



EFFECTO DEL ACCIDENTE
MINERO EN EL PERIFITON
DEL RÍO GUADIAMAR.
LAS ALGAS BENTÓNICAS
COMO INDICADORAS DE
LA CALIDAD DEL AGUA

J. TOJA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA. DPTO. DE BIOLOGÍA VEGETAL Y ECOLOGÍA
AVDA REINA MERCEDES S/N. APTDO 1095. 41080. SEVILLA

Resumen

Este trabajo presenta el efecto que la contaminación por metales pesados ha tenido sobre el perifiton del río Guadamar y está englobado dentro de un seguimiento general de los organismos y la calidad del agua que se ha estado llevando a cabo desde el accidente de las minas de Aznalcóllar, en abril de 1998. Se pretende discernir qué factores tienen más importancia en la estructuración de la comunidad, hasta qué punto la concentración de metales ha llegado a alterarla y si hay bioacumulación de metales pesados en perifiton, así como transferencia de los mismos a otros niveles tróficos. Para ello se han contrastado las observaciones de campo con experimentación en el laboratorio, sometiendo en este caso al perifiton a distintas concentraciones de una mezcla de metales pesados (similares a las que ha sufrido el río), como único factor de alteración. Los resultados indican que las algas bioacumulan metales, que éstos afectan al desarrollo y la composición de la comunidad, y que en el río esta respuesta refleja más una adaptación a tolerar la acidez del agua que a la contaminación por metales pesados (posiblemente porque las especies más sensibles a los metales no se pueden desarrollar). Por tanto, la comunidad resultante en el río es diferente de la que se desarrolló en el laboratorio, ya que en este último sólo se seleccionaron especies en virtud de su mayor o menor tolerancia a la contaminación por metales pesados. Con experiencias de laboratorio se ha comprobado también que hay transferencia de metales desde el perifiton a los herbívoros (gasterópodos del género *Melanopsis*, aunque sólo se ha detectado biomagnificación en el caso del talio). A pesar de que la calidad del agua a mejorado, tanto en lo que se refiere a la contaminación minera como a la orgánica, esta calidad sigue siendo deficiente como los prueban los bajos valores del índice de diatomeas IPS obtenidos en el año 2005. Solo en Gerena cumplirían los requisitos de la Directiva Marco del Agua de la Unión Europea.

Palabras clave: Perifiton. Acidez. Metales pesados. Ríos. Guadamar.

Introducción

A N T E C E D E N T E S

En el río Guadamar el vertido tóxico, las labores de limpieza y otras actuaciones realizadas, tanto en el propio cauce como en los sistemas terrestres adyacentes, modificaron sensiblemente las características fisicoquímicas del agua y de los sedimentos. Estas variaciones afectaron, lógicamente, a todas las comuni-

dades asociadas al río. Desde el punto de vista de las comunidades acuáticas, la situación de dichas poblaciones después de una pequeña recuperación inicial se mantuvo estática durante muchos meses ya que, tanto las condiciones físicas como las químicas, no permitían una mejora sensible. Sin embargo, ya a mediados del año 2000 empezaron a producirse nuevos acontecimientos que marcaron un ligero cambio en el

río. Por una parte, empezó la retirada de las trampas de sedimentos, que habían convertido el río en toda una sucesión de pozas. Por otra parte, se realizó una nueva limpieza del cauce de la parte superior del río. Finalmente tuvieron lugar las primeras lluvias fuertes que se producían desde abril de 1998, con las consecuentes avenidas.

El río Guadamar también sufre una importante contaminación orgánica, sobre todo a partir del Puente de la Doblas. A partir del año 2000 comenzaron a funcionar depuradoras de aguas residuales en Sanlúcar la Mayor, Aznalcázar, Villamanrique y Pilas. Aunque se ha reducido esta contaminación, aun sigue siendo muy importante, lo que lleva a pensar que el funcionamiento de estas depuradoras no es óptimo.

Abstract

Guadamar River is clearly affected by mining activities (low pH values and high heavy metals concentrations) and, consequently, the composition of the aquatic biota has changed strongly. This paper shows the effects that this pollution has had on the periphyton and is included into the control of biota and water quality which has been taking place since the Aznalcóllar mine tailings spill, in 1998. The objective is to know whether bioaccumulation of heavy metals occurs in periphyton, which is the main factor that has altered the taxonomic composition of the periphyton community and how important the role of heavy metals is. Other objective is to research the possible transference of heavy metals from periphyton to other trophic levels. To achieve this, analysis of periphyton samples taken at the river have been compared with those got in laboratory experiments in which algae from non polluted parts of the river were subjected to different heavy metals concentrations, as the only agent able to alter the community. Results indicate that bioaccumulation effects exist. Moreover, they suggest that low pH values are the most important agent algae have to react against, and heavy metals have a secondary role in this river (probably because the more sensible species at the hard metals can not develop). Therefore, the periphyton community existing at the river differs from the one got at the laboratory, because in this case the taxa selection was only in relation to their tolerance to heavy metals. The adaptation strategy followed was different in each case. Other Laboratory experience prove the heavy metal transference from the periphyton to their predators (snails of the genera *Melanopsis*), but only in the case of talio there have biomanification. Although water quality has improved, in relation to both minery and organic pollution, quality is still deficient, as the low values of the IPS diatom index indicate. Requirements of the WFD (EU Water Framework Directive) may only be met at Gerena.

Key words: Periphyton. Acidity. Heavy metals. River

10

Para controlar tanto el efecto del vertido, como la posible recuperación, se inició en julio de 1998, apenas tres meses después de producido el accidente, un programa de seguimiento que ha producido varias publicaciones (Prat et al., 1999; 2001; Solá et al., 2001; Toja et al., 2003 a y b; Martín et al., 2004).

Los tres grupos de organismos que mejor definen la calidad del agua de los ríos (sin la que es imposible que haya un buen estado ecológico) son las algas bentónicas (incluyendo a las cianofitas o cianobacterias), los macrófitos acuáticos y los macroinvertebrados. La Directiva Marco para las Políticas del Agua Europea (DMA) no atiende sólo a la calidad de las aguas, sino al estado ecológico de los ecosistemas, el cual se define como una expresión de la estructura y funcionamiento de los ecosistemas. La diversidad biológica total de un tramo de un río es una propie-

dad emergente del ecosistema que informa sobre la mayor o menor calidad ecológica del lugar. Es decir, es necesario estudiar esta comunidad en su conjunto.

En este artículo se reflejarán los cambios ocurridos en las comunidades de perifiton en relación con la variación de las características fisicoquímicas del agua, así como en la acumulación en esta comunidad de elementos tóxicos (Zn, Cu, Pb, Cd, Tl, As y Sb). Se utiliza el término perifiton en su acepción de algas bentónicas que se desarrollan adheridas a un sustrato (Wetzel, 1983, Iserentant, 1987, Casco, 1989).

Este capítulo resume los resultados de los trabajos llevados a cabo por una sucesión de investigadores. En la Universidad de Sevilla: Ángel Plazuelo, María Dolores Burgos, Eva Alcalá Gonzalo Martín, Isabel re-

yes y Tomas de Schutter. Carolina Solà de la Universidad de Barcelona llevó a cabo la determinación de los metales en agua, sedimentos y organismos. El seguimiento desde el accidente fue codirigido por el Dr. Narcis Prat y por la autora de este capítulo.

En el campo coexisten diversos factores (pH, concentración de metales, velocidad de corriente) que afectan a la estructura y composición taxonómica de las comunidades acuáticas. Además, los análisis de metales realizados en las muestras tomadas en el río no permiten

diferenciar qué parte de estos metales está incorporada a la biomasa y qué parte corresponde a partículas de pirita acompañantes. Por esta razón se ha experimentado en el laboratorio con un doble objetivo: determinar si hay bioacumulación de metales por parte de las algas y ver el efecto que la concentración por sí sola tiene en la composición del perifiton. También se han realizado experimentos para ver si los tóxicos se transmiten al nivel de los herbívoros. Los resultados obtenidos con estas experiencias también se recogen en este artículo (Toja et al., 2003b; Martín et al., 2004).

L A S A L G A S B E N T Ó N I C A S

Las algas bentónicas (es decir, las que crecen asociadas a un sustrato en el fondo de los ecosistemas acuáticos), son organismos fotosintéticos que, a pesar de su pequeño tamaño, son los principales responsables de la síntesis de materia orgánica en los ríos. Este grupo engloba a una gran diversidad de especies pertenecientes a distintos grupos taxonómicos, cuyo tamaño oscila entre menos de 2 micrómetros, hasta colonias filamentosas de varios centímetros de longitud. En todo caso, para su identificación se precisa su observación al microscopio. Pueden desarrollarse sobre las piedras, sobre restos de madera, sobre la vegetación (p.e.: carrizos, eneas, juncos) y sobre el sedimento fino (arenas, limos y arcillas). Los principales grupos en los ríos andaluces son las Cianofitas o Cianobacterias (sus células no tienen núcleo como las bacterias, pero tienen clorofila como las plantas), Diatomeas y Clorofitas (que son los ancestros de las plantas superiores).

Valor indicador de las algas bentónicas

La calidad del agua es una de las variables que influyen en la mayor o menor diversidad del perifiton de los ríos, pero no es la única. La heterogeneidad espacial en cada tramo, en lo que se refiere a diferencias de velocidad, tipo de sustrato, existencia o no de vegetación etc, determinan la mayor o menor riqueza de esta comunidad.

Las variaciones, tanto estacionales como anuales, de las

condiciones ambientales determinan fluctuaciones en las poblaciones de estas algas, cuyo desarrollo depende de la temperatura, la intensidad luminosa, las características hidrodinámicas y las características fisicoquímicas de las aguas. Cada tramo de río, según sus condiciones naturales, tiene una flora algal determinada. Cualquier tipo de perturbación, como el constituido por contaminaciones de diverso tipo, lleva a un cambio en esta composición que, en general, se traduce en la desaparición de muchas de las especies propias, que son sustituidas por especies mucho más tolerantes. A partir de la composición de la comunidad del perifiton se pueden calcular índices bióticos que informan de la calidad del agua.

Si la contaminación es tóxica (como ha ocurrido en el río Guadamar) además hay un descenso en la producción primaria. Por el contrario, si la contaminación es orgánica o por los abonos de la agricultura, la producción aumenta. Por lo tanto, los desplazamientos de la biomasa por encima o por debajo de lo que hay en condiciones naturales, también puede ser un indicador de la calidad del agua.

Las algas bentónicas (es decir, las que crecen asociadas a un sustrato en el fondo de los ecosistemas acuáticos), son organismos fotosintéticos que, a pesar de su pequeño tamaño, son los principales responsables de la síntesis de materia orgánica en los ríos

Índices basados en diatomeas

Dentro de la comunidad algal, las diatomeas son un grupo que forma parte importante de la microflora tanto fitoplanctónica como fitobentónica de los ecosistemas acuáticos. Dada su gran diversidad, su carácter cosmopolita y la gran sensibilidad a la contaminación de algunas especies, las diatomeas son, de entre los indicadores vegetales utilizados, uno de los grupos más idóneos para la elaboración de Índices de Calidad de Agua. Estos índices tienen amplia utilización en Europa.

Desde los años 80, varios países europeos han utilizado a las diatomeas para determinar la calidad de las aguas de sus ríos, creándose grupos de trabajo que han hecho verdaderos esfuerzos para mejorar la calidad de los métodos de muestreo, las claves de determinación de las especies, el cálculo de índices y el software de apoyo. Pryagel et al. (1999) describen y evalúan muchos de estos índices. Las algas han encontrado su lugar como herramienta para la biomonitorización de la contaminación de las aguas, ofreciendo algunas ventajas frente al uso de macroinvertebrados. Los índices desarrollados con estos últimos, generalmente, están enfocados, para detectar contaminaciones orgánicas, ya que dependen de la mayor o menor tolerancia de las especies al déficit de oxígeno. Las microalgas se consideran útiles para la detección y seguimiento de presiones debidas a: 1) eutrofización; 2) incrementos de materia orgánica; 3) salinidad y 4) acidificación.

Las microalgas son productores primarios y, como tales,

responden a las variaciones en nutrientes (especialmente fósforo) en el agua. Algunas pueden comportarse también como organismos heterótrofos (sobre todo muchas cianobacterias y euglenales) en aguas con fuerte carga orgánica. Las comunidades de microalgas bentónicas responden al aumento de nutrientes y al de materia orgánica con cambios en su composición (que en muchos casos supone un descenso de la diversidad) y con aumento de la biomasa. De esta forma, cuando la masa de agua se eutrofiza los sustratos aparecen cubiertos con una pátina verde o parda de algas, según el grupo de algas que predomine.

La acidificación, generalmente, no es problema en el conjunto de España donde, normalmente, las aguas están bien tamponadas. Pero si puede serlo en algunas zonas de Andalucía, sobre todo en los ríos de la Franja Piritica de Sierra Morena. Este es el caso del río Guadamar, el cual ha sufrido los efectos de la actividad minera de Aznalcóllar, agudizados por la rotura de la balsa en 1998 y, aunque no entre a formar parte de este trabajo, es paradigmático el ejemplo del río Tinto.

También son relativamente importantes en Andalucía los ríos salados (Guadaira, Salado, Saladillo, etc.). Y, lógicamente, son saladas las aguas de los tramos estuarinos de los ríos. Estos ríos, de forma natural tienen especies halófilas. La aparición de éstas en otros tramos de ríos indicaría una contaminación salina.

Las diatomeas son el grupo más diverso de microalgas bentónicas de los ríos, suelen constituir entre el 80 y el 90% de la comunidad del perifiton. Son cosmopolitas y, para muchas de las especies, son bastante conocidos sus requerimientos ecológicos y, además, son los mismos en diferentes regiones geográficas. Tienen la ventaja adicional de la buena manipulación y conservación de las muestras debidas, en parte, a su esqueleto silíceo (frústulo) de elevada resistencia y cuyas características morfológicas son la base de la identificación de las especies. Los frústulos constan de dos valvas que pueden ser iguales o distintas, como es el caso de *Planothidium frequentissimum* (Figura 1).

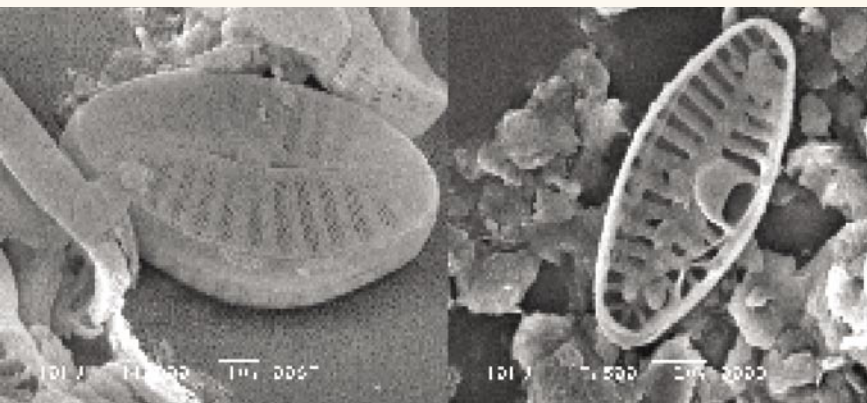


Figura 1. Fotografía al microscopio electrónico de barrido de una diatomea mostrando la decoración de las 2 valvas de *Planothidium frequentissimum*. Foto: G. Martín.

Figure 1. SEM photograph of a diatom showing the decoration of the two valves of *Planothidium frequentissimum*. Photo: G. Martín.

EXPERIENCIAS DE CAMPO

En un principio se seleccionaron 8 puntos de muestreo (Figura 2) de los que dos: el 1 (zona fluvial) y el 8 (zona marismiega) se han utilizado como referencia o control por no haber estado afectados por el vertido tóxico. En el tramo superior (puntos 1 a 3), la contaminación predominante es la minera, mientras que en el resto de los puntos hay una contaminación orgánica que en gran medida ha enmascarado el efecto del vertido tóxico. La frecuencia de muestreo ha sido variable a lo largo del periodo de estudio, siendo cada 6 semanas en 1998 y 1999, cada 3 meses en 2000 y cada 6 meses desde 2001 a 2005. En los últimos años se han estudiado puntos intermedios.



Figura 2. Localización de las estaciones de muestreo en los ríos Agrio y Guadamar.

Figure 2. Location of sampling stations on Agrio and Guadamar rivers.

Para el estudio del perifiton se recolectaron sustratos naturales (básicamente piedras) colonizados, siempre en zona de corriente, si bien en las zonas bajas -debido a la granulometría del sustrato y las características del cauce- se muestrearon otros sustratos, como macrófitos o sedimentos, o bien se instalaron sustratos artificiales (ladrillos o tejas). En cada punto se recogieron muestras para distintos tipos de análisis: 1) Análisis de pigmentos fotosintéticos como estima de la biomasa; 2) Identificación y recuento de especies; 3) Análisis de metales. Para cada uno de estos análisis se tomaron varias piedras al azar con una superficie total media de aproximadamente 100 cm². A partir del año 2005 se tomaron también muestras específicas para la elaboración de índices bióticos. Los procedimientos de muestreo y análisis se adecuaron a las normas y pre-normas europeas del European Committee for Standardization, 2003, 2004 y CEN ITC 230 EN 13946:2003 y PsEN 14407: febrero 2004. Estas normas están incluidas en la legislación española como Normas Españolas (AENOR, 2004, 2005).

Para el análisis de pigmentos fotosintéticos si las piedras eran pequeñas los sustratos se introducían en metanol, directamente en el campo. Si eran piedras grandes se raspaba (con cepillo de dientes) una superficie conocida. El material recogido se introducía también en metanol. La extracción se realizaba en oscuridad y a 4°C durante 24 horas. La concentración de clorofila a se ha calculado por la fórmula de Talling & Driver (Vollenweider, 1969). Con los datos de la concentración de clorofila se ha elaborado un índice de estado trófico (IET) según la expresión: $IET = 100 / \log[\text{clorofila}]$.

Para la identificación y recuento de las especies de perifiton, los sustratos se introdujeron en formol al 4%. En el laboratorio el sustrato se raspó y el material recogido se guardó en formol al 4%, separándolo en dos alícuotas,

una para la identificación de las especies y otra para el recuento utilizando la técnica Utermöhl (1958). A partir de estos recuentos se determinó la abundancia relativa de cada una de las especies.

Para el análisis de metales pesados, los sustratos se introdujeron en agua MilliQ, conservándose en frío. El raspado de los sustratos se realizó utilizando material previamente lavado con ácido nítrico para eliminar posibles restos de metales en él. Posteriormente, la suspensión en agua MilliQ obtenida se filtró en nitrato de celulosa WHATMAN de 0,45 μm de poro, congelando y liofilizando posteriormente los filtros. Las muestras biológicas liofilizadas se digirieron en recipientes cerrados (reactores de presión "Saville", mod 561 2R) con 1,5 ml de HNO_3 y 0,4 ml de H_2O_2 a 90°C durante 6 horas, diluyendo el resultado en 3 ml de agua bidestilada. El mismo procedimiento se realizó al material de referencia adecuado. El análisis de metales se realizó por espectrometría de Masas de Plasma, acoplado inductivamente (espectrómetro IOP-MS Perkin-Elmer modelo Elam-6000), utilizando Rh como estándar interno. Todo el material utilizado en el tratamiento de las muestras para el análisis de metales

fue previamente lavado con HNO_3 al 10% y enjuagado varias veces con agua bidestilada.

Los elementos que contaminaron básicamente el Guadamar y el Agrio, como efecto del accidente minero, fueron Zn, Cu, Pb, Cd, Ti, As y Sb, por lo que son los que se han analizado en las muestras. Entre ellos hay dos (Sb y As) que son no metales (metaloideos), aunque de forma general se hablará de metales pesados. Los datos, obtenidos en las primaveras de 2004 y 2005, correspondientes a la composición del perifiton de las distintas estaciones se sometieron a un análisis MDS (MultiDimensional Scaling Analysis).

Existen varios índices biológicos que utilizan diatomeas para la clasificación de la calidad del agua de ríos, que se pueden calcular con el programa OMNDIA, con el que, para este trabajo se ha calculado el IPS (Índice de Plurisensibilidad Específica) es el que mejor resultado está dando en ríos de la Península Ibérica. El índice, como propone la DMA, integra 5 posibles calidades del agua que quedan reflejadas en mapas por colores. Sólo son admisibles las calidades Muy Buena y Buena.

EXPERIENCIAS DE LABORATORIO

Se han realizado dos experimentos, uno para confirmar la bioacumulación de contaminantes por el perifiton y otro para investigar el posible paso de metales del perifiton a sus depredadores (caracoles).

En ambos se ha procurado reproducir las condiciones naturales del río. Para ello se han utilizado comunidades de perifiton naturales desarrolladas en la estación 1 (Gerena) sobre sustratos consistentes en tiras esmeriladas de plástico transparente, que se mantuvieron en el río 4 semanas y también caracoles del género *Melanopsis* capturados en esta estación de muestreo.

Se utilizó agua procedente también de Gerena, previamente filtrada con filtros WATMAN GF/C, como base del

medio de cultivo. Los experimentos se realizaron en una serie de pequeños canales o "microcosmos" (50 cm de largo, 10 de ancho y una lámina de agua de 2 cm) haciendo pasar el agua por ellos en flujo continuo de 0,4 litros/hora, similar al que se encuentra en las pozas del río, donde se colocaron los sustratos colonizables por el perifiton. La temperatura se mantuvo entre 20 y 23°C y la intensidad de luz fue de 100 μE y el fotoperiodo de 12 horas luz/12 horas oscuridad. El crecimiento del perifiton se determinó por la medida de la clorofila a, tomando submuestras cada 3 días. Para la identificación de las especies y el contenido en metales pesados se tomaron muestras regularmente, utilizando la misma metodología seguida para las muestras de campo. Los diseños concretos de cada experimento se describen en los respectivos apartados.

RESULTADOS

¿QUÉ OCURRIÓ EN EL RÍO INMEDIATAMENTE DESPUÉS DEL ACCIDENTE MINERO?

Al cubrirse todo el cauce con piritas, lógicamente todas las comunidades de perifiton (al igual que del resto de organismos acuáticos) desaparecieron (Prats et al., 1999). Sin embargo, a los pocos días, al dejar de llegar agua del Agrio y llegar sólo del Guadiamar, todos los sedimentos se cubrieron con un tapiz de un alga clorofita filamentosa (*Stigeoclonium protensum*), que ha resultado ser muy tolerante a este tipo de contaminación. Su actividad, por lo menos durante el día, contribuía a neutralizar el pH.

Todo esto, lógicamente, se truncó al comenzar las labores de limpieza, de forma que se fueron sucediendo sucesivos crecimientos de algas bentónicas, muy cambiantes en función de los distintos efectos de estas labores, bien llevándose la comunidad al retirar sedien-

tos o, bien destruyendo las comunidades por limitación de luz por la turbidez que llevaban las aguas. Es decir, durante casi un año con posterioridad al vertido, se fueron destruyendo comunidades e iniciándose nuevas sucesiones, aunque *Stigeoclonium protensum* era siempre una de las especies dominantes cuando el agua tenía un pH relativamente neutro y algunas diatomeas y otras clorofitas filamentosas (*Klebsormidium* sp) cuando el pH era ácido. Hay que tener en cuenta que las algas se reproducen con gran rapidez y las comunidades se estabilizan aproximadamente en un mes. De ahí que cada vez que se iba a muestrear se pudiera encontrar una comunidad de algas distinta (Martín et al., 2004).

La cantidad de metales aparentemente incorporada en

la biomasa de algas era significativamente mucho mayor en los tramos contaminados que en los tramos control (Figura 3). Pero la imposibilidad de separar a las algas de las partículas de piritas depositadas sobre ellas, planteaba la duda de si realmente los metales se habían incorporado a la biomasa (y, por lo tanto, habían entrado en la cadena trófica) o no. Para dilucidarlo se llevó a cabo el primer experimento, que se describe aparte.

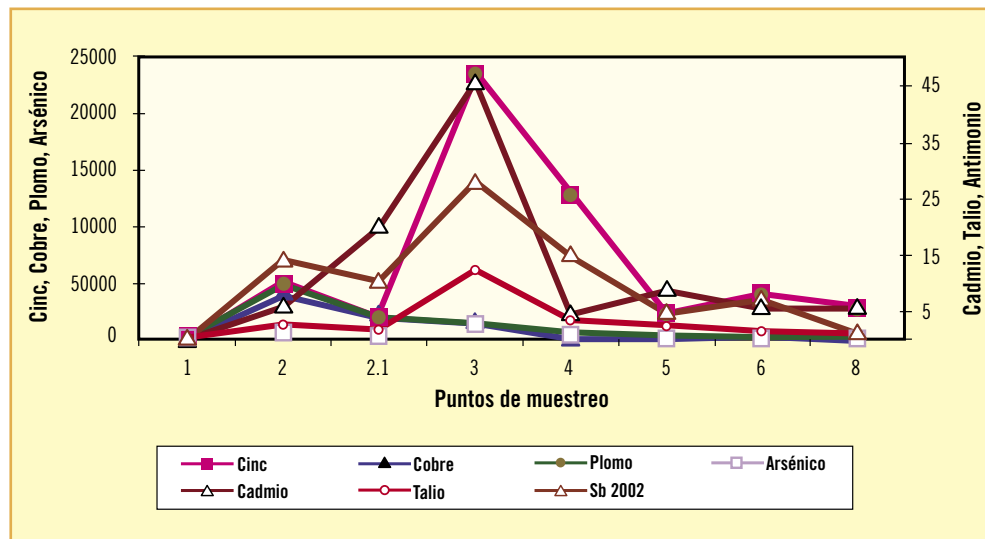


Figura 3. Concentración de metales (en µg/g de peso seco) en las muestras de perifiton. Valores medios año 1999.

Figure 3. Metal concentrations (µg/g DW), in periphyton samples. Average values, 1999 year.

¿CÓMO EVOLUCIONÓ DESPUÉS EL RÍO?

En la figura 4 pueden verse las diferencias entre los años 1998 y 2005 de diversas variables fisicoquímicas indicadoras de los dos tipos de contaminación (minera y orgánica) que ha sufrido (y aún sufre) el río. Como puede observarse, aunque el río ha mejorado en ambos aspectos, sigue contaminado, si bien la reducción de la contaminación minera ha sido, proporcionalmente, mayor que la orgánica.

Los cambios en la calidad del agua se han traducido en estas modificaciones de la densidad y composición de las comunidades de algas. Además, el contenido de metales en el perifiton ha ido disminuyendo paralelamente a su reducción tanto en el agua como en los sedimentos. En el año 2002 (el último en que se hicieron estas medidas), salvo en el curso bajo (Entremuros), aun se observaban en el perifiton concentraciones de contaminantes significativamente mayores que en las zonas de control, especialmente en el tramo comprendido entre la confluencia del Agrio con el Guadimar y la estación de aforo de El Guijo. En esta zona, en el agua seguía habiendo concentraciones relativamente altas de tóxicos. En el resto del río, los valores se asemejaban a los anteriores al vertido. Sin embargo, en el sedimento aunque la concentración de metales había disminuido mucho, aún seguían quedando restos de piritas y, por lo tanto, se detectaban contenidos en metales en el perifiton varias veces superiores los registrados en la estación de control (Figura 5, página siguiente).

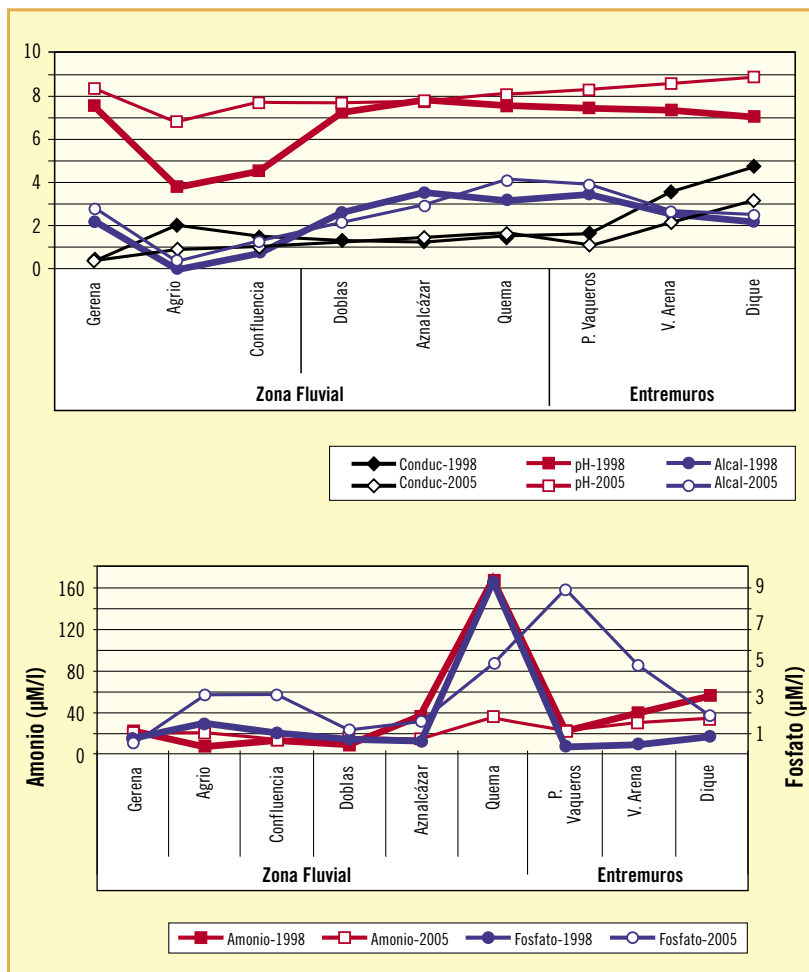


Figura 4. Comparación entre 1998 y 2005 de algunas variables fisicoquímicas indicadoras de contaminación (minera arriba y orgánica abajo).

Figure 4. Comparison of several physical and chemical variables, indicators of two type of pollution (metal and organic matter), between 1998 and 2005 years at the Guadimar river.

El perifiton también fue cambiando en su composición, aunque siempre fue diferente la comunidad que se desarrollaba entre El Agrio y El Guijo, en los últimos años las diferencias parecían deberse más que a la toxicidad de los metales (ya reducida) a la acidez del agua. También puede

achacarse a que las especies más sensibles a los metales no se pueden desarrollar. De todas formas, hay que tener en cuenta que este río se encuentra enclavado en la faja pirítica, por lo que de forma natural hay una cantidad de metales pesados superior a la de otros ríos de Andalucía situados sobre litologías diferentes. De ahí que las especies que se desarrollan aquí son aquellas que tienen una cierta tolerancia a estos elementos químicos.

El punto control (Gerena) está caracterizado durante el periodo de avenida por diatomeas: *Achnanthydium minutissimum* y *Gomphoneis olivacea* principalmente pero, también en mayor o menor medida según el año, *Cyclotella meneghiniana*, *Melosira varians*, algunas *Ulnaria* (*U. ulna*, *U. acus*), *Cocconeis placentula* y varias especies de los géneros *Navicula* (*N. cryptocephala*, *N. decussis*), *Cymbella* (*C. amphicephala*, *C. ventricosa*, *C. caespitosa*, *C. helvetica*, *C. affinis*), *Gomphonema* (*G. angustatum*, *G. constrictum*) y *Nitzschia* (*N. palea*, *N. sinuata*, *N. hungarica*). En el estiaje dominan Cianofitas representadas mayoritariamente por *Oscillatoria sp*, *Calothrix sp* y *Synechococcus sp*. El punto 2 (río Agrio

aguas abajo de la balsa rota) es el que más ha sufrido la acción de la mina. Las especies más características de la zona son *Klebsormidium sp*, *Ulothrix sp*, *Mougeotia sp* y varias diatomeas: *Achnanthydium minutissimum*, *Eunotia exigua*, *Nitzschia palea* y *Naviculáceas* (*Pinnularia biceps* y *Navicula sp* sobre todo). En función del año y la estación las proporciones de estos taxa han variado mucho aunque, como norma general, las clorofitas filamentosas han significado gran parte de la biomasa. El punto 2.1 (confluencia) presenta en su mayor parte diatomeas. Se han observado desarrollos masivos de filamentosas (*Ulothrix sp*, *Klebsormidium sp* y *Mougeotia sp*) en buena parte de los casos, principalmente en estiaje. Estos desarrollos han aportado mucha biomasa y clorofila al sistema, aunque la observación al microscopio revelaba mayor efectivo numérico poblacional de otras especies (principalmente *Achnanthydium minutissimum*, *Eunotia exigua*, *Navicula spp*, *Pinnularia biceps*, *Nitzschia palea* y *Surirella ovata*). En el punto 3 (Las Doblas) *Stigeoclonium protensum* sustituye a las filamentosas encontradas aguas arriba. Esta especie, que fue la primera que colonizó esta zona del

río tras el accidente (Prats et al., 1999), es la que más biomasa llega a aportar y aparece acompañada por diversas diatomeas (*Achnanthydium minutissimum*, *Surirella ovata*, *Nitzschia palea* y, en menor medida, *Navicula spp* y *Gomphonema angustatum*).

A lo largo de todo el estudio, la contaminación orgánica ha hecho que, a partir del puente de las Doblas (Punto 3), se enmascararan los efectos del vertido tóxico, tanto en lo que se refiere a biomasa como a composición de las comunidades, de forma que las especies dominantes hayan sido las indicadoras de contaminación orgánica.

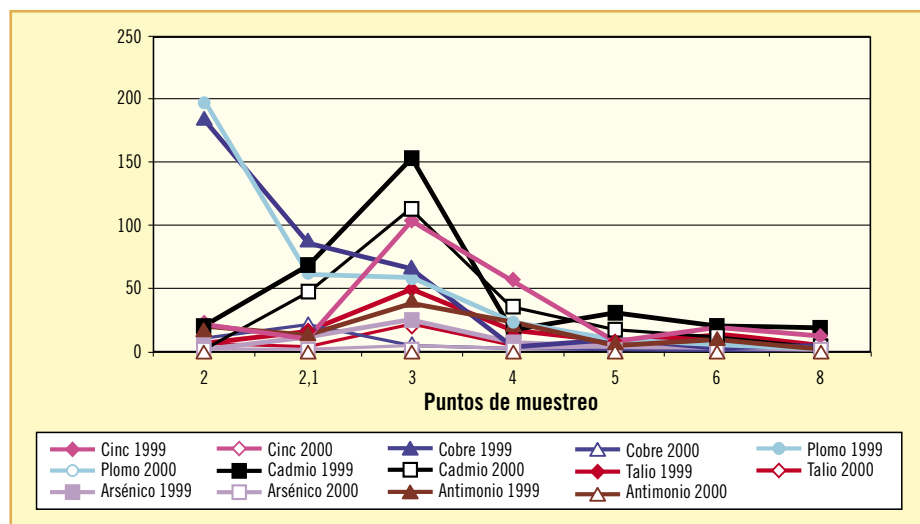


Figura 5. Relación entre el contenido en metales en el perifiton de las distintas zonas afectadas por el vertido con el registrado en el control (Punto 1: Gerena), en 1999 y en 2002.

Figure 5. Relationship between the metal content of the periphyton from different sites affected by the toxic dumping and that from the control sampling station (Site 1: Gerena), in 1999 and in 2002.

EXPERIMENTOS

PRIMER EXPERIMENTO: ¿HUBO REALMENTE INCORPORACIÓN DE METALES EN LA COMUNIDAD ALGAL?

Para contestar a esta pregunta se colocaron 5 tiras colonizadas por perifiton en cada uno de los 4 canales utilizados. Se enriqueció el agua de Gerena con nutrientes (compuestos de nitrógeno y fósforo) hasta alcanzar concentraciones similares a las máximas que de los mismos se habían detectado en el río a lo largo del estudio. Uno de los canales se utilizó como control, sin adición de metales y a los demás se les añadió una mezcla de los elementos considerados en este estudio (Zn, Cu, Pb, Cd, Tl, As, Sb) hasta alcanzar concentraciones que, aproximadamente, fueran similares a las mínima (E1), media (E2) y máxima (E3), detectadas para cada metal en el agua del río (Figura 6). El control del crecimiento del perifiton se realizó mediante el análisis de la concentración de clorofila como estima de la biomasa, tomando submuestras de las tiras cada 10 días. Para el análisis de metales se tomaron también submuestras con idéntica periodicidad. La metodología utilizada fue la misma seguida para las muestras de campo.

En la Figura 7 se resumen los resultados obtenidos. Se confirmó como, realmente, hubo incorporación de metales en la biomasa y que esta incorporación era proporcional a la concentración de metales que había en el agua. También se comprobó el efecto tóxico de estos metales en el desarrollo de la comunidad de perifiton, ya que en los canales tratados se registró una reducción en la biomasa.

Figura 7. Resultados obtenidos al final del experimento. La primera barra (en verde) indica, la concentración de clorofila en cada uno de los tratamientos. Las demás barras corresponden a la relación existente entre la concentración de cada uno de los metales en cada y la concentración en el control.

Figure 67 Results obtained at the end of the experiment. The first column (green) indicate the chlorophyll concentration in each treatment. The other columns represent the relationship between the concentration of each metal in each treatment and the metal concentration in the control.

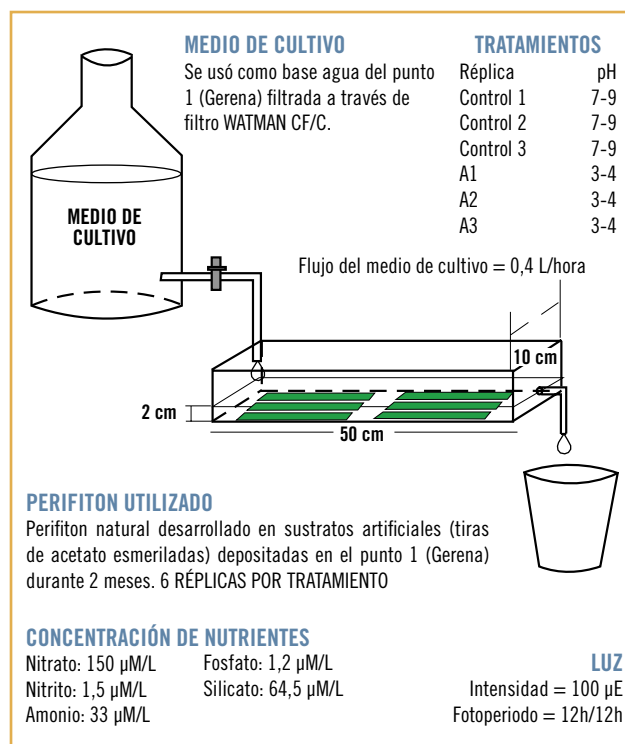
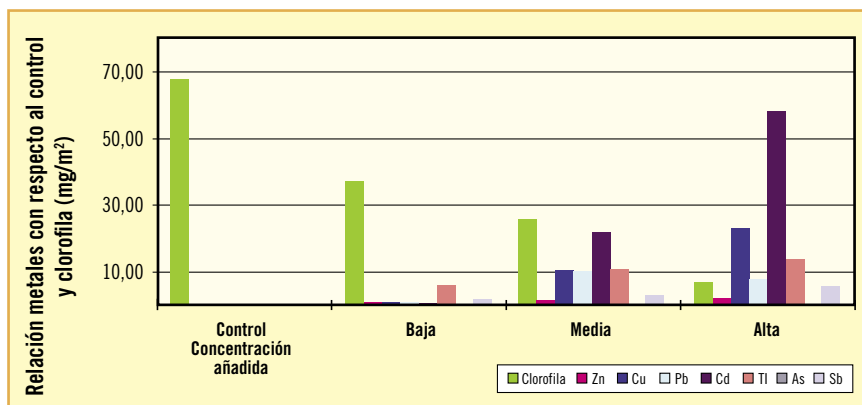


Figura 6. Diseño experimental para investigar la bioacumulación de metales en el perifiton.

Figure 6. Experimental design to test, metal bioaccumulation in the periphyton biomass.



sa de algas (estimada a partir de la concentración de clorofila).

Aunque todos los elementos se incorporaban en la biomasa en cantidades tanto mayores cuanto mayor fuera la concentración que había en el agua, la bioacumulación fue mayor en unos que en otros. Por ejemplo, talio,

cobre, plomo y, sobre todo, cadmio entre los metales y antimonio entre los no metales, experimentan grandes incrementos, sin embargo, zinc y arsénico, se magnificaron mucho menos. En el caso de que el agua llevara concentraciones bajas (como son las que han quedado actualmente en la mayor parte del río), sólo el talio y el antimonio manifestaron una acumulación importante.

SEGUNDO EXPERIMENTO: ¿SE TRANSMITEN LOS METALES DESDE EL PERIFITON A OTROS NIVELES TÓXICOS?

En la figura 8 se muestra el diseño experimental seguido: 10 tiras de acetato colonizadas por perifiton se colocaron en cada uno de los canales. Dos de ellos se alimentaron con agua de Gerena enriquecida con nutrientes (Control), otros 4 se alimentaron con esta misma agua de cultivo a la que se añadió la mezcla de metales para conseguir en 2 de ellos (T1) una concentración similar a la media detectada en el río (Alta) y en otros 2 (T2) una concentración similar a la mitad de la media (Intermedia). Al cabo de 21 días de aclimatación del perifiton, se añadieron a cada canal 10 ejemplares de tamaño similar del caracol *Melanopsis* sp, capturados en la estación de Gerena y mantenidos durante unos días sin alimento para purgarlos. Posteriormente se mantuvieron alimentándose con el perifiton durante 20 días.

En la figura 9 se muestran algunos resultados de este experimento. Se comprueba que hay tranferencia desde el perifiton a sus depredadores, ya que los caracoles acumulan metales en su biomasa proporcionalmente a la concentración en el agua (y, por lo tanto, en el perifiton) y, además, esta acumulación prosigue en el tiempo.

A pesar de que todos los elementos se acumulen, el comportamiento es diferente se-

gún que éste sea esencial o no para el metabolismo (de Schutter, 2002; Martín et al., 2004). En el caso de los metales esenciales (Zn, Cu) y alguno de los no esenciales (Cd) para que empiecen a acumularse tiene que haber un cierto umbral de metales pesados en el alimento (perifiton). Esto sugiere que los caracoles tienen algún mecanismo de detoxificación. Sin embargo, los otros meta-

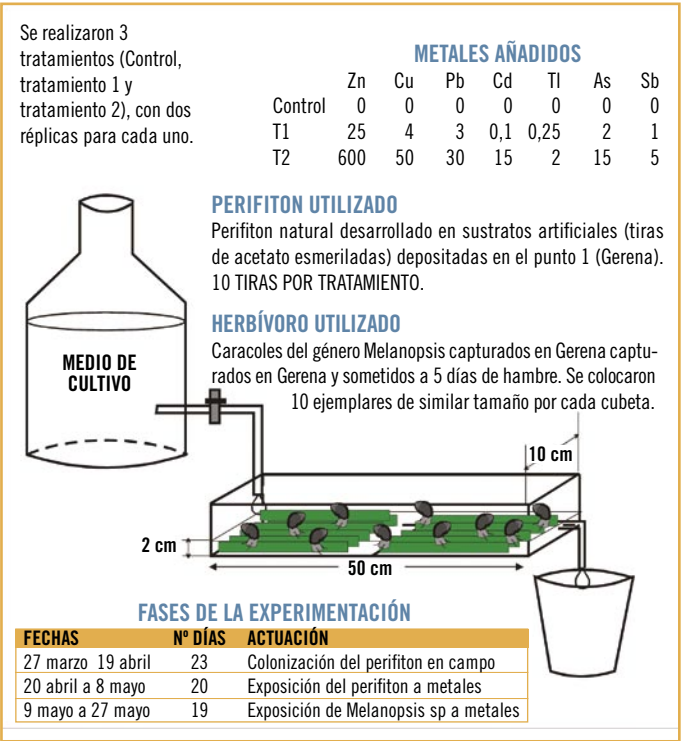


Figura 8. Diseño experimental para investigar la transferencia de metales del perifiton a los caracoles.

Figure 8. Experimental design to test, metal transference from periphyton to the snails.

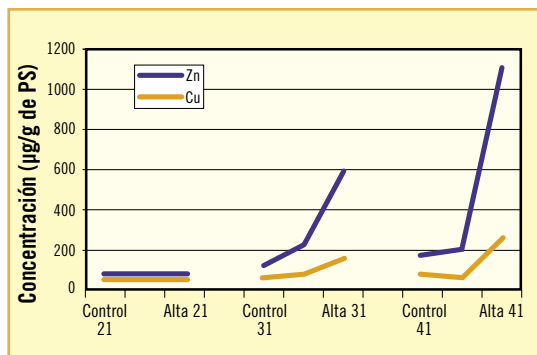


Figura 9. Concentración de metales (en µg/g de peso seco) en *Melanopsis sp.* en cada uno de los tratamientos desde que se colocaron los canales.

Figure 9. Metal concentration (µg/g DW) in *Melanopsis sp.* in each treatment since the snails were introduced in the canals.

les no esenciales (Pb, Tl) se acumulan sea cual sea la concentración que hay en el alimento. En el caso de los no metales (As, Sb), no se observan diferencias entre los distintos tratamientos.

Se han descrito muchas situaciones de biomagnificación de metales pesados en los niveles tróficos superiores, es decir, es mayor la concentración en los herbívoros (en es-

Tabla 1. Factor de multiplicación del contenido de elementos en el perifiton con respecto a *Melanopsis sp.* Los valores inferiores a 1 indican biomagnificación.

Table 1. Factor of multiplication of the content of elements in the perifiton with regard to *Melanopsis sp.* The lower values than 1 indicate biomagnification

	Zn	Cu	Pb	Cd	Tl	As	Sb
Control	51.1	1	7.3	1	0	1	21.8
T1	38.2	2.5	97.4	39	0.3		

te trabajo caracoles) que en su alimento (en este caso perifiton). En este experimento sólo se ha detectado biomagnificación en el caso del talio. Puede ser que esto se deba a la corta duración del experimento, ya que no hay elementos de juicio para corroborarlo. Lo que sí es cierto es que en las muestras de campo no se ha observado biomagnificación en ningún caso de los herbívoros analizados, aunque esto puede deberse a varias causas: puede estar enmascarada por el efecto del material inerte (piritas) que hay en las muestras del río, pues los herbívoros analizados en el campo no eran caracoles (Prat et al., 1999; Solà et al., 2004). Además, en las zonas más cercanas a la mina, y, por lo tanto con mayor concentración de nutrientes, no ha habido caracoles durante varios años, probablemente porque la acidez del agua impedía la calcificación de las conchas.

¿COMO ESTÁ ACTUALMENTE EL RÍO?

Como se puede ver en la figura 4, la calidad del agua en 2005 era mejor que en 1998, tanto en lo que se refiere a la contaminación minera, como a la orgánica (han empezado a funcionar algunas depuradoras de aguas residuales). Sin embargo, esta calidad sigue siendo deficiente, como lo reflejan las comunidades de algas que se desarrollaban en distintos tramos de la cuenca del Guadamar en el año 2005.

En la figura 10 (página siguiente) se representan los resultados de los análisis MDS realizados con los datos del perifiton. En el primer análisis se utilizaron los datos de presen-

cia-ausencia de todas las especies encontradas. Aunque, cuando en este caso no se han utilizado datos cuantitativos, se observa una clara diferenciación de los tramos de la cuenca situados aguas arriba de la influencia de la mina con respecto a los demás. En el caso de éstos, aunque hay una cierta segregación entre los que sólo tienen contaminación minera de los demás, ésta no es nítida, ya que puede haber especies de algas que tienen cierta tolerancia a los dos tipos de contaminación, por lo que están presentes en todos los tramos afectados. En el segundo análisis, si se utilizaron datos cuantitativos, pero sólo de las diatomeas y, como puede verse, en este caso sí se diferencian perfec-

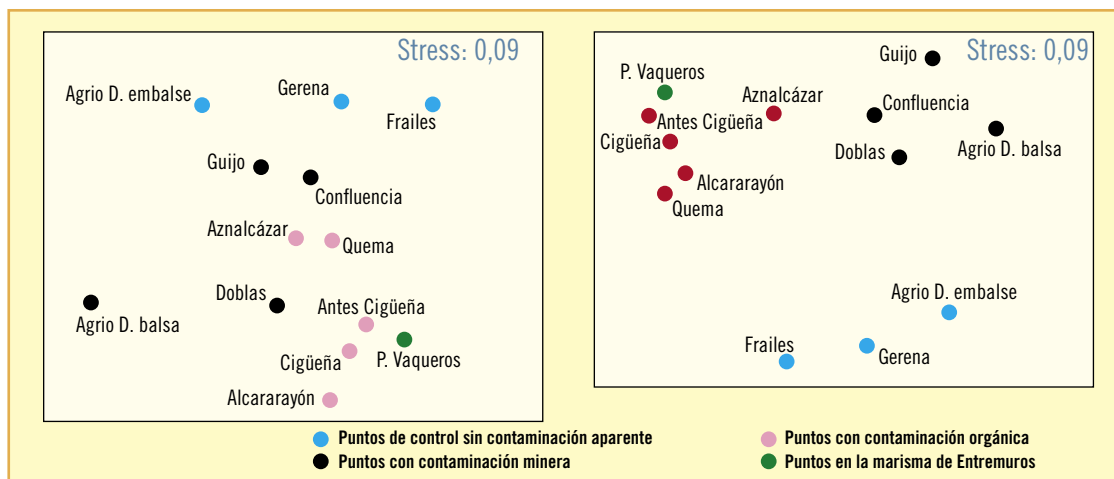


Figura 10. Ordenación según un análisis multifactorial MDS de las estaciones de muestreo en función de los datos de presencia/ausencia de todas las algas del perifiton (izquierda) y a la abundancia relativa de las diatomeas epilíticas (derecha).

Figure 10. Multifactorial MDS analysis. Ordination of the sampling stations according to presence/absence data of all periphyton algae (left) and to the relative abundance of epilithic diatoms (right).

tamente los tramos en los que sólo hay contaminación minera de los que predomina la contaminación orgánica.

Este último análisis viene a corroborar la idoneidad de las diatomeas para elaborar índices que puedan evaluar la calidad del agua de los ríos, ya que hay especies características de todos los niveles de calidad (Figura 12). En la figura 11 se representa el valor del índice de diatomeas IPS en distintos tramos del río en abril de 2005, así como el índice de estado trófico. Como puede observarse hay una concordancia entre

ambos índices. La conclusión es que, a pesar de la mejoría de la calidad del agua, esta es aún deficiente salvo en la estación 1 (donde la calidad es buena), de forma que en el resto del río no se cumplen los requisitos de la DMA, por lo que hay que implementar medidas correctoras.

De todas formas, el tramo comprendido entre la mina y la estación de aforo de El Guijo, tardará mucho en recuperarse. A pesar de la clausura de la mina y del tratamiento dado a la balsa, los suelos siguen teniendo residuos acumulados y, probablemente el acuífero aluvial de esta zona sigue cargado de metales pesados. Lo que no es justificable es la situación del río aguas abajo del Puente de las Doblas. La contaminación orgánica es mucho más controlable que la minera ahora que ésta es difusa. Simplemente se arreglaría con depuradoras de aguas residuales que estén bien diseñadas y que funcionen correctamente. Aunque desde el año 2000 han entrado en servicio dos, una que recoge las aguas residuales de Sanlúcar la Mayor y Aznalcázar y otra que lo hace en Villamanrique y Pilas, la impresión es que sus funcionamientos son deficientes. Otras fuentes de contaminación orgánica pueden ser algunas industrias agropecuarias (sobre todo en la margen derecha), que también deben tener su sistema de depuración.

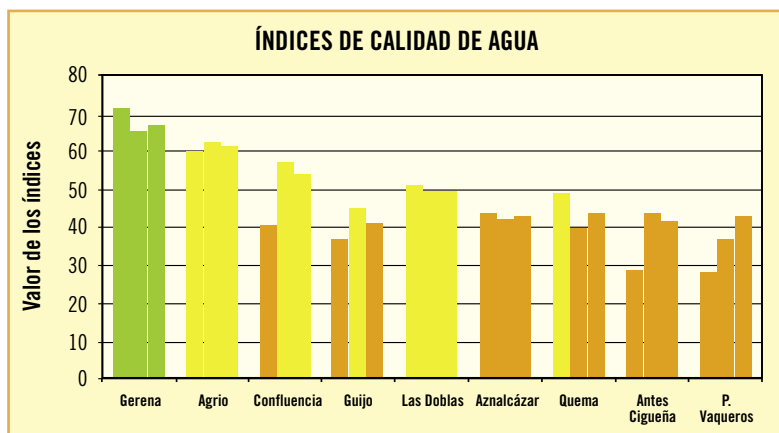


Figura 11. Caracterización de la calidad del agua del Guadiamar. En cada estación de muestreo la primera barra corresponde al Índice de Estado trófico calculado a partir de la concentración de clorofila. La segunda el índice de diatomeas IPS y la tercera la media de los dos índices. Los colores corresponden a distintas clases de calidad marcadas por la DMA (verde: buena; amarillo: regular; naranja: mala).

Figure 11. Characterization of the water quality of Guadiamar river. In each sampling station, the first column corresponds to the Trophic State Index based on the benthic chlorophyll concentration. The second column represents the IPS diatom index meanwhile the third one is the average of the two indexes. Colors indicate the different types of quality pointed by the DMA (green: good; yellow: moderate; orange: bad).

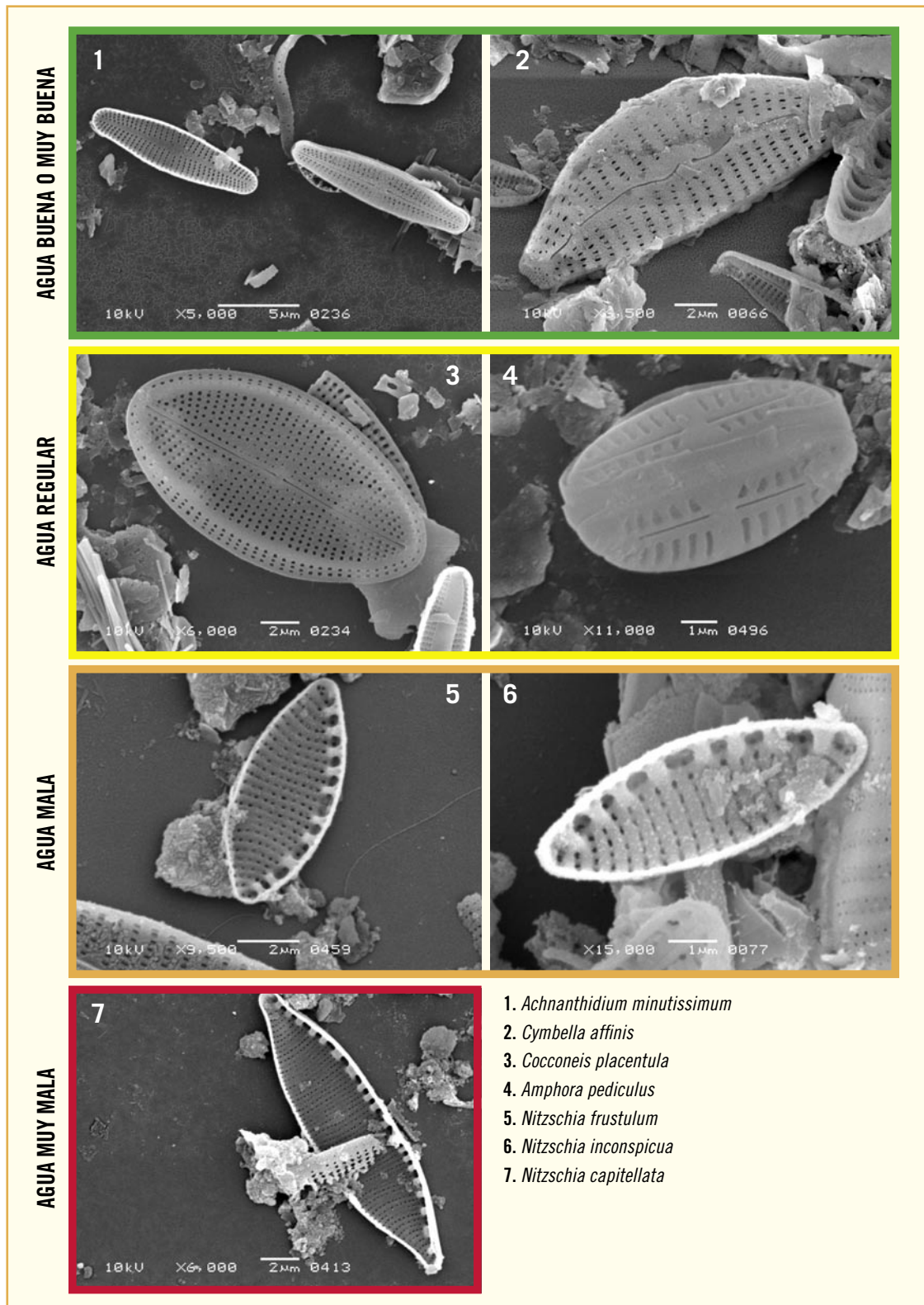


Figura 12. Fotografías al microscopio electrónico de barrido de especies de diatomeas indicadoras de diferentes clases de calidad de agua.

Figure 12. SEM photographs showing several diatoms, indicators of different classes of water quality.

Recomendaciones de gestión

- No sólo para alcanzar completamente los objetivos del Proyecto del Corredor Verde del Guadamar, sino para cumplir los requisitos de la Directiva Marco del Agua de la Unión Europea, que exige que todo el río Guadamar tenga antes del año 2015 un buen estado ecológico, un requisito imprescindible será que la calidad de todo el río sea, por lo menos, buena. Por lo tanto, habrá que seguir aplicando medidas correctoras.
- La zona comprendida entre la mina y la estación de aforo de El Guijo sigue en estado crítico. El problema es que la contaminación minera que recibe es difusa y, por lo tanto, difícil de controlar. Además, la aguas residuales del polígono industrial que se va a instalar en la zona que antes ocupaba la mina, deberían ser adecuadamente depuradas.
- El caso de la contaminación orgánica que tiene el río a partir del Puente de las Doblas, sí es controlable y ya debería estarlo en su mayor parte. Parece que en los 2 últimos años ha mejorado el funcionamiento de las depuradoras instaladas (C. Brieva, comunicación personal), no debería bajarse la guardia.
- Además, quedaría por abordar la depuración de las aguas residuales de las industrias agropecuarias que vierten directamente a los cauces.

B I B L I O G R A F Í A

Casco, M.A. 1989. El perifiton del embalse de La Minilla. Relaciones con el fitoplancton y contribución a la producción total. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.

CEN ITC 230 EN 13946:2003. Water quality. Guidance standard for routine sampling and pre-treatment of benthic diatoms from rivers.

de Schutter, T. 2002. Transfer of heavy metals from biofilms to the freshwater snail *Melanopsis* sp. An experimental complementation of the field studies following the Aznalcóllar mine disaster. Proyecto fin de carrera. Univ. Ámsterdam (Holanda)

Inserentant, R. 1987. Quelques réflexions sur la notion de périphyton. Can. Biol. Mar., 28: 297-30

Martín, G., Alcalá, E., Burgos, M.D., Plazuelo, A., Solà, C., Toja, J., 2004. Efecto de la contaminación minera sobre el perifiton del río Guadamar. Limnetica, 23 (3-4):315-330

Prat, N., C. Solà, M.D. Burgos, M. Plans, J. Toja y M.D. Burgos. 2001. La restauración del estado ecológico del río Guadamar. Medioambiente, 36: 50-55.

Prat, N., J. Toja, C. Solà, M.D. Burgos, M. Plans y M. Rieradeval. 1999. Effect of dumping and cleaning activities on the aquatic ecosystems of the Guadamar River following a toxic flood. The Science of Total Environment, 242: 231-148.

Prygiel, J., Coste, M., Bukowska, J. 1999. Review of the major diatom-based techniques for the quality assessment of rivers-state of the art in Europe. In Prygiel, J., Whitton, B.A., Bukowska, J. (eds). Use of algae for monitoring Rivers III, p. 224-238.

PsEN 14407:February 2004. Water quality. Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatoms samples from running waters.

Solà, C., Burgos, M.D., Plazuelo, A., Toja, J., Plans, M., Prat, N., 2004. Havy metal bioaccumulation and macroinvertebrate community changes in a Mediterranean stream affected by acid mine drainage and an accidental spill (Guadamar River (SW Spain) two years after the Aznalcóllar mining spill. Science of Total Environment, 333: 109-126

Solà, C., M. Plans, J. Toja, M.D. Burgos, N. Prat. 2001. El accidente de las minas de Aznalcóllar: Efectos sobre el ecosistema acuático del Río Guadamar. En De las catástrofes ambientales a la cotidianidad urbana: La gestión de la seguridad y el riesgo. II Coloquio Hispano-canadiense de Barcelona. Geocrítica. Textos de apoyo. Publ. Universidad de Barcelona: 135 pp.

Toja, J., Alcalá, E., Martín, G., Solà, C., Plans, M., Burgos, M.D., Plazuelo, A., Prat, N., 2003. Evaluación del efecto del vertido tóxico sobre la calidad del agua y los sedimentos del los ríos Agrio y Guadamar. En En J.M. Arenas, F.R. Martínez Farraco, A. Mora, C. Montes, F. Borja. (eds.): Ciencia y restauración del río Guadamar. PICOVER 1998-2002: 78-93 Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Sevilla

Toja, J., Alcalá, E., Burgos, M.D., Martín, G., Plazuelo, A., Schutter, T., Solà, C. Prat, N., 2003. Evaluación del efecto del vertido tóxico sobre las comunidades de plancton y perifiton de los ríos Agrio y Guadamar. En Ciencia y restauración del río Guadamar. PICOVER 1998-2002: 94-109. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Sevilla.

Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitt. Int. Verein. Limnol., 9: 1-38.

Vollenwider, R.A. 1969. Primary production in aquatic environments. IBP. Handbook 12: 213 pp. Blachwell Sci. Oxford.

Wetzel, R.G. 1983. Opening remarks. En Wetzel R.G. (ed.). Periphyton of freshwater ecosystems. Dr. Junk Publishers. The Hague: 3-4.