de algunas de las Normas de Calidad Ambiental propuestas son muy bajos (por ejemplo, el del endosulfán [ $\Sigma$ : 5-0,5 ng/l], el de PBDE [ $\Sigma$ : 0,5-0,2 ng/l] y el de algunos HAP [ $\Sigma$ : 2 ng/l]). Los límites de cuantificación de estos valores deben situarse en niveles de ng/l (ppt) o inferiores.

Para detectar las concentraciones reducidas de contaminantes incluidas en los ejercicios interlaboratorios en el marco del Análisis del Control Químico es necesario utilizar un tipo de instrumental sofisticado (GC-HRMS, GC-MS/MS o LC-MS/MS) que actualmente se encuentra fuera del alcance de los laboratorios convencionales.

Por otra parte, para analizar los contaminantes orgánicos denominados “emergentes” (por ejemplo, los PFOS, los fármacos, los productos farmacéuticos, la NDMA, etc.) también se necesita un tipo de instrumental sofisticado (MS/MS y HRMS). En suma, pues, los métodos no se han comprobado por completo, no existen materiales de referencia y hay pocos ejercicios interlaboratorios disponibles, por lo que, a día de hoy, resulta imposible realizar comparaciones rigurosas.

En este contexto, es imprescindible desarrollar metodologías fiables y sólidas que cumplan los estándares de QA/QC.

#### Referencias

Comparison of Monitoring Approaches for Selected Priority Pollutants in Surface Water, CMA on-site 2 ; G Hanke et al ; JRC-IES, 2009.

Focal Point: Emerging Contaminants and Water Analysis (W.Giger) , *Anal Chem* 2008.

Environmental Mass Spectrometry: Emerging Contaminants and Current Issues. S. Richardson; *ES&T*, 40 (33) , 2008.

## Seguimiento de sustancias prioritarias y relacionadas en los ríos catalanes, en el marco de aplicación de la WFD: presentación de resultados y evaluación de riesgos

Ginebreda A.<sup>1</sup>, Munné A.<sup>2</sup>, Carafa R.<sup>3</sup> y Tirapu LL.<sup>2</sup>

1. Department of Environmental Chemistry, ID/EA-CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

2. Agència Catalana de l'Aigua, c/ Provença, 204-208, 08036 Barcelona, Spain

3. URSCorp, C/ Urgell 143, 4ª planta, 08036 Barcelona, Spain

Contacto: agmqam@cid.csic.es or anmunne@gencat.cat

### Resumen

Los datos recabados en las campañas de control de sustancias prioritarias, sustancias prioritarias peligrosas y otras sustancias relacionadas en los ríos catalanes, organizadas por la Agencia Catalana del Agua entre los años 2008 y 2009 en el contexto de la Directiva Marco del Agua, pueden presentarse e interpretarse con una doble perspectiva:

#### a) Componente normativo

Los resultados del estudio de las sustancias prioritarias y las sustancias prioritarias peligrosas se han evaluado según los criterios de la Directiva 2008/105/CE. En el caso de los compuestos fuera del alcance de dicha normativa, se han analizado, siempre que ha sido posible, de conformidad con otras legislaciones locales aplicables, como el RD 995/2000 y el RD 140/2003.

Además, se han revisado los datos disponibles sobre inventarios de emisiones, obtenidos en aplicación de la normativa E-PRTR en plantas de tratamiento de aguas residuales de más de 100.000 hab/eq. Asimismo, los datos se han relacionado de forma tentativa con los valores de los ríos.

#### b) Evaluación de riesgos

Se ha planteado una posible evaluación de los riesgos ecotoxicológicos utilizando técnicas avanzadas de modelización secuencial con un subconjunto del conjunto íntegro de controles de calidad químicos (232 puntos de muestreo y 60 contaminantes).

Los datos sobre la concentración de contaminantes en el agua se trataron previamente para calcular la fracción biodisponible, en función de las propiedades de la sustancia y las condiciones ambientales locales. Los valores recabados se utilizaron para predecir el impacto potencial de las sustancias tóxicas sobre la biota acuática en mezclas complejas y también para identificar puntos problemáticos. Se utilizó la evaluación de la exposición con la distribución de sensibilidades de las especies (SSD) y las normas de toxicidad de la mezcla para determinar la fracción afectada potencialmente por distintas sustancias (msPAF).

Para entender y visualizar la distribución espacial del riesgo tóxico, se han probado distintas técnicas de representación, como los mapas autoorganizados (SOM), derivados de las redes neuronales artificiales, el análisis de conglomerados y el análisis de componentes principales (ACP).

En este proceso, se han identificado los puntos problemáticos y los patrones de contaminación, una información que será de gran utilidad a los gestores de recursos hídricos al evaluar los riesgos químicos de las cuencas fluviales.



## Control de sustancias peligrosas en la cuenca del Ebro

Cortés S.

 Área de Calidad de Aguas  
 Confederación Hidrográfica del Ebro, Spain

Contacto: scortes@chebro.es

La Directiva Marco de Aguas 2000/60/CE (DMA) y las directivas contempladas en su anexo IX, así como la Directiva 2006/11/CE (versión codificada de la Directiva 76/464/CEE) obligan a los Estados Miembros a establecer estaciones de vigilancia para el control de la contaminación causada en el medio acuático (agua, sedimentos y biota) por sustancias peligrosas aguas abajo de sus puntos de emisión.

Dado que las sustancias denominadas peligrosas pueden ser de origen industrial (puntual) y/o agrícola (difuso) no es posible aplicar los mismos criterios en el diseño de la red de vigilancia para todas las sustancias, sino que se debe diferenciar a los plaguicidas del resto. Por ello, la Confederación Hidrográfica del Ebro ha definido dos redes con distintos puntos de control, frecuencia de muestreo, parámetros de medida y matrices de análisis:

- Red de Control de Plaguicidas (RCP) destinada a controlar la contaminación de origen agrícola/difuso
- Red de Control de Sustancias Peligrosas (RCSP) para el control de la contaminación de origen fundamentalmente industrial/puntual.

El objetivo de la Red de Control de Plaguicidas es vigilar la contaminación causada por los plaguicidas de Lista I, Lista II Preferentes y Lista de Sustancias Prioritarias, aguas abajo de zonas principalmente agrícolas, y en particular comprobar el cumplimiento de las Normas de Calidad (NCAs) establecidas en la legislación vigente..

La Red de Control de Sustancias Peligrosas está implantada en la Confederación Hidrográfica del Ebro (CHE) desde el año 1992. El objetivo de esta red es controlar la concentración de las sustancias peligrosas (Sustancias Prioritarias, sustancias de Lista I y sustancias de Lista II Preferentes) aguas abajo de los principales focos de emisión. El control exige la toma de muestras de agua, de sedimentos y de peces. En agua se han fijado Normas de Calidad Ambiental (Directiva 2008/105/CEE y Real Decreto 995/2000), y en sedimentos y peces el objetivo es que las concentraciones en estas matrices no aumenten significativamente con el tiempo (principio básico de mejora continua o standstill).

En la tabla 1 se indica el número de estaciones que integran actualmente estas redes de control, así como las matrices analizadas y la frecuencia de muestreo.

**Tabla 1:** Características de la RCSP y de la RCP.

	Nº Estaciones	Matrices analizadas	Frecuencia de muestreo
XCSP	18	Agua	12/año
		Sedimentos	1/año
		Peces	1/año
XCP	22	Agua	5/año

En la Red de Plaguicidas se controlan 37 sustancias distintas y en la Red de Peligrosas un total de 47 contaminantes.

Los resultados obtenidos en la Red de Control de Sustancias Peligrosas en la campaña del 2008 indican que los puntos que presentan una mayor contaminación de origen industrial son las estaciones de Gállego en Jabarrella, Ebro en Ascó, Cinca en Monzón, Zadorra en Vitoria-Trespuentes, Ebro en Tortosa y Huerva en Zaragoza-Fuente de la Junquera.

Los contaminantes que se han encontrado en concentraciones importantes en algunos de los análisis realizados en el año 2008 en cada una de las matrices analizadas en la Red de Peligrosas son los siguientes:

- **Agua:** selenio, níquel, mercurio y diclorometano.
- **Sedimento:** níquel, cromo, zinc, cadmio, DDT`s, benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(g,h,i)perileno y benzo(k)fluoranteno.
- **Peces:** DDT`s, zinc, hexaclorobenceno y mercurio.

En los análisis realizados en el año 2008 en la Red de Control de Plaguicidas se ha visto que de los 37 plaguicidas analizados sólo nueve (atrazina, desetilatrazina, clorpirifos, isoproturón, metolacloro, molinato, simazina, terbutilazina y 3,4-dicloroanilina) han superado alguna vez los 0.1 µg/L. Además, en el año 2008 sólo la terbutilazina y la 3,4-dicloroanilina han presentado una concentración superior a 1 µg/L.

Las estaciones que presentan un mayor nivel de plaguicidas son las de Flumen en Sariñena, Alcanadre en Ontiñena, Arba de Luesia en Tauste y Clamor Amarga en Zaidín.

## Relación entre las variaciones espaciotemporales en la contaminación por diurón y la tolerancia inducida en biofilms en ríos

Pesce S., Margoum C. y Montuelle B.

Cemagref, UR MAEP, 3 bis quai Chauveau, CP220, 69336 Lyon Cedex 09, France

Contacto: [bernard.montuelle@cemagref.fr](mailto:bernard.montuelle@cemagref.fr)

---

Los biofilms presentan un gran potencial como indicadores precoces de situaciones de riesgo en el control de los ríos. Al evaluar los efectos de los agentes tóxicos en las comunidades microbianas naturales, resulta especialmente importante realizar una distinción entre dichos efectos y aquellos derivados de otros parámetros ambientales. Los enfoques basados en la tolerancia inducida por la contaminación en comunidades (PICT) ofrecen la posibilidad de aislar parcialmente los efectos de agentes tóxicos individuales de un ecosistema complejo estudiando los cambios en la sensibilidad de las comunidades. Para comprobar la validez de la metodología PICT en la evaluación de riesgos, el propósito del estudio fue analizar si los niveles de tolerancia al diurón inducida en comunidades de biofilm fotoautótrofas eran proporcionales a su nivel previo de exposición *in situ* a este herbicida. El proyecto llevó a cabo un estudio de campo durante 9 meses en dos puntos de un mismo río afectado por una contaminación crónica de diurón. El estudio realizó estimaciones mensuales, a partir de bioensayos por fotosíntesis de corto alcance, de las variaciones espaciotemporales de la capacidad de tolerancia al diurón en las comunidades fotoautótrofas. Aunque observamos una posible influencia de tres variables ambientales covariantes (nitratos, conductividad y temperatura) en los procesos inducidos de tolerancia al diurón, los análisis estadísticos demostraron sin lugar a dudas que el principal factor que explica la variación en la sensibilidad al diurón era el nivel de exposición al diurón durante los periodos de colonización de los biofilms. En este sentido, se constató una correlación exponencial importante entre los valores de EC50 y las concentraciones de diurón *in situ*, lo que confirmaría que el método PICT puede revelarse como una herramienta importante para controlar la situación de los ríos, actuando como complemento de otros métodos actuales basados en bioindicadores.

## Las respuestas de los biomarcadores múltiples de macroinvertebrados bentónicos como herramienta de diagnosis del estado ecológico de los ríos contaminados

Damasio J.<sup>1,2</sup>, Puértolas L.<sup>3</sup>, Prat N.<sup>3</sup>, Rieradevall M.<sup>3</sup>, Soares A.M.V.M.<sup>2</sup> i Barata C.<sup>1</sup>

1. Department de Química Ambiental, (IDAEA-CSIC). Jordi Girona, 18-26, 08034, Barcelona (Espanya)

2. CESAM & Departamento de Biología, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal

3. Department d 'Ecologia (UB), Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona, (Espanya)

Contacto: cbmqam@cid.csic.es

Los índices biológicos de las especies de macroinvertebrados bentónicos se emplean actualmente en todo el mundo para medir la calidad de las aguas fluviales a partir de criterios ecológicos. Dichos índices determinan el estado ecológico global de la comunidad biótica, pero no detectan los efectos específicos de los contaminantes del agua en concentraciones relevantes desde un punto de vista ambiental. En este estudio, presentamos los datos experimentales sobre las respuestas bioquímicas de especímenes transplantados y otros recogidos en el campo de dos taxones (*Echinogammarus sp.* e *Hydropsyche exocellata*) en localidades con distintos niveles de contaminación. El estudio se desarrolló en las cuencas fluviales de los ríos Llobregat, Besòs y Ebro. Para evaluar los efectos de un amplio abanico de fuentes de contaminación, como glisofatos, productos farmacéuticos, compuestos organoclorados y mercurio, se utilizó un enfoque basado en biomarcadores múltiples, que implicó el uso de hasta diez marcadores distintos. Las respuestas biológicas oscilaron desde la biotransformación hasta las enzimas antioxidantes y los marcadores de daños en tejidos. Los resultados recabados permitieron constatar: (1) una buena repetibilidad de las respuestas de los marcadores en diferentes localidades a lo largo del tiempo, (2) una actividad superior de biotransformación y de las enzimas antioxidantes en las localidades contaminadas y en las especies tolerantes, (3) respuestas más elevadas de los organismos recogidos en el campo en comparación con los especímenes transplantados y (4) la viabilidad de los biomarcadores para diferenciar y, por consiguiente, identificar las principales fuentes de contaminación que afectan la biota fluvial. Además, como sucede con los índices biológicos, las respuestas de los biomarcadores registradas en poblaciones situadas en localidades de referencia y localidades contaminadas permitieron también discriminar distintos grados de contaminación. Así, pues, los resultados ponen de manifiesto que las respuestas de los biomarcadores múltiples de las especies bentónicas de macroinvertebrados aportan más información útil y complementaria que las respuestas obtenidas con índices bióticos y que, además, son necesarias para caracterizar el estado ecológico de los ecosistemas fluviales mediterráneos. Esta constatación resulta especialmente interesante en localidades con una contaminación moderada, donde los factores de estrés afectan ya las comunidades, aunque no con una intensidad suficiente que permita su detección con índices bióticos. En resumen, las respuestas de los biomarcadores múltiples actúan como señales de advertencia que nos indican que, si no se producen cambios en la tendencia actual de aumento de los contaminantes, el estado ecológico de las localidades con una contaminación moderada puede empeorar en un futuro. Este estudio fue financiado por los proyectos españoles CGL2008-01898 y CGL2007-64551/HID y por el programa ECOSTRIMED de la Diputación de Barcelona (www.ecostrimed.net).

## **Patrones estructurales de las comunidades de diatomeas en ríos sometidos a una contaminación por metales pesados de diferentes países y consecuencias para el biocontrol**

Morin S.<sup>1</sup>, Cordonier A.<sup>2</sup>, Duong T.T.<sup>3</sup>, Lavoie I.<sup>4</sup>, Tornés E.<sup>5</sup>, Bonet B.<sup>6</sup>, Corcoll N.<sup>6</sup>, Faggiano, L.<sup>6</sup>, Guasch H.<sup>6</sup>, Sabater S.<sup>5,6</sup> y Coste M.<sup>1</sup>

1. Cemagref, UR REBX, France
2. Service de l'écologie de l'eau, Switzerland
3. Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam
4. INRS CETE, Canada
5. ICRA, Spain
6. Universitat de Girona, Spain

Contacto: Soizic.Morin@cemagref.fr

---

A partir de estudios de campo desarrollados en distintos países (Francia, España, Suiza, Canadá y Vietnam), se creó una gran base de datos de diatomeas de río (con más de 450 taxones) correspondientes a ríos expuestos a diferentes cargas de metales pesados en sus aguas. Tras armonizar la taxonomía, se analizaron los patrones de la estructura de las diatomeas a partir de 163 muestras, todas ellas recogidas en sustratos duros.

La biotipología (esto es, la estructuración de los conjuntos de datos de diatomeas) pone de manifiesto que los factores que influyen en las especies son dos: el contexto hidroecorregional y las cargas de los metales. El proyecto estudia los parámetros ambientales más importantes estructuralmente y emplea los análisis diferenciales para determinar la relevancia de algunas especies concretas (como, por ejemplo, la *Eolimna minima* o la *Achnantheidium minutissimum*), así como las formas teratológicas para el control de la contaminación por metales pesados.

## Gradientes de pesticidas en los ríos: estudio de campo basado en peces

Shinn C., Grenouillet G. y Lek S.

Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, CNRS/Univ. Paul Sabatier, Toulouse, France

Contacto: candida.shinn@gmail.com

---

Para el año 2015, las aguas superficiales de todos los estados miembros de la Unión Europea deben presentar un estado químico y ecológico bueno o muy bueno, según estipula la actual Directiva Marco del Agua. Por consiguiente, el alcance actual de la contaminación de los entornos acuáticos causada por actividades antropogénicas exige una evaluación activa del impacto en los organismos expuestos.

Con el objetivo de comprobar si los distintos niveles de pesticidas (básicamente herbicidas) presentes en los ríos del suroeste de Francia afectan a las poblaciones de peces, nos propusimos analizar su estado de salud y sus rasgos. La clasificación de los puntos de muestreo según las concentraciones de pesticidas se basa en los datos de los estudios anuales realizados por la agencia del agua local. Dicho procedimiento da como resultado distintas clasificaciones de las localidades muestreadas en función de los diversos índices de toxicidad empleados, como por ejemplo, msPAF total (fracción [de las especies] afectadas potencialmente por varias sustancias), el índice msPAF por modo de acción tóxico y las unidades tóxicas (TU).

Tras la elección *a priori* de las localidades, durante los meses de otoño de 2008 y mediante pesca eléctrica, se recogieron ejemplares de leuciscos cabezudos (*Leuciscus cephalus*) y gobios (*Gobio gobio*). El objetivo era comprobar si los peces de localidades contaminadas, comparados con los de zonas más limpias, presentaban: un estado nutricional más bajo (factor de condición), indicios de deterioro de la salud (índices organosomáticos), limitaciones de crecimiento, síntomas de estrés químico tóxico (cambios morfométricos y asimetría fluctuante) y concentraciones más elevadas de pesticidas en el organismo.

Los leuciscos cabezudos de los espacios más contaminados (con niveles del índice msPAF y TU más elevados) presentaban unos índices gonadosomáticos más altos y unos factores de condición más bajos, mientras el índice hepatosomático no mostraba una tendencia específica a lo largo de dicho gradiente. En los leuciscos cabezudos de los ríos más contaminados se detectaron unos niveles más altos de pesticidas y numerosos cambios histológicos hepáticos. Los gobios de las localidades más contaminadas presentaban una concentración más baja de parásitos externos, así como una altura significativamente superior y unos ojos y una aleta dorsal significativamente más pequeños. Dichos resultados deben terminar aún de desarrollarse y corregirse teniendo en cuenta la diversidad genética de las poblaciones de gobios.

Los resultados y las conclusiones de nuestro estudio formarán parte de un proceso general de toma de decisiones relacionadas con la gestión de los recursos hídricos.

## Análisis de efecto directo (EDA) de una cadena alimentaria bentónica por cribado de genotoxicidad

Simon E.<sup>1</sup>, Lamoree M.<sup>1</sup>, Leonards P.<sup>1</sup>, Hamers T.<sup>1</sup>, Reifferscheid G.<sup>2</sup>, Spira D.<sup>2</sup>, Rudoll R.<sup>2</sup>  
y de Boer J.<sup>1</sup>

1. Institute for Environmental Studies (IVM), Vrije Universiteit (VU), De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands

2. Federal Institute of Hydrology (BfG), Am Mainzer Tor 1, D-56068 Koblenz, Germany

Contacto: eszter.simon@ivm.vu.nl

---

Según revelan numerosos estudios, las aguas superficiales europeas presentan contaminación por compuestos químicos mutágenos de acción directa e indirecta (Vahl *et al.* 1997, Keiter *et al.* 2006, Barceló *et al.* 2007, Higley *et al.* 2009, etc.). Para identificar de una forma eficaz dichos mutágenos y evaluar su presencia en nuestros sistemas de agua dulce, el EDA (Effect Directed Analysis) constituye una herramienta de control de gran interés en el contexto de los programas de control de calidad de la Directiva Marco del Agua.

El EDA se utilizó para detectar la actividad genotóxica en muestras bióticas y abióticas pertenecientes a una cadena alimentaria bentónica de un medio acuático.

Las muestras, extraídas de la zona del delta del Scheldt occidental (Holanda), se sometieron a ensayos de genotoxicidad. Las pruebas abarcaron desde los sedimentos, las partículas en suspensión (SPM), lombrices, gambas, berberechos y solletas. Las muestras abióticas (sedimentos, SPM) y el conjunto homogeneizado de las muestras bióticas se extrajeron y limpiaron utilizando una combinación de diálisis, cromatografía de permeación por gel (GPC) y cromatografía líquida de alta precisión de fase normal (NP-HPLC). Este método, dividido en varias etapas de tratamiento de las muestras para eliminar los lípidos y demás interferencias, ya se había desarrollado y validado con anterioridad. Los extractos se sometieron a la prueba de fluctuación AMES, para detectar mutaciones puntuales, así como al ensayo de Comet, para hallar daños en el ADN inducidos por los compuestos químicos de los extractos.

El primer cribado de genotoxicidad de los extractos reveló una elevada citotoxicidad en los bioensayos, pese al complejo procedimiento de tratamiento de las muestras. Para evitar el posible efecto de enmascaramiento de citotoxicidad sobre los indicadores genotóxicos, las muestras se fraccionaron todavía más mediante una columna de sílice para eliminar sus constituyentes citotóxicos y para facilitar así el cribado de la genotoxicidad. Gracias al nuevo fraccionamiento se pusieron de manifiesto efectos genotóxicos débiles en algunas fracciones de las muestras, una reacción previsible habida cuenta de la elevada reactividad de las sustancias genotóxicas en general.

**Palabras clave:** cadena alimentaria, Effect Directed Analysis (EDA), genotoxicitat, bioassajos suborganismics

## **Análisis de efecto directo (EDA) en sedimentos de un río europeo para identificar los compuestos alteradores de andrógenos**

Weiss J.<sup>1</sup>, Hamers T.<sup>1</sup>, van der Linden S.<sup>2</sup>, Leonards P.<sup>1</sup> y Lamoree M.<sup>1</sup>

1. Institute for Environmental Studies (IVM), Faculty of Earth and Life Sciences, VU University, De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands
2. BioDetection Systems B.V., Kruislaan 406, 1098 SM Amsterdam, The Netherlands

Contacto: marja.lamoree@ivm.vu.nl

En la mayoría de zonas sometidas a la influencia de la actividad antropogénica, las muestras pueden contener una mezcla compleja de sustancias con potencial para mostrar efectos toxicológicos en los organismos, como por ejemplo efectos endocrinos. Los estudios basados en el análisis EDA (Effect Directed Analysis) utilizan técnicas de fraccionamiento capaces de identificar las fracciones que contienen compuestos tóxicos para, a continuación, realizar la caracterización tóxica de la muestra. El estudio que presentamos se centra en una muestra seleccionada tras realizar un cribado de toxicidad de diferentes sedimentos fluviales en el marco del proyecto Modelkey de la UE (SSPI-CT-2003-511237-2).

La muestra activa seleccionada tiene su origen en el río Schijn, afluente del Scheldt (Bélgica). El bioensayo utilizado para realizar el análisis es el ensayo de detección de andrógenos AR-CALUX® (Chemically Activated Luciferase gene eXpression), que permite buscar tanto respuestas agonistas como antagonistas.

El objetivo del estudio de EDA es identificar los compuestos alteradores de andrógenos responsables de las respuestas detectadas en el bioensayo. El proceso consta de varios pasos: bioensayos del extracto completo, primera fracción (LC de fase inversa) y segunda fracción (LC de fase normal), análisis químico, identificación de los compuestos, confirmación analítica y, por último, confirmación de toxicidad. En este contexto, se expone la aplicación de estrategias de limpieza y fraccionamiento, el uso de diferentes técnicas de identificación química analítica, así como las posibilidades de interpretación de los efectos agonistas y antagonistas en los EDA. Una de las conclusiones obtenidas fue que el cribado del extracto completo no basta para revelar los efectos androgénicos, como consecuencia de la supresión del efecto agonista por la presencia de compuestos antagonistas.



## **Identificación de los compuestos alteradores de andrógenos en sedimentos fluviales sometidos a análisis de efecto directo (EDA) con LTQ-Orbitrap**

Weiss J.<sup>1</sup>, Leonards P.<sup>1</sup>, Stroomberg G.<sup>2</sup>, de Boer R.<sup>2</sup> y Lamoree M.<sup>1</sup>

1. Institute for Environmental Studies (IVM), Faculty of Earth and Life Sciences, VU University, De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands
2. Rijkswaterstaat, Waterdienst, Zuiderwagenplein 2, 8224 AD Lelystad, The Netherlands

Contacto: marja.lamoree@ivm.vu.nl

En las últimas décadas se ha prestado mucha atención a la presencia de compuestos alteradores endocrinos en el medio ambiente. Dichos compuestos van desde las hormonas naturales y sintéticas hasta los compuestos químicos industriales. En zonas sometidas al influjo de la actividad antropogénica, las muestras pueden presentar una mezcla compleja de estos compuestos. Los estudios con EDA (Effect Directed Analysis) aplican técnicas de fraccionamiento basadas en bioensayos para identificar las fracciones que contienen compuestos activos y, de este modo, reducir la complejidad de la matriz de la muestra antes de proceder al análisis químico de la fracción. La identificación de los agentes tóxicos clave y la confirmación definitiva de su toxicidad e identidad son piezas clave para que los estudios con EDA lleguen a buen puerto.

En este estudio, se realizó un EDA en una muestra de sedimentos del río Schijn (Bélgica), cuya actividad antropogénica se determinó a través del bioensayo AR-CALUX®. El cometido era identificar los compuestos androgénicos, tanto agonistas como antagonistas, responsables de los efectos sobre las fracciones activas del EDA. El análisis químico se realizó en un espectrómetro de masa LTQ-Orbitrap. En cuanto al cribado de las fracciones activas y no activas, se utilizó software de libre difusión, que permitió diferenciar los picos de interés. Los criterios aplicados fueron: (1) relación de  $> 100$  entre la intensidad máxima en las fracciones no activas y activas, (2) presencia obligatoria de las fórmulas químicas sugeridas extraídas de la masa concreta en la base de datos espectral NIST y (3) un número CAS para poder adquirir los compuestos y utilizarlos para efectuar los estudios de confirmación.

Alrededor de una cuarta parte de los picos discriminados se identificaron tentativamente (por ejemplo esteroides anabólicos, antidepresivos, fragancias de almizcle y agentes aromatizantes). Los resultados indican que la aplicación de un instrumento de masa de precisión puede ser de gran utilidad para identificar los compuestos desconocidos de un complejo.

## **Biodegradación de compuestos farmacéuticos en el tratamiento de aguas residuales y evaluación de la proteómica para dilucidar las vías metabólicas**

Collado N.<sup>1</sup>, Osuna B.<sup>1</sup>, Comas J.<sup>1</sup>, Rodríguez-Roda I.<sup>2</sup> y Sipma J.<sup>1</sup>

1. Laboratory of Chemical and Environmental Engineering, University of Girona, Science and Technologic Park, Ed. Jaume Casademont, c/Pic de Peguera 15, E17003, Girona, Spain
2. ICRA (Catalan Institute for Water Research), Scientific and Technological Park of the University of Girona, H2O Building, Emili Grahit 101, 17003 Girona, Spain

Contacto: u1055969@correu.udg.edu

En los últimos tiempos ha aumentado la preocupación en torno a la presencia de compuestos farmacéuticos en las aguas residuales domésticas, lo que, combinado con los riesgos potenciales derivados de su posible transferencia al medio ambiente, pone de manifiesto la urgente necesidad de conocer su destino en el proceso de tratamiento de las aguas residuales. Gracias a la mejora de las herramientas analíticas se ha detectado un amplio abanico de compuestos farmacéuticos en aguas residuales domésticas sin tratar, así como en los ecosistemas receptores. Aunque es mucha la incertidumbre que rodea los efectos potenciales de dichos compuestos en los ecosistemas acuáticos, el principio de precaución conducirá, en un futuro, a la probable aprobación de legislaciones más estrictas en materia de tratamiento de aguas residuales.

Numerosos estudios han revelado unas eficiencias de eliminación con grandes fluctuaciones en un amplio abanico de compuestos farmacéuticos, fenómeno que a menudo se ha vinculado a la biodegradación. Sin embargo, hasta la fecha sólo se han dilucidado los mecanismos de eliminación de unos pocos compuestos, y en ocasiones en experimentos de laboratorio y en compuestos con elevadas concentraciones relativas. El estudio de los mecanismos de biodegradación de los compuestos farmacéuticos en concentraciones ambientalmente significativas plantea importantes dificultades en lo tocante a su análisis. Para conocer el destino de los compuestos farmacéuticos en las plantas de tratamiento de aguas residuales debemos conocer mejor los mecanismos de biodegradación y las limitaciones de las tasas de conversión en las vías de biodegradación, lo que nos permitirá realizar una estimación del potencial de acumulación de los compuestos intermedios.

En este proyecto nos centramos en la implicación de grupos tróficos de microorganismos específicos y en la dilucidación de los mecanismos de biodegradación. El comportamiento de los compuestos farmacéuticos (carbamazepina, ácido clofibrico, diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno) se estudió en un reactor SBR de laboratorio. Las tasas de eliminación en diferentes condiciones operativas de un compuesto farmacéutico nos aporta información acerca de la intervención de grupos tróficos de microorganismos específicos en su degradación. Estos datos pueden resultar de gran utilidad para la optimización del tratamiento biológico de las aguas residuales y la eliminación simultánea de los contaminantes principales y los microcontaminantes específicos, como los compuestos farmacéuticos, que obligan a adoptar nuevos enfoques en materia de tratamiento de aguas residuales. Aunque son muchos los informes publicados en torno a la biodegradación de los compuestos farmacéuticos, falta todavía mucha información acerca de los mecanismos utilizados o las vías de biodegradación. Teniendo en cuenta que estos contaminantes se detectan en niveles de trazas, no disponemos

de una información completa en lo relativo a su degradación biológica. Por consiguiente, el uso de técnicas microbiológicas convencionales probablemente resulte ineficaz para dilucidar los mecanismos de biodegradación. En este estudio evaluamos el uso de la identificación de proteínas para observar la expresión diferencial de las proteínas en diferentes condiciones de crecimiento, por ejemplo ante la presencia o en ausencia de un compuesto farmacéutico concreto. La proteómica, un planteamiento relativamente reciente de la microbiología ambiental, estudia las propiedades de las proteínas y nos permite identificar las proteínas clave y los cambios asociados en determinadas condiciones específicas. Dado que la práctica totalidad de las enzimas que intervienen en la biodegradación son proteínas, los cambios en la identificación de las proteínas pueden asociarse a la presencia del compuesto farmacéutico administrado. Las identificaciones de las proteínas se obtienen mediante la separación de las proteínas en dos dimensiones, primero según el punto isoeléctrico y después según el peso molecular, en electroforesis por gel bidimensional. Seguidamente, se analiza la composición de los péptidos de las proteínas, en sus diferentes expresiones (por ejemplo, su presencia o su ausencia o los cambios significativos en el nivel de expresión) y se comparan con las composiciones de los péptidos de las proteínas conocidas en bases de datos de proteínas que pueden consultarse en línea. En último término, la intervención de enzimas específicas permite determinar las vías de biodegradación, que en una fase posterior se confirmarán mediante el análisis de los intermediarios de la biodegradación.

## Absorción y efectos del pentacloronaftaleno 1, 2, 3, 5 y 7 en una cadena alimentaria acuática: del sedimento, a través de organismos bentónicos (*Lumbriculus variegatus*), hasta la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)

Slootweg T.<sup>1</sup>, Dömötörövá M.<sup>2</sup>, Fabišiková A.<sup>2</sup>, Igumnova E.<sup>3</sup>, Mayer P.<sup>4</sup>, Möller A.<sup>5</sup>, Nikiforov V.<sup>3</sup>, Schmidt J.<sup>1</sup>, Smith K.<sup>4</sup> y Liebig M.<sup>1</sup>

1. ECT Oekotoxikologie GmbH, Böttgerstraße 2-14, 65439 Flörsheim, Germany

2. Slovak Medical University, Department of Toxic Organic Pollutants, Limbova 12, 833 03 Bratislava, Slovakia

3. Saint-Petersburg State University, 198504 St.Petersburg, Universitetskii pr., 26, Russia

4. National Environmental Research Institute, Aarhus University, Department of Environmental Chemistry and Microbiology, Frederiksborgvej 399, DK-4000 Roskilde, Denmark

5. University of Berne, Laenggass-Straße 122, 3012 Bern, Switzerland

Contacto: t.slootweg@ect.de

### Resumen

Uno de los factores de estrés más importantes de los sistemas fluviales son los contaminantes químicos. Por este motivo, resulta fundamental conocer con mayor profundidad la forma como actúan contaminantes específicos sobre los organismos acuáticos, para luego poder atribuir los efectos adversos que sufre un sistema fluvial a las causas correctas. Con esta información sobre la mesa, las personas responsables de la gestión hidrológica podrán tomar medidas más eficaces para mejorar la situación de los sistemas fluviales con un estado ecológico deteriorado.

En el este estudio, analizamos los efectos de sustancias tóxicas hidrofóbicas presentes en los sedimentos. Aunque la conexión con los sedimentos reduce la biodisponibilidad, los organismos bentónicos que viven en los sedimentos y se alimentan de ellos pueden bioacumular las sustancias tóxicas y hacer que vuelvan a estar biodisponibles para los organismos de un nivel superior de la cadena alimentaria, como los peces. A través de la biomagnificación, las concentraciones internas en los peces pueden alcanzar niveles en que los agentes tóxicos les provoquen efectos adversos. Si ello afectara, por ejemplo, a la reproducción o al crecimiento de los peces, podría tener consecuencias para el conjunto de la población de peces. Realizamos un seguimiento de la absorción y los efectos del pentacloronaftaleno 1, 2, 3, 5 y 7 (PeCN52) en una cadena alimentaria simplificada, formada por tres niveles: sedimentos – lombrices bentónicas (*Lumbriculus variegatus*) – trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). El PeCN52 es un congénere del grupo de los naftalenos policlorados, contaminantes persistentes y de gran distribución: en el río Elba se registraron concentraciones en los sedimentos del orden de µg/kg en peso seco (dw).

Para empezar, se llevó a cabo un estudio de bioacumulación en que las lombrices se expusieron durante 28 días a un sedimento con PeCN52. El factor de bioacumulación que se obtuvo, 35,3 (dw/dw), demostró que las lombrices, al actuar como fuente de alimentación, pueden transferir el PeCN52 de los sedimentos a niveles superiores de la cadena alimentaria. Por ello, en un estudio posterior, se expusieron las truchas jóvenes a lombrices vivas contaminadas. Las lombrices fueron expuestas a agua con presencia de PeCN52 de solubilidad acuosa, con el objetivo de obtener un gran volumen de lombrices con una carga constante de PeCN52. Las truchas se mantuvieron separadas y se alimentaron cada día con lombrices.

Se realizaron ensayos con cuatro niveles de concentración (0 - 9 - 18 y 36  $\mu\text{g/g}$  de comida). De la ingestión total de PeCN52 a través de las lombrices, el 60% se midió 28 días después en los tejidos de las truchas. Pese a la elevada bioacumulación, no se detectaron efectos significativos en la mortalidad, el comportamiento, el crecimiento ni en el índice somático hepático de las truchas jóvenes. A través de RT-PCR, se detectó la expresión de CYP1A y de la glicoproteína P –ambas vinculadas a los mecanismos de defensa de los peces- en el hígado, el cerebro y los intestinos. La exposición al PeCN52 se tradujo en una inducción vinculada a la concentración de CYP1A; sin embargo, no se detectó ningún efecto en la expresión de la glicoproteína P. Dichos resultados, y las conclusiones observadas sobre la transferencia de los agentes tóxicos hidrofóbicos en una cadena alimentaria, nos permiten establecer un modelo del flujo del PeCN52 en una cadena alimentaria.

## El uso de una nueva serie de biomarcadores de los biofilms fluviales para evaluar los efectos de los metales: contribución a la aplicación de la Directiva marco del agua

Bonet B.<sup>1</sup>, Corcoll N.<sup>1</sup>, Morin S.<sup>2</sup> y Guasch H.<sup>1</sup>

1. Instituto de Ecología Acuática, Universidad de Girona, España.

2. CEMAGREF, Bordeaux, França

Contacto: berta.bonet@udg.edu

Es bien conocido que algunos sistemas acuáticos sufren contaminación de metales pesados a través de diferentes tipos de vertidos. Hasta el momento no hay muchos biomarcadores para la detección de contaminación metálica y la mayoría de índices bióticos que se utilizan se basan en cambios estructurales a nivel de comunidad, los cuales se espera que integren las respuestas bióticas a lo largo de un periodo de tiempo considerable (des de semanas hasta meses en función del tiempo de vida del organismo investigado). Por lo tanto es de gran interés desarrollar nuevos biomarcadores de toxicidad metálica basados tanto en la detección de respuestas tempranas como los efectos crónicos para poder completar la información que se tiene hasta ahora. Esto mejoraría la comprensión de las causas de deterioro de los ecosistemas tal y como exige la Directiva Marco del Agua (DMA, Directiva 2000/60/CE).

En ríos y arroyos, el biofilm (también conocido como fitobentos o perifiton) se han usado ampliamente como bioindicador de contaminación debido a su capacidad de detectar efectos agudos producidos por sustancias tóxicas, como son los metales pesados, aportando en ecotoxicología una aproximación a nivel de comunidad de elevada relevancia ecológica.

El objetivo de este estudio fue investigar la toxicidad de los metales en los biofilms usando parámetros funcionales (PAM), metabólicos (AEA) así como también estructurales (composición y especies de diatomeas). Para conseguir este objetivo, se realizó un experimento de translocación en la Riera d'Osor (NE Cataluña), afluente del río Ter, situado en una zona minera. Este río presenta elevados niveles de zinc disuelto (Zn) y hierro (Fe), alcanzando valores de 600 µgZn/L y 750 µgFe/L después del principal vertido de la mina.

Los biofilms fueron translocados desde el punto control (no contaminado), a diferentes puntos contaminados río abajo para evaluar las diferentes respuestas debido al efecto del gradiente de contaminación metálica a lo largo de una escala temporal (des de horas hasta algunas semanas de exposición).

Además de la variabilidad temporal, se identificaron varios parámetros funcionales y metabólicos relacionados con el gradiente de contaminación metálica. Las concentraciones de metales encontrados en Osor afectaron el biofilm fluvial provocando respuestas fisiológicas transitorias (exposición aguda) y alteraciones estructurales y funcionales (exposición crónica). Además, al final del experimento (después de 5 semanas de exposición), las especies dominantes de diatomeas también estaban relacionadas con el gradiente de metal, mostrando formas teratológicas y un menor biovolumen en los sitios contaminados.

Los resultados sugieren que el PAM y las AEA de los biofilms se pueden usar como instrumentos de detección temprana, así como también biomarcadores de adaptación en ríos contaminados por metales, completando así la información proporcionada por los estudios de diatomeas (incluyendo los aspectos taxonómicos y las características morfológicas).

## **Predicción de los efectos de sustancias tóxicas en la diversidad funcional de especies de peces norteamericanas**

Faggiano L.<sup>1</sup>, de Zwart D.<sup>2</sup>, Dyer S.<sup>3</sup>, Lek S.<sup>4</sup> y Gevrey M.<sup>4</sup>

1. University of Girona, Spain

2. RIVM, Bilthoven, The Netherlands

3. Procter & Gamble, Cincinnati, Ohio, USA

4. University of Toulouse, France

Contacto: [leslie.faggiano@udg.edu](mailto:leslie.faggiano@udg.edu)

---

El objetivo del presente estudio era valorar los efectos de los compuestos químicos y las mezclas en la diversidad funcional de cincuenta y siete especies autóctonas de peces extraídas de 2.000 puntos de muestreo de una vasta zona geográfica, el estado de Ohio, en EE.UU. El enfoque de la diversidad funcional atesora un potencial muy superior al enfoque taxonómico tradicional para la predicción cuantitativa de los grupos de organismos representados en diferentes gradientes de alteración ambiental de origen humano. Los numerosos datos obtenidos se utilizaron para ponderar la presencia de rasgos “biológicos”, como la ecología trófica, la estrategia reproductiva, la locomoción/morfología o la longitud corporal, y rasgos “ecológicos”, como las preferencias de sustratos, la geomorfología y las dimensiones del curso. En el estudio se emplearon dos algoritmos diferentes de redes neuronales artificiales: un mapa autoorganizativo (SOM) y un perceptrón multicapa (MLP). El SOM se aplicó para determinar los tipos de rasgos en las distintas asociaciones de peces, mientras que el MLP permitió predecir asociaciones de peces utilizando diferentes predictores, como la cobertera del suelo, las características del macrohábitat, la química del agua clásica y la exposición a una amplia variedad de compuestos químicos y sus riesgos potenciales. Los resultados dejan entrever que la función de una comunidad de peces viene determinada sobre todo por las diferencias a gran escala en los hábitats, lo que confirma las conclusiones de estudios anteriores. Asimismo, pone de relieve la relación significativa entre los rasgos de las asociaciones de peces y la exposición química y los riesgos asociados, lo que demostraría que este factor de estrés específico puede ejercer de filtro al seleccionar tipos particulares de rasgos y de asociaciones de peces.

## **Análisis del destino ambiental de los contaminantes emergentes y prioritarios: identificación de los productos de transformación**

Kormos J.L., Schulz M. y Ternes T.A.

Federal Institute of Hydrology (BfG), Koblenz, Germany

Contacto: kormos@bafg.de

En los últimos años, la actividad investigadora se ha centrado en el desarrollo de métodos analíticos fiables y lo suficientemente sensibles como para detectar la presencia de los contaminantes orgánicos (como los compuestos farmacéuticos, los productos cosméticos, los biocidas, los plastificantes, los compuestos de perfluorados, etc.) en diferentes matrices ambientales. Sin embargo, son mucho menos conocidos los estudios relativos al destino de dichos contaminantes emergentes y prioritarios en las cuencas hidrográficas.

Los estudios sobre el destino arrojan datos extremadamente valiosos en torno a la capacidad de separación y el potencial de degradación de los compuestos objetivo. Asimismo, permiten conocer las reacciones del compuesto a lo largo de los diferentes procesos de tratamiento, así como los posibles mecanismos de eliminación. Estudios previos han centrado sus esfuerzos en el análisis de diferentes procesos de tratamiento convencionales y avanzados para evitar la penetración de dichos compuestos en los entornos acuáticos y en el suministro de agua potable. Sin embargo, existen muy pocos estudios que analicen los compuestos que se forman tras la aplicación de diferentes tratamientos (biológicos o químicos) si no se obtiene una eliminación completa y si dichos productos desconocidos pueden constituir una amenaza para la salud de los ecosistemas.

Este estudio, realizado en el marco del proyecto KEYBIOEFFECTS (MRTN-CT-2006-035695), analiza -mediante contraste por rayos X yodados (ICM)- la biotransformación de un grupo de contaminantes detectados habitualmente en los efluentes de las plantas depuradoras de aguas residuales, en las aguas superficiales y en los acuíferos. Concretamente, el estudio aplicó un enfoque pensado para dilucidar las estructuras químicas de los productos de biotransformación de los ICM en sistemas secuenciales de agua-suelo y agua-sedimento aeróbicos. Este enfoque secuencial permitió identificar un total de 34 TP (productos de transformación) de tres ICM no iónicos (iohexol, iomeprol y iopamidol) en dichos sistemas. Este planteamiento se basó en el uso de HPLC-UV semipreparativa, espectrometría de masa (MS) de trampa de iones en tándem/lineal LC ESI y NMR.

El desarrollo de un método MS en tándem con LC-ESI, combinado con las técnicas de SPE, permitió detectar los nuevos TP identificados en muestras ambientales reales. Se han detectado concentraciones de TP hasta el intervalo bajo de  $\mu\text{g/L}$  en las aguas superficiales. Desconocemos todavía la trascendencia de estos productos de biotransformación en el medio ambiente, pero este enfoque representa un paso decisivo para tratar de identificar los compuestos clave desconocidos que pueden ser los causantes de los efectos observados en los ecosistemas acuáticos y terrestres.



## **Evaluación de la toxicidad del agua de los ríos catalanes a partir de la distribución de sensibilidades de las especies y de redes neuronales artificiales**

Carafa R.<sup>1</sup>, Faggiano L.<sup>2</sup>, Real M.<sup>1</sup>, Munné A.<sup>3</sup>, Ginebreda A.<sup>4</sup>, Guasch H.<sup>2</sup>, Flo M.<sup>3</sup>  
y Tirapu L.<sup>3</sup>

1. URS, C/ Urgell 143, 4ª planta, 08036 Barcelona, Spain

2. Institut d'Ecologia Aquàtica, Universitat de Girona, Campus Montilivi s/n, 17071 Girona, Spain

3. Agència Catalana de l'Aigua, c/ Provença, 204-208, 08036 Barcelona, Spain

4. Department of Environmental Chemistry, IDAEA-CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

Contacto: Roberta\_Carafa@URSCorp.com

De conformidad con lo que establece la Directiva Marco del Agua, la Agencia Catalana del Agua se encargó de realizar un seguimiento del estado ecológico y químico de las cuencas fluviales catalanas, respetando el calendario estipulado por la Directiva.

La gran cantidad de datos recabados y las complejas relaciones que se establecen entre las variables objeto de análisis dificultan la interpretación de la información al tratar de determinar el impacto tóxico, sobre todo teniendo en cuenta que incluso contaminantes con una concentración muy baja pueden contribuir a la toxicidad total de la mezcla.

Todos los datos relativos a los controles químicos realizados durante los años 2007 y 2008 (232 estaciones de muestreo y 60 contaminantes) se analizaron con técnicas avanzadas de modelización secuencial.

Los datos sobre la concentración de contaminantes se trataron previamente para calcular la fracción biodisponible, según las propiedades de la sustancia y las condiciones ambientales locales.

Los valores obtenidos se utilizaron para predecir el impacto potencial de las sustancias tóxicas sobre la biota acuática en mezclas complejas y también para identificar puntos problemáticos. Se empleó la evaluación de la exposición con la distribución de sensibilidades de las especies (SSD) y las normas de toxicidad de la mezcla para determinar la fracción de especies afectada potencialmente por varias sustancias (msPAF).

Para entender y visualizar la distribución espacial del riesgo tóxico, se aplicó a los resultados de dichos modelos el método de los mapas autoorganizados (SOM), un algoritmo no supervisado de redes neuronales artificiales.

Además, se utilizó el análisis de componentes principales (PCA) con los resultados de las redes neuronales para identificar las variables con mayor peso en los patrones de contaminación.

Por último, se relacionaron y correlacionaron los impactos tóxicos pronosticados sobre la biota con índices de calidad biótica (IBMWP, IPS) y diversas variables fisicoquímicas.

Se identificaron los puntos problemáticos y los patrones de contaminación para poder ofrecer herramientas de interpretación a los gestores de cuenca con respecto a la evaluación de los riesgos a escala de cuenca.

**Palabras clave:** toxicidad acuática – evaluación de riesgos – distribución de sensibilidades de las especies – redes neuronales artificiales

## **La sensibilidad de los índices bióticos a los microcontaminantes de los ríos. Comparación de métricas a partir de las diatomeas y los macroinvertebrados**

Blanco S.<sup>1,2</sup> y Bécares E.<sup>1</sup>

1. Department of Environmental Management and Biodiversity, University of León. E-24071 León, Spain.

2. The Institute of the Environment. University of León. La Serna, 58. E-24007 León, Spain.

Contacto: ebecm@unileon.es

---

Son muchos los estudios que han constatado que la presencia de agentes tóxicos implica cambios predecibles en las comunidades bentónicas fluviales. Los índices bióticos basados en macroinvertebrados y diatomeas se utilizan a menudo para diagnosticar la calidad ecológica de los cursos de agua, aunque son pocas las obras que analizan su efectividad como biomonitores de las concentraciones de microcontaminantes. Este informe presenta los resultados de un estudio biológico realizado en 188 puntos de la cuenca del río Duero. En el estudio se calcularon 19 índices de diatomeas y 6 de macroinvertebrados y se compararon con la concentración de 37 contaminantes diferentes mediante análisis de correlación. Más de la mitad de las variables químicas analizadas presentaron una correlación significativa con por lo menos un índice biótico. En particular, los coeficientes de correlación más elevados se detectaron en el índice de diatomeas de Sládeček y en determinadas familias de macroinvertebrados. Los métodos basados en los macroinvertebrados arrojan mejores resultados para la detección de los biocidas, mientras que los índices de diatomeas presentan unas correlaciones más intensas con elementos potencialmente tóxicos, como los metales pesados. Todos los índices bióticos, sobre todo los índices de diatomeas, se mostraron especialmente sensibles a las concentraciones de grasas, aceites y tricloroetano, mientras que los compuestos aniónicos y derivados del nitrógeno presentaron los valores de correlación más bajos. Los resultados revelan que tanto los índices de macroinvertebrados como los de diatomeas pueden considerarse unos métodos eficaces para el control de los agentes tóxicos en los ríos.