



SEGUIMIENTO Y
BIOACUMULACIÓN
DE METALES EN LAS
POBLACIONES DE
CANGREJO AMERICANO
(Procambarus clarkii)
DEL RÍO GUADAMAR
DESPUÉS DEL VERTIDO
MINERO DE AZNALCÓLLAR

PALOMA ALCORLO, MARINA OTERO, MARÍA CREHUET,
IRENE LOZANO, ANGEL BALTANÁS Y CARLOS MONTES

DPTO. ECOLOGÍA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID, E- 28049 MADRID, SPAIN

Palabras clave: metales pesados, arsénico, cangrejo americano,
Aznalcóllar, Guadamar, especie centinela

Key words: heavy metals, arsenium, red swamp crayfish,
Aznalcóllar, Guadamar, sentinel species

CAPÍTULO

11

Resumen

Tras el vertido tóxico producido en la balsa minera de Aznalcóllar (abril de 1998) y hasta finales de 2005, se ha realizado el seguimiento de las poblaciones de cangrejo americano (*Procambarus clarkii*) en la cuenca del río Guadiamar. Este estudio ha permitido constatar la incidencia modesta de la especie en la mayor parte de la cuenca, excepción hecha del tramo de Entremuros. Esta circunstancia se explica por la naturaleza rocosa y dura que caracteriza a los tramos alto y medio del río Guadiamar, que no constituyen un hábitat idóneo para esta especie. La zona donde desarrollan poblaciones abundantes y estables corresponde al tramo bajo que, con sustrato arcilloso y gran cantidad de vegetación helofítica litoral acompañada de una abundante comunidad de invertebrados, proporciona áreas óptimas de refugio y pone a disposición del cangrejo abundantes recursos tróficos. Con carácter general, los niveles de metales pesados y de arsénico presentes en los tejidos del cangrejo han ido disminuyendo a lo largo del periodo de estudio. No obstante, esta tendencia no se ha producido en algunos puntos aislados (tanto junto a la mina como en algunos puntos del tramo medio) lo que sugiere la existencia de focos locales de contaminación diferentes al vertido original (p.ej. efluentes urbanos e industriales de las poblaciones cercanas).

Picos accesorios de contaminación se han detectado ocasionalmente tras producirse lluvias abundantes en la zona que han movilizado los contaminantes previamente secuestrados en los sedimentos durante las fases de sequía o aguas mínimas. Como consecuencia, se observa una correlación positiva entre los caudales circulantes y la presencia de metales en los tejidos del cangrejo. Por otra parte, e independientemente de los efectos tóxicos de estos contaminantes, los años de sequía ejercen un efectivo 'control natural' sobre las abundancias de sus poblaciones al limitar severamente los espacios utilizables y reducir el potencial reproductivo de la especie.

Con respecto a los estudios experimentales realizados, se ha podido confirmar el potencial del cangrejo americano para su uso como especie bioindicadora y organismo centinela dentro de la cuenca del Guadiamar. Los cangrejos, tanto juveniles como adultos, han mostrado una notable capacidad de bioacumulación de metales pesados, capacidad que es función de la concentración de estos metales en el medio y del papel que juegan en el metabolismo de este crustáceo. Además, puesto que el cangrejo americano es una especie de amplia distribución en nuestros sistemas acuáticos (y, con frecuencia, elevada abundancia), y posee una longevidad suficiente como para poder integrar las señales ambientales que se producen a una escala operativa de varios meses, se ha considerado aconsejable recomendar el uso de *Procambarus clarkii* como especie centinela de la salud ambiental del Corredor Verde del Guadiamar.

The abundance of Red Swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*) populations along the Guadiamar River Basin and the bioaccumulation of heavy metals and arsenic in its body tissues, have been monitored from April 1998, when the Aznalcóllar mine spill occurred until the end of 2005. Except in its lower section, locally called Entremuros, scarce and small populations are found in most part of the Guadiamar River basin because of the unsuitable rocky substrate present in the upper and middle sections of the river for this species. Red swamp crayfish populations are abundant and stable in the lower section of the river with its soft and muddy substrate and with an important amount of helophytic vegetation and harbouring an abundant community of invertebrates.



Abstract

Guadamar River basin. Juveniles and adults crayfish have shown a remarkable capacity for bioaccumulating heavy metals and arsenic. The amount of heavy metals stores depends on the concentration of these elements in the surrounding environment and on role in the metabolism of this crustacean.

Since this crayfish species is able to integrate the environmental signals that they take place on an operative scale of several months and is widely distributed in our aquatic systems, frequently with high abundant populations we propose to implement the use of *Procambarus clarkii* as a sentinel species to monitor the environmental health of the Guadamar River.

This provides optimal shelter areas and trophic resources for crayfish. In addition, years of drought exert a “natural control” on crayfish populations severely limiting the habitat availability and reducing the reproductive potential of the species.

Concentration of heavy metals and arsenic in crayfish tissues decreased with time throughout the study period. Despite of this tendency there are still some isolated sites (near the mine and in the middle section of the river) which currently receive contamination inputs other

than the original spill (i.e. urban and industrial outflows from near populations). Other events of contamination have been occasionally detected after rainfalls in the zone which were able to mobilize the polluting agents trapped in sediments during the phases of drought or minimum waters. This explains the positive correlation between water flow and the presence of metals in crayfish tissues.

Our experimental results confirm the potential use of the red swamp crayfish as a bioindicator and sentinel species in the

11

Introducción

LOS ECOSISTEMAS FLUVIALES con un buen estado ecológico realizan funciones que generan servicios ecosistémicos que afectan directa o indirectamente al bienestar humano (Postel & Richtner 2003). Por esta razón se invierten grandes sumas de dinero en proyectos de restauración de los ríos en diferentes regiones del globo (Palmer et al. 2005), especialmente si han sufrido catástrofes ecológicas como la del vertido minero de Aznalcóllar. El éxito socioecológico de un gran proyecto de restauración fluvial ha de ser evaluado, una vez finalizado, respondiendo a cuestiones tales como, ¿ha sido

eficientemente invertido el coste económico del proyecto? ¿Están satisfechos con el resultado final los distintos actores que han participado en el mismo? ¿Es dicho resultado estéticamente agradable? ¿Se ha desarrollado alrededor del río una infraestructura importante? ¿Han aumentado, en las poblaciones humanas afectadas, los servicios culturales como el ocio, recreación, turismo de naturaleza, así como las actividades de educación ambiental, centrados en el río? ¿Se ha mejorado el estado del conocimiento científico del río? ¿Se ha visto enriquecida la ciencia de la restauración con esta experiencia?

En nuestro caso, en el contexto de la cuenca del Guadamar, muchas de estas preguntas pueden ser respondidas. Se puede decir que el enfoque multidisciplinar que se ha adoptado desde el primer momento por el equipo de técnicos y expertos de la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía y diferentes Universidades públicas de Andalucía y Madrid, basado en la gestión adaptativa (Ogden et al., 2002), ha facilitado en todo momento a los integrantes del proyecto, la revisión y corrección continua de las actividades propuestas y también, de las que estaban en ejecución. Ello ha permitido que se generasen, en un periodo relativamente corto de tiempo, tanto obras de restauración (labores de descontaminación, regeneración de los márgenes del río y de su llanura de inundación, repoblación de las riberas), de construcción de infraestructuras relacionadas con el uso público (centro de visitantes de Aznalcázar, Jardín Botánico de Buitrago, senderos de interpretación, vía verde a lo largo del río, áreas recreativas de Buitrago y Las Doblas), al mismo tiempo que se veía incrementado y actualizado el estado del conocimiento científico del río, como reflejan los numerosos trabajos científicos y técnicos presentados en congresos y reuniones nacionales e internacionales, así como en las publicaciones realizadas.

A continuación se expone un resumen de las actividades realizadas y los principales resultados obtenidos por el equipo de seguimiento del cangrejo americano (*Procambarus clarkii*) del Departamento de Ecología de UAM a lo largo de un periodo que abarca desde la puesta en

LA RESTAURACIÓN ECOLÓGICA DEL RÍO GUADAMAR SE HA REALIZADO EN EL MARCO DE LA GESTIÓN ADAPTATIVA, PERMITIENDO UN FLUJO CONTINUO DE INTERCAMBIO DE INFORMACIÓN ENTRE LOS DISTINTOS ACTORES IMPLICADOS (TÉCNICOS, EQUIPO CIENTÍFICO, GESTORES ADMINISTRACIÓN) QUE HA POSIBILITADO LA REVISIÓN Y CORRECCIÓN CONTINUA DE LAS ACTUACIONES PROPUESTAS Y LAS QUE ESTABAN EN EJECUCIÓN

marcha del plan de emergencia de limpieza del cauce del Guadamar en 1998 y el comienzo del Proyecto del Corredor Verde en 1999 (PICOVER) hasta 2005 (SECOVER). Todas estas actividades han formado parte del programa de investigación del Corredor Verde del Guadamar, programa orientado a evaluar la restauración y realizar el seguimiento de la biodiversidad del Guadamar tras el grave accidente de Aznalcóllar.

Las actividades aquí reseñadas se han agrupado en dos grandes categorías. En primer lugar, aquellas dirigidas a estimar el impacto del accidente sobre las poblaciones de cangrejo americano en la cuenca del Guadamar. Este objetivo se ha desarrollado, fundamentalmente, a través del muestreo extensivo in situ y la estimación del cambio temporal en las abundancias de las poblaciones de cangrejo y del incremento de los niveles de metales pesados en los cangrejos individuales. El segundo grupo de actividades han tenido un enfoque marcadamente experimental y su objetivo ha sido el de caracterizar las respuestas del cangrejo americano a la contaminación específica generada por el 'cóctel' de elementos traza vertido desde la balsa de Aznalcóllar con el fin de emplear a esta especie invasora como indicador ambiental en la zona.

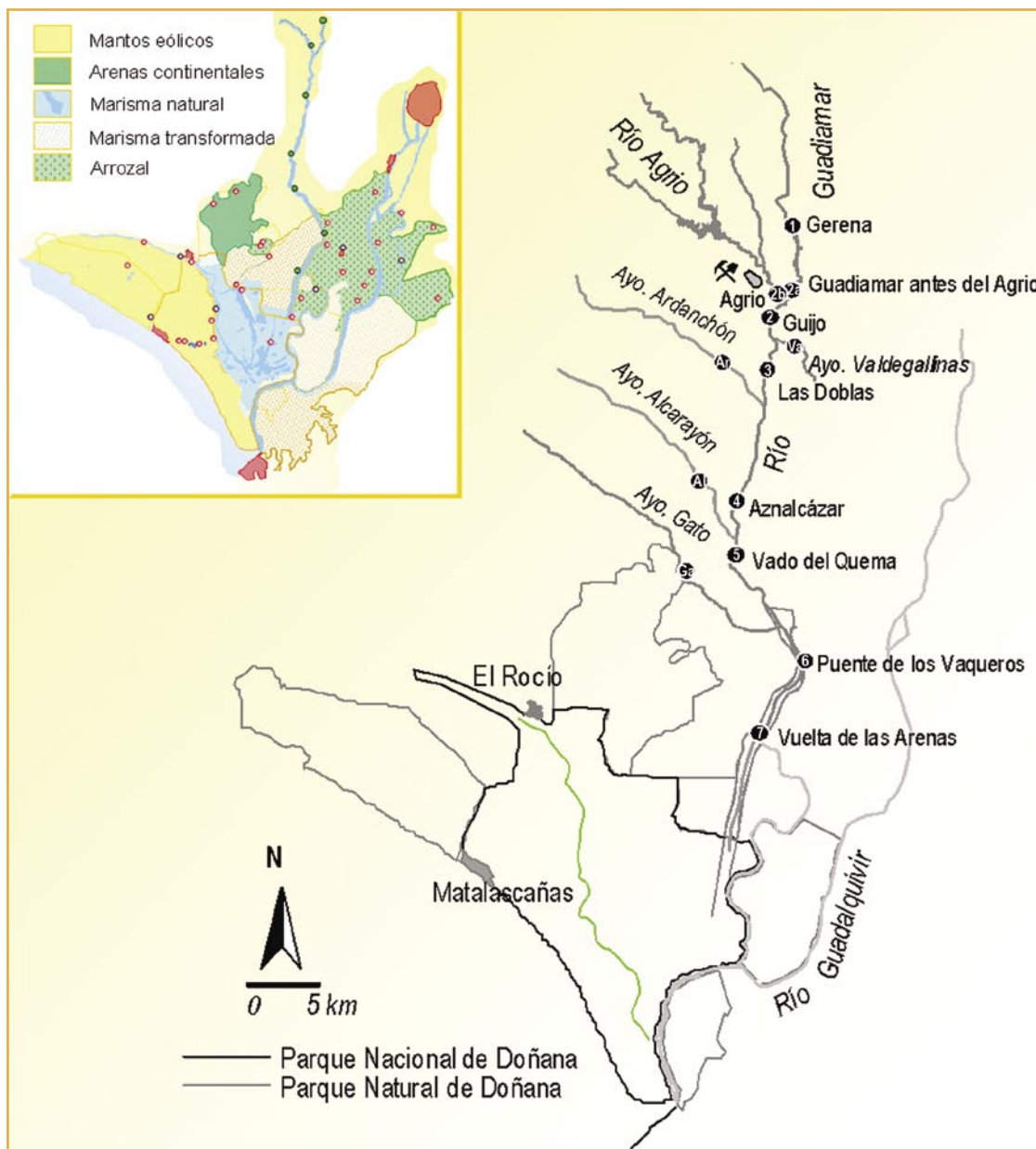


Figura 1. Localización de las estaciones de seguimiento de cangrejo americano en la cuenca del Guadiamar para el Corredor Verde del Guadiamar (marzo 1999-noviembre 2005). En la esquina superior izquierda de la figura se representa un esquema de las estaciones que fueron visitadas en las prospecciones extensivas de 1998, se resaltan en verde las que fueron incluidas más adelante en la Red de calidad ambiental del Guadiamar.

Figure 1. Location of sampling sites in the Guadiamar Basin (March 1999-November 2005) for the American crayfish monitoring. The map placed on the left corner above, shows a scheme of the former extensive sampling campaigns of 1998 where the sites which were afterwards included in the environmental monitoring program of the Green Corridor of Guadiamar, are green-coloured.

IMPACTO DEL VERTIDO MINERO EN LAS POBLACIONES DE CANGREJO

M E T O D O L O G Í A

Localización de las estaciones de muestreo

En 1998, tras el accidente, se realizaron las primeras capturas de cangrejos en diferentes localizaciones de la Cuenca del Guadiamar y del Entorno de Doñana para caracterizar la contaminación por metales pesados de sus poblaciones. Posteriormente, a medida que las tareas de limpieza y restauración del cauce avanzaban y, se iban obteniendo datos sobre el estado de la contaminación y abundancia de las poblaciones de los distintos organismos acuáticos, se estableció una Red de Calidad del Guadiamar con unas determinadas estaciones de muestreo que se han venido siguiendo para los cangrejos desde la primavera de 1999 a noviembre de 2005 (Figura 1, página anterior).

Captura de cangrejos

La captura de ejemplares de cangrejo se realizó mediante el empleo de nasas de almohada (trampas de diseño propio, de estructura horizontal y 4 bocas de entrada para los cangrejos, fabricadas con red plástica de 1 cm de luz de malla). Con este tipo de trampas se pretende disminuir al mínimo la posibilidad de capturar otros organismos diferentes del cangrejo, particularmente anfibios y reptiles (Foto 1).

El número de nasas por punto de muestreo varió entre un mínimo de 4 y un máximo de 6. Las trampas se revisaron cada 24 horas, permaneciendo en campo 1 ó 2 días, dependiendo de las capturas obtenidas. En todas ellas se utilizó cebo de pescado fresco (bacaladilla o sardinas).

Una vez capturados los cangrejos, fueron lavados, pesados, medida su longitud (Foto 2a y 2b) y guardados individualmente en bolsas de plástico de autocierre convenientemente rotuladas en neveras hasta su llegada al laboratorio donde fueron congelados hasta el momento del análisis.



Foto 1. Tipo de trampas empleadas para la captura de cangrejo.

Photo 1. Design of the crayfish's trap used.

Procesado de cangrejos para determinación de metales pesados y arsénico

Los contaminantes medidos en cangrejo fueron los metales pesados, cobre (Cu), cinc (Zn), plomo (Pb), cadmio (Cd) y, el metaloide arsénico (As). Las determinaciones se hicieron sobre un homogeneizado de los cangrejos individuales y enteros que fueron digeridos en fresco en el Laboratorio de Vigilancia y Control de la Contaminación de la Junta de Andalucía en Huelva.

Para la determinación de Cu, Pb, Cd y Zn la muestra de cangrejo (2 g. aprox.) se sometió a una digestión en horno de microondas con 10 ml de ácido nítrico 65 % Suprapur. Se dejó en maceración durante 20-30 minutos, introduciéndose posteriormente en un digestor de microondas (CEM, Microwave Digestion System 2100) donde se digiere según el programa App. Note BI-7 "EPA 2053".

Las muestras digeridas se diluyeron con agua desionizada hasta un volumen de 50 ml, a continuación se filtraron mediante vacío a través de filtros de fibra de vidrio Whatman de 47 μ m. El filtrado resultante se diluyó con agua desionizada una segunda vez, hasta alcanzar un volumen final de 100 ml.

El volumen total se recogió en botes de vidrio/polietileno para la determinación de Cu y Zn mediante espectrometría de absorción atómica con llama aire acetileno; la de Pb y Cd mediante atomización electrotérmica en cámara de grafito, calibración estándar y, As mediante cámara de grafito, calibración por adición interna, donde cada muestra es utilizada para realizar la calibración del equipo y su posterior determinación.

Todos los datos se presentan en ppm (μ g/g) de peso fresco. La decisión de expresar los resultados en peso fresco responde a la necesidad de comparar estos valores con los que la legislación marca como máximos para los crustáceos destinados a consumo humano y que son de 20, 1 y 1 ppm para el Cu, Cd y Pb respectivamente (ORDEN 2 de agosto de 1991, BOE 195, 15 de agosto de 1991). No existen límites establecidos para el Zn, aunque la mayoría de las regulaciones internacionales lo fijan en 50 ppm (si bien se fijan límites inferiores en



2a



2b

Foto 2. Toma de medidas de longitud (2a) y peso (2b) en el campo.

Photo 2. Taking measurements of total length (2a) and weight (2b) in the field.

determinados países: 30 ppm en Australia y Nueva Zelanda o, 20 ppm en Gran Bretaña) (Madden et al., 1991). Lo mismo ocurre para el arsénico inorgánico, cuyo límite máximo permitido suele ser 1 ppm en peso fresco (límite establecido fundamentalmente para los organismos marinos que, en general, contienen grandes cantidades de arsénico si se comparan con la biota terrestre o continental (Phillips & Depledge, 1986).

Evolución de la abundancia de las poblaciones de cangrejo americano (CPUE)

Todas las prospecciones anuales realizadas tanto para el PICOVER como para el SECOVER se llevaron a cabo en los momentos más propicios para el desarrollo de las poblaciones de cangrejo (primavera y otoño en los ambientes que nos ocupan), siempre que fue posible. Sin embargo, en el año 2000, el muestreo de 'primavera' se

adelantó a febrero para registrar las posibles variaciones en las poblaciones de cangrejo a consecuencia de las intensas lluvias acaecidas durante el otoño. Otro cambio en el programa de muestreo fue que en 'otoño' de 2005 la prospección se pospuso hasta la llegada de las lluvias a finales de Noviembre de 2005, dado que resultó ser un año muy seco.

En la Figura 2 se presenta la evolución de los valores medios anuales de las CPUE (nº de individuos capturados por unidad de esfuerzo) medidas en las 9 estaciones del seguimiento de la contaminación del Guadiamar. Se observa como éstas han resultado muy bajas a lo largo de todo el estudio desde 1999, especialmente en las estaciones del tramo alto del río de lecho más rocoso, cuyos valores de CPUE apenas superaron 1 cangrejo/trampa/día. El impacto generado por el efecto del vertido tóxico y las posteriores labores de limpieza (una primera fase inmediatamente después del vertido y una segunda fase que ha tenido lugar a finales del verano del 99) pueden explicar la ausencia casi total de ejemplares de cangrejo en la zona durante el periodo de verano 1998-1999. Sin embargo, a partir de 2000 comienza una recuperación notable

de las densidades de las poblaciones de cangrejo en el cauce del Guadiamar.

Los valores más altos de las CPUE en todas las estaciones se obtuvieron en la primavera de 2001. Concretamente, el valor máximo del periodo de seguimiento 1998-2005 se obtuvo en Puente Vaqueros, Entremuros, con casi 40 cangrejos por nasa y por día. Esta última estación es la que siempre ha presentado más cangrejos en la cuenca del Guadiamar ya que constituye un hábitat más favorable para el cangrejo con sedimento limo-arcilloso donde éste puede excavar galerías para resguardarse durante las épocas de sequía (Figura 2).

Durante el periodo 2004-2005, los valores de las CPUE en las estaciones del Guadiamar (1-5, Figura 1) fueron muy bajos. Los valores más altos se obtuvieron para la estación 6 localizada en Entremuros y para el arroyo Alcarayón durante el otoño de 2004, con unos valores respectivos de CPUE de 3.5 y 5.5. Durante el año siguiente (2005), las capturas disminuyeron considerablemente, probablemente debido al fuerte impacto ejercido por la sequía, siendo los valores máximos 1.17 en Puente Vaqueros y 0.17 en el Arroyo Alcarayón, en las cercanías

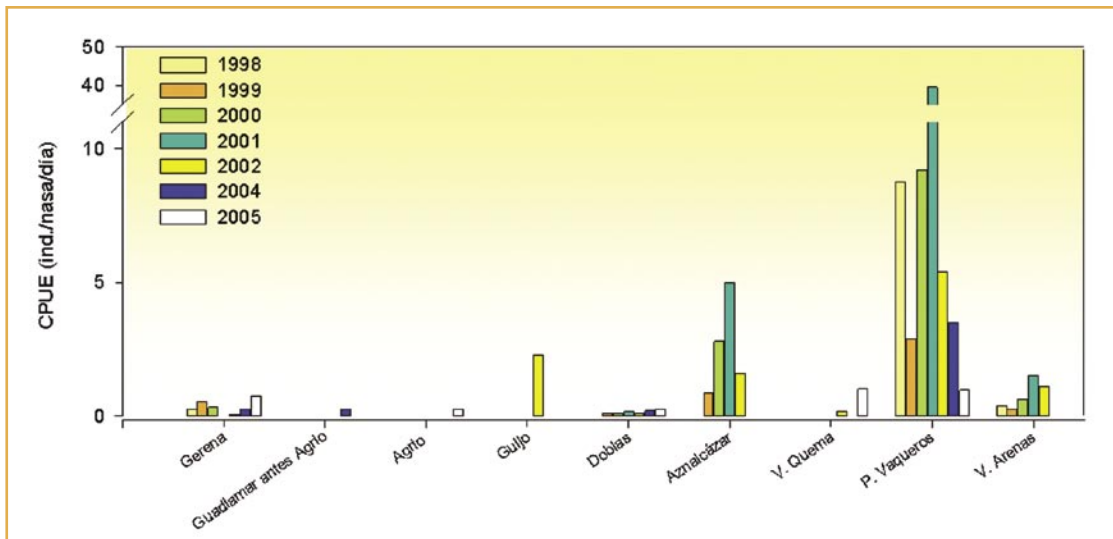


Figura 2. Evolución de la CPUE media anual en cada estación de seguimiento del Corredor Verde del Guadiamar (1998-2005).

Figure 2. Evolution of annual average CPUE at each sampling site of the Green Corridor (1998-2005).

de la población de Pilas. Estos resultados coinciden con la tendencia de crecimiento de las poblaciones que venía observándose en la zona en los años anteriores.

Estos resultados apuntan a que, aunque no se poseen datos anteriores al vertido sobre la presencia de cangrejos en el río Guadamar, el cangrejo probablemente nunca haya sido muy abundante en el río, dadas las características propias del hábitat, poco adecuado para el establecimiento de poblaciones densas de esta especie, salvo en el tramo bajo del río.

En general, como se ha observado para todos los grupos de seguimiento del Corredor Verde del Guadamar, la concentración de metales pesados ha ido disminuyendo respecto al tiempo desde el accidente minero a lo largo del río en función de la distancia a la mina (Figura 2). Sin embargo cabe destacar que el tramo de río comprendido entre las Doblas-Vado del Quema presenta una capacidad menor que el resto de las estaciones para disminuir la concentración de los contaminantes, superando los límites legales admisibles para consumo humano (Cd: 1 ppm BOE 195 del 15/08/1991; Pb: 0.5 ppm CE Reglamento 466/2001) probablemente debido a los aportes urbanos e industriales que se realizan en esta área.

Evolución del contenido en metales pesados y As en los tejidos de cangrejo

Además de esta tendencia general en todas las estaciones, también se puede observar un incremento en los valores medios de la concentración de metales cuando los muestreos se realizaron tras episodios de fuertes lluvias que, supuestamente, provocaron la remoción de los sedimentos liberando hacia el medio fracciones biodispo-

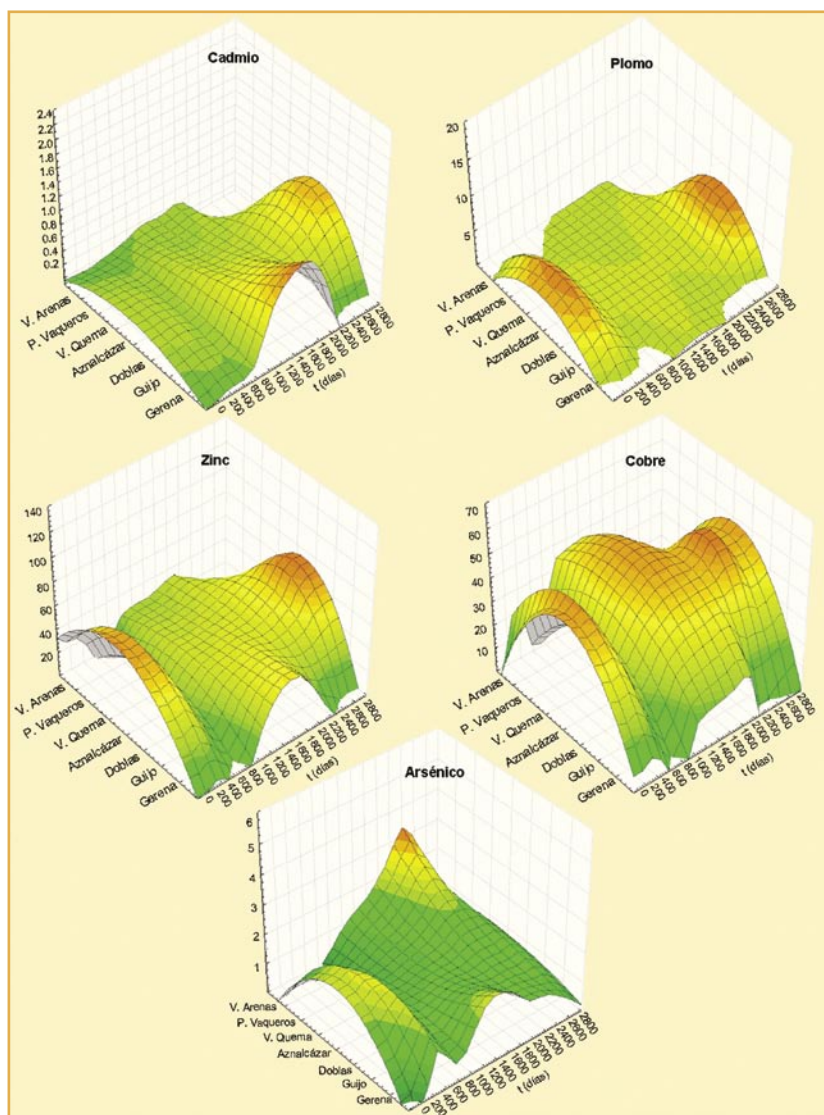


Figura 3. Evolución de la concentración de los metales pesados y As medidos en los cangrejos capturados en las siete estaciones de seguimiento (1998-2005). Obsérvese que el tiempo se ha expresado en días transcurridos desde el vertido. Todos los metales están expresados en $\mu\text{g/g}$ peso fresco.

Figure 3. Evolution of heavy metal and As concentrations measured in crayfish captured at the seven sampling sites (1998-2005). Time is expressed as days that have happened since the Aznalcóllar mine spill. All metals are expressed as $\mu\text{g/g}$ fresh weight.

EFECTO	g.l.	Cd		Pb		Cu		Zn		As	
	(efecto, error)	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
Estación	6,335	37.7961	<0.01	21.1423	<0.01	3.8337	<0.01	6.4545	<0.01	2.9999	<0.01
Tiempo (días transcurridos)	6,335	4.7328	<0.01	74278	<0.01	8.1934	<0.01	11.2554	<0.01	7.0767	<0.01
Estación x tiempo	18,335	5.1332	<0.01	4.6083	<0.01	2.7161	<0.01	2.8025	<0.01	3.1894	<0.01

Tabla 1. ANOVA de dos vías que examina la variación en los contaminantes medidos en los cangrejos de las siete estaciones de seguimiento intensivo de sus poblaciones en el periodo de estudio (1998-2005) del Corredor Verde del Guadiamar.

Tabla 1. Two-way ANOVA comparing contaminants between time (1998-2005) and the seven sampling sites of the Green Corridor.

nibles que fueron incorporadas a la biomasa. Esto sucedió en 2002 (Toja et al. 2003) y de nuevo en noviembre de 2005, tal y como puede observarse para el As en Puente de los Vaqueros (Figura 3, página anterior).

Al analizar con más detalle el comportamiento de cada metal en cada estación, se observa que el cinc y el cobre siempre son los que presentan mayores concentraciones en todas las estaciones (Figura 3). Es difícil precisar el grado de toxicidad que puedan ejercer estas concentraciones para el cangrejo americano, ya que este crustáceo posee una gran capacidad de manipu-

lación de los niveles de estos dos metales en su hemolinfa en función de su estado fisiológico, ya que forman parte de sus pigmentos respiratorios (Allinson et al. 2000). Aunque posiblemente una exposición crónica a altas concentraciones de cinc y cobre que superase su capacidad de regulación podría llegar a producir efectos subletales en las poblaciones de cangrejo. Entre estos problemas podemos mencionar, cambios histológicos o morfológicos en los tejidos, cambios en la fisiología como supresión del crecimiento y desarrollo, cambios en la bioquímica del organismo, tales como en la actividad enzimática, y química de la sangre, trastornos del comportamiento y cambios en la reproducción (Zia & Alikhan, 1989; Rainbow, 1997).

LA CONCENTRACIÓN DE METALES PESADOS EN LOS TEJIDOS DE LOS CANGREJOS, ASÍ COMO DE AS, SIGUE MOSTRANDO ACTUALMENTE UNOS VALORES ALTOS EN LAS ESTACIONES MÁS CERCANAS A LA MINA Y EN LAS DEL TRAMO MEDIO DEL RÍO, AUNQUE EN GENERAL, EXISTE UNA TENDENCIA A DISMINUIR SU CONCENTRACIÓN. LA CONTAMINACIÓN QUE EXISTE EN ESTE MOMENTO EN EL TRAMO MEDIO DEL RÍO GUADIAMAR (LAS DOBLAS-VADO DEL QUEMA) PROCEDE DE LOS VERTIDOS INDUSTRIALES, URBANOS Y AGRÍCOLAS DE LOS ALREDEDORES

Las concentraciones anuales medias de los elementos plomo, cadmio y arsénico, que aparecen en el tramo medio del Guadiamar pueden ejercer una influencia más letal. Se ha probado en numerosos estudios que los cangrejos responden rápidamente a las concentraciones de los elementos no esenciales para ellos en el medio tales como el plomo, el cadmio, el cromo o el arsénico, acumulándolos en sus tejidos y sirviendo como bioindicadores de los mismos (Anderson & Brower, 1978; Pastor et al., 1988; Keenan & Alikhan, 1991; Madigosky et al., 1991; Anderson et al., 1997a; 1997b; Bollinger et al., 1997). En estudios de incubación de distintas especies de cangrejos en aguas con diferentes concentraciones de plomo y cadmio durante cortos periodos de tiempo se ha comprobado que 10 semanas son suficientes para producir daños celulares irreversibles en los distintos órganos (Meyer et. al., 1991: *Astacus astacus*) y que en el río Guadiamar, 6 días son

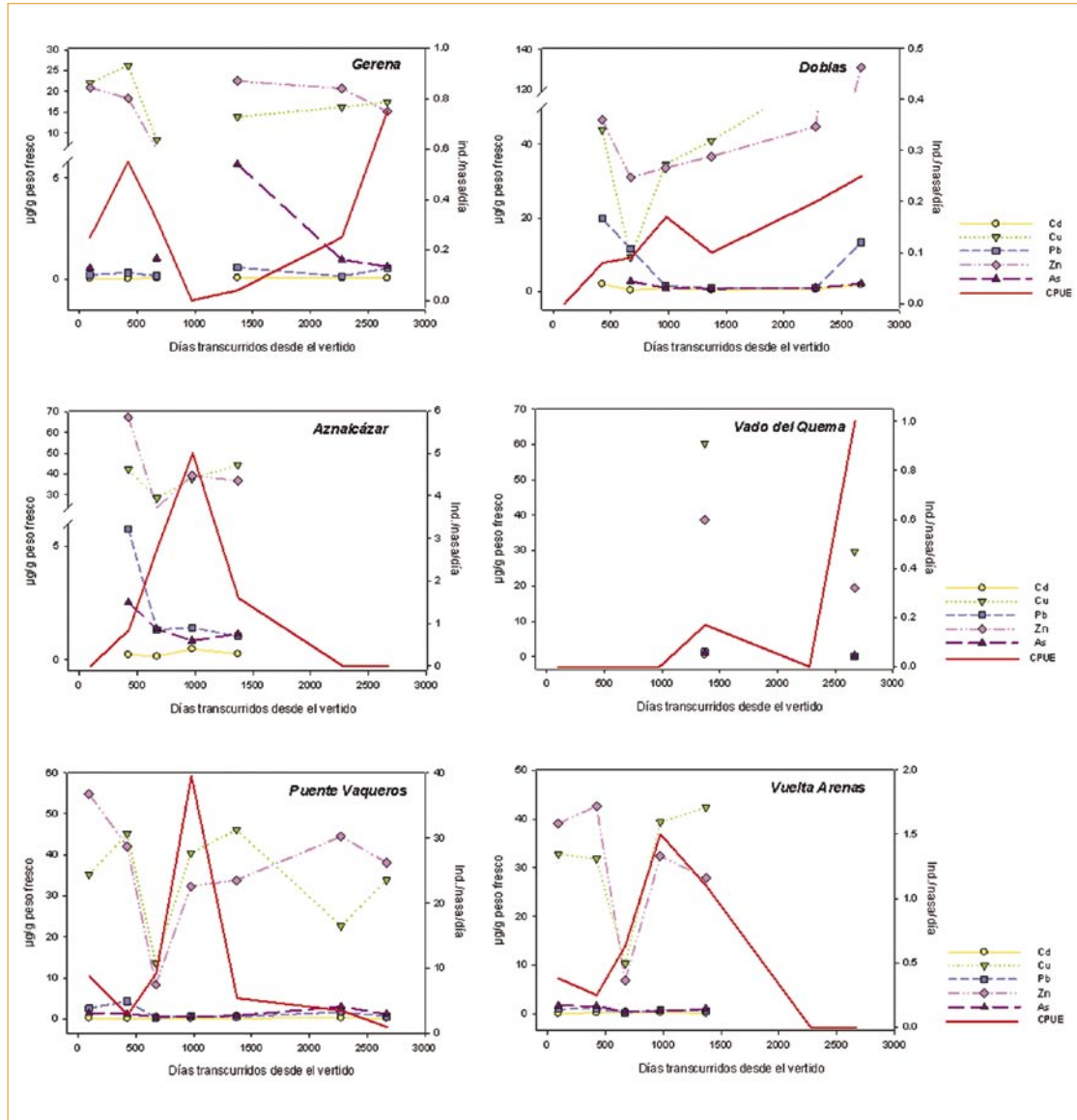


Figura 4. Evolución de las concentraciones anuales medias de metales pesados y As y CPUE anual media en cada estación de seguimiento.
Figure 4. Evolution of annual average concentration of heavy metals and As and annual average CPUE measured in the seven sampling sites.

suficientes para reflejar la contaminación ambiental de estos elementos, como se comentará más adelante.

La incidencia de estos contaminantes en el medio natural en la estación de referencia (Gerena) y las de

Entremuros (Puente Vaqueros y Vuelta Arenas) ha ido disminuyendo paulatinamente a medida que ha pasado el tiempo (Tabla 1, Figura 6). En cambio, en las estaciones del tramo medio, Las Doblas, Aznalcázar y Vado del Quema, no se observa esta tendencia, sino que más

bien los tóxicos parecen aumentar ligeramente (Tabla 1, Figura 4).

El comportamiento de la contaminación por metales pesados y As en este tramo del río, como se ha mencionado anteriormente y también en trabajos de otros grupos, debe obedecer a fuentes de contaminación posteriores al vertido y que siguen existiendo actualmente, ya que después de las labores de limpieza del cauce sí se observó una disminución en los niveles de estos elementos. Este aspecto debe ser tenido en cuenta a la hora de realizar la gestión de la calidad ambiental de este tramo para poder tomar las medidas de prevención de los vertidos y/o depuración de los mismos. La abundancia media de las poblaciones de cangrejos medida

como CPUE siempre ha sido bastante baja en todas las estaciones excepto en el Puente de los Vaqueros en Entremuros. En general parece que desde 1998 a 2001 las poblaciones se van recuperando poco a poco, a medida que también va descendiendo la contaminación pero luego no sigue aumentando, como sería de esperar. Este comportamiento puede obedecer al fuerte impacto que han sufrido las poblaciones de cangrejo a consecuencia de los años de sequía 2003-2004 (Figura 4). Se puede concluir, por lo tanto, que los episodios de sequías y avenidas caracterizados para este río típicamente mediterráneo (Sánchez-Juny et al. 2003) condicionan de manera notable la abundancia y distribución de las poblaciones de cangrejos, así como los picos de contaminantes detectados.

EL CANGREJO AMERICANO COMO BIOINDICADOR Y ESPECIE CENTINELA

E X P E R I M E N T O 1

Efectos de la contaminación por metales pesados y arsénico en el cangrejo americano

El objetivo de este experimento llevado a cabo en el laboratorio, fue estimar el impacto que el 'cóctel' de elementos químicos contenido en el vertido tóxico tiene sobre la supervivencia y el crecimiento del cangrejo americano, así como los cambios que se puedan producir en su comportamiento (ingesta y muda).

En noviembre 2002 se recolectaron 150 individuos juveniles de un arrozal de Isla Mayor (Sevilla) y se trasladaron al laboratorio. Tras su aclimatación, se seleccionaron 105 individuos con longitudes de cefalotórax (distancia entre el comienzo del cefalotórax y el final del rostrum) similares, que se repartieron aleatoriamente en tres tratamientos (cada uno con 35 individuos) que se incubaron durante 20 semanas bajo distintos niveles

SOLUCIÓN	As (ppm)	Cd (ppm)	Cu (ppm)	Pb (ppm)	Zn (ppm)
Reactivo	As ₂ O ₃	3CdSO ₄	8H ₂ O CuSO ₄	5H ₂ O Pb(NO) ₃	ZnSO ₄ 7H ₂ O
A-Control	0	0	0	0	0
B-Metales 1	0.015	0.015	0.05	0.03	0.6
C-Metales 2	0.045	0.15	0.18	0.275	2

Tabla 2. Concentración de los reactivos empleados para las soluciones experimentales.

Table 2. Concentration of reactants used to do the experimental solutions.

de contaminación: Tratamiento A, control o ausencia de contaminación; B, contaminación baja; C, contaminación alta (el doble que en B) (Tabla 2).

En cada tratamiento, cada cangrejo se dispuso en una cajita que contenían 125 ml de la solución experimental correspondiente (Tabla 2) y éstas, a su vez, fueron colocadas en bateas grandes por las que circulaba agua a 22 °C gracias a unos termocalentadores (Foto 3) que mantenían la temperatura constante.

Diariamente (5 días laborables por semana), se les renovaba la solución experimental correspondiente, se retiraban las heces y se añadían pequeños trozos de hígado de pollo como alimento. La duración del experimento se fijó a priori como el tiempo de exposición necesario para que se produjera la muerte de todos los individuos. Los cangrejos, inmediatamente, después de su muerte eran congelados hasta su análisis.

A lo largo del experimento se registraron las siguientes variables:

Ingesta - medida diariamente y estimada como el número de días en los que el cangrejo ingiere el alimento en relación al número total de días que han vivido (días ingesta/longevidad).

Muda – medida diariamente y estimada como el número de mudas totales realizadas por los ejemplares de cangrejo a lo largo de su vida (nº mudas/longevidad).

Crecimiento –semanalmente, y para cada individuo, se procedía a medir la longitud del cefalotórax (como estimador del tamaño del mismo) para, finalmente, estimar la tasa de crecimiento individual semanal y total (ésta se calculó como [Tamaño Inicial – Tamaño Final]/tiempo).

Longevidad – estimada como el número total de días vividos por cada individuo en cada tratamiento.

Bioacumulación - concentración de Cu, Zn, Cd, Pb y As presentes en los tejidos de los cangrejos en los distintos tratamientos (expresada en µg/g peso seco).



Foto 3. Funcionamiento de la batea de uno de los experimentos.

Photo 3. Design of the experimental tanks used.

Procesado de cangrejos para determinación de metales pesados y arsénico

Los cangrejos se descongelaron a temperatura ambiente, se pesaron y luego se secaron en una estufa a 80°C durante dos horas. Posteriormente se pesaron, trituraron mediante el uso de morteros de vidrio para homogeneizar la muestra y se enviaron al laboratorio de ICP/MS de la unidad de análisis elemental del SIDI (Servicio Interdepartamental de Investigación de la UAM). El material empleado durante el proceso fue limpiado cuidadosamente con ácido nítrico y enjuagado con agua destilada tras su uso para evitar posibles contaminaciones de las muestras. Los análisis de metales pesados y As se realizaron utilizando un espectrómetro de absorción atómica ICP-MS Elan 6000 Perkin-Elmer Sciex, equipado con un autosampler AS-91 y corrección para la Cámara de grafito siguiendo el mismo protocolo explicado anteriormente para los análisis de las muestras de la fase de seguimiento.

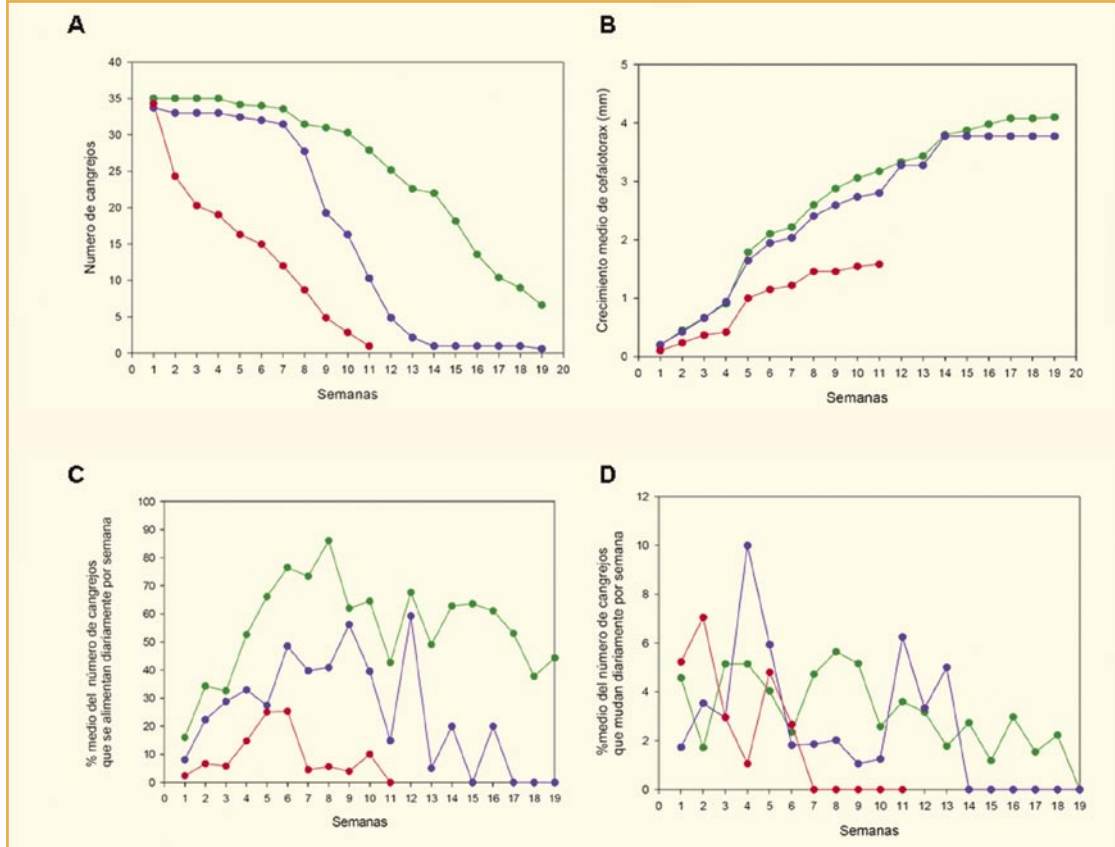


Figura 5. Evolución de las variables biológicas medidas a lo largo del experimento de incubación. En verde se representa el tratamiento A, en azul el tratamiento B y en rojo el tratamiento C. El recuadro A representa la supervivencia semanal media (longevidad), B: el crecimiento medio del cefalotórax (mm), C: la ingesta semanal media expresada como el porcentaje de cangrejos que se alimentan al día y, D: porcentaje de cangrejos que mudan diariamente (Lozano, 2004).

Figure 5. Evolution of the biological variables measured throughout the incubation experiment. Green-coloured lines correspond to treatment A, blue lines to Treatment B and the red ones to treatment C. Box A represents longevity, B: cephalothorax mean growth (mm), C: weekly average food intake and, D: percentage of daily moulted crayfish (Lozano, 2004).

Resultados y Discusión

La evolución de las variables biológicas medidas a lo largo del experimento se representa en la Figura 5. Se han comparado las curvas de supervivencia asociadas a cada tratamiento entre sí (método de Kaplan-Meier) constatándose la existencia de diferencias significativas entre las mismas ($\chi^2=57.985$, $p<0.0001$, $n=105$). A medida que aumen-

ta la dosis de la contaminación el número de ejemplares disminuye con el paso de las semanas. Los cangrejos del tratamiento C mueren más rápidamente (la mortalidad del 50 % se alcanza a las 5 semanas) que los del tratamiento B (la mortalidad 50 %: 10 semanas) y éstos, a su vez, que los cangrejos de referencia (mortalidad 50 %: 15 semanas) (Figura 5A) (Lozano, 2004).

El crecimiento medio de los individuos (i.e. tamaño final-tamaño inicial) fue, en general, bajo incluso para los cangrejos crecidos en ausencia de contaminantes (3 mm) mientras que el crecimiento medio correspondiente a los tratamientos B y C fue de 2.42 mm y 0.78 mm respectivamente. A lo largo del periodo experimental el aumento en longitud de cefalotórax (Figura 5B) se ajustó a una forma casi lineal, destacando una máxima pendiente para todos los tratamientos entre la cuarta y la séptima semana.

Respecto a la ingesta, se observó que los cangrejos control se alimentaron más (41.5 ± 19.0 días) en comparación con los 13.3 ± 8.9 y 2.5 ± 2.7 días de los tratamientos B y C, respectivamente, esta diferencia además resultó significativa estadísticamente ($F_{(2,43)} = 17.1811$, $p < 0.0001$) (Figura 5C).

Para interpretar el patrón de mudas encontrado para cada tratamiento se calculó el El MMI (Mean Molt Interval) [Intervalo de Muda Medio] que es un parámetro utilizado en granjas astacícolas que compara el intervalo de tiempo medio desde que los cangrejos fueron metidos en las balsas de cultivo hasta que se produce la primera muda (Chen et al, 1995). En nuestro caso, desde que empezó el experimento hasta la primera muda los MMI fueron de 22.5 días para A; 11.7 días para B; y, de 8.4 días para C (Figura 5D).

La concentración interna de los distintos contaminantes en los tejidos de juveniles de *P. clarkii* varió en función del tratamiento experimental. En general, se cumple un patrón de contenido interno de metales con el siguiente orden: $A < B < C$ (Figura 6).

La gran acumulación de Cu en los tejidos de cangrejo ($905.84 \mu\text{g/g}$ de media en tratamiento A, $1080.25 \mu\text{g/g}$ en B y $595.35 \mu\text{g/g}$ en C) es debida a la utilización de este metal como un elemento esencial en el metabolismo del cangrejo americano (Rainbow, 1995).

El Zn, es otro de los elementos esenciales para *P. clarkii* y los niveles de ambos metales son regulados y controlados en los crustáceos decápodos dentro de ciertos

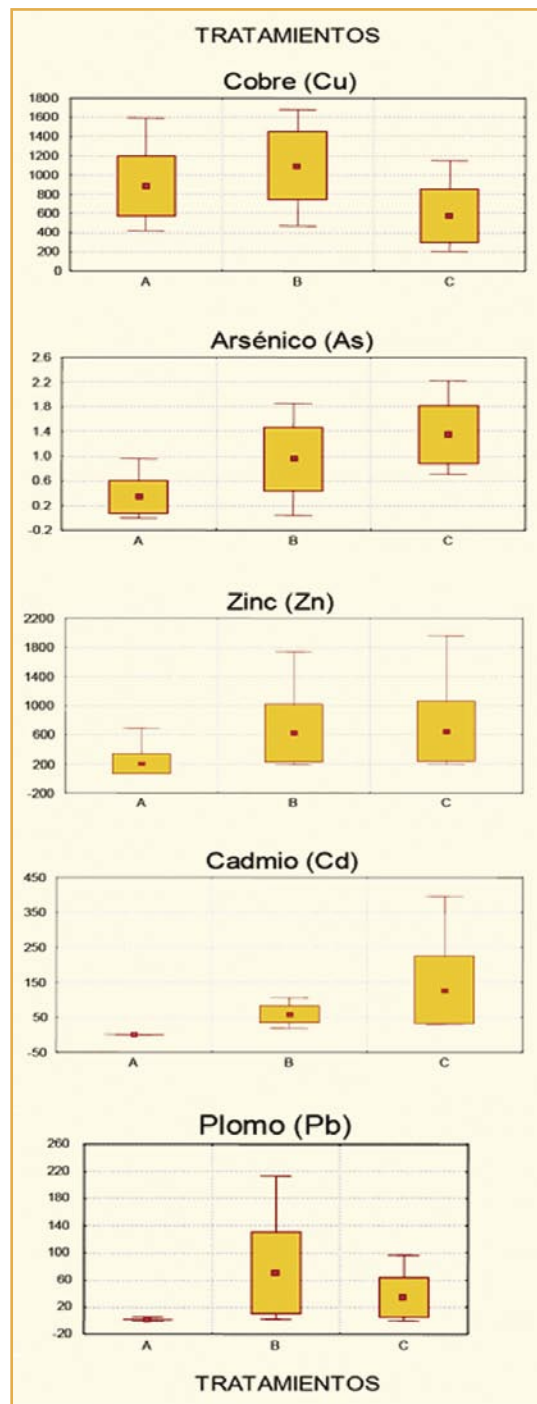


Figura 6. Bioacumulación de metales en juveniles de cangrejo rojo por tratamiento. (Lozano, 2004).

Figure 6. Metal bioaccumulation in American crayfish juveniles per treatment. (Lozano, 2004).

límites (Stinson & Eaton, 1983, Dickson et al, 1979, Depledge et al, 1993).

Otros elementos como el plomo, cadmio y arsénico, al no ser esenciales, tienden a ser desintoxicados por metalotioninas (Pastor et al, 1988, Depledge et al, 1993) o almacenados en gránulos que son acumulados en el organismo (Anderson et al, 1997a, Anderson et al, 1997b, Dickson et al, 1979, Zia & Alikhan, 1989), por lo que sus concentraciones en los tejidos son correlativas a las del ambiente y, por lo tanto, existe bioacumulación de los mismos (Rainbow 1997).

El patrón de acumulación del plomo fue comparable al del cobre. La longevidad de los individuos del tratamiento B permitió la acumulación de una cantidad mayor de metales con lo que su concentración en el interior de los cangrejos parece ser dependiente del tiempo (Figura 6). Según Martínez et al. (1994) las diferencias que encontraron entre un grupo control y el grupo experimental expuesto a niveles de plomo se debían más al tiempo de exposición que a la dosis o tipo de tratamiento.

Por otra parte, el plomo es un elemento que suele acumularse por adsorción en el exoesqueleto (Anderson et al. 1997a y b) y, el proceso de muda de los organismos, actúa como mecanismo para la desintoxicación de este compuesto (White & Rainbow, 1984, Rincón-León et al, 1988, Depledge et al, 1993). Si esto es así, la menor

concentración de plomo hallada en los cangrejos del tratamiento C respecto a los del B, podría explicarse por los cortos periodos de intermuda que permitirían la eliminación continua de este metal. El cadmio es 722.66 veces más tóxico que el plomo (Naqvi & Howell, 1993) y se acumuló en concentraciones mayores que éste (56.77 y 132.27 $\mu\text{g Cd/g}$ para B y C, respectivamente frente a los 71.9 y 36.64 $\mu\text{g Pb/g}$), siendo más propenso a ser acumulado en los tejidos de *P. clarkii* que el Pb (Naqvi & Howell, 1993). Por lo demás, el patrón de acumulación de As en cangrejos se ha encontrado que es dosis-dependiente (Naqvi et al. 1990), como sucede con el Zn. Este comportamiento podría explicar por qué ambos metales muestran patrones de variación similares para los tratamientos B y C (Figura 6).

Finalmente, se puede concluir que el nivel de contaminantes tóxicos del tratamiento C produce efectos letales en juveniles de *Procambarus clarkii*, mientras que en el tratamiento B, estos efectos no están tan marcados. La concentración presente en el medio del tratamiento B no ejerce el mismo efecto en las variables biológicas que en el tratamiento C, probablemente porque las concentraciones del tratamiento B corresponden a niveles que los juveniles de cangrejo puedan regular. Además de mantener sus funciones biológicas dentro de ciertos límites como los encontrados en el río Guadamar tres años después del desastre minero (tratamiento B), el cangrejo americano ha demostrado reflejar el nivel de sustancias tóxicas del medio.

EXPERIMENTO 2

Bioacumulación de metales pesados y capacidad bioindicadora del cangrejo americano

El objetivo de este experimento fue evaluar la utilidad del cangrejo americano como bioindicador de metales pesados y metaloides mediante la translocación de cangrejos no contaminados a tres puntos del Guadamar afectados de diferente manera por el vertido (Guijo, Doblas y Puente de los Vaqueros).

Para ello, en mayo de 2002, se adquirieron en una procesadora de cangrejo local los individuos que se utilizarían posteriormente en el experimento. De esta partida, 14 de ellos se consideraron los individuos "control" (50 % machos y 50 % hembras) y se congelaron hasta el momento del análisis del contenido en metales pesados y arsénico. El resto de los animales (32 por estación) se repartieron en jaulas especiales construidas a tal efecto.

to (8 compartimentos cada una), guardando siempre una proporción de sexos 1:1 (Foto 4). En cada estación experimental se colocaron 4 jaulas fijadas al sedimento con palos de modo que los cangrejos estuviesen en contacto con el mismo y con los recursos tróficos allí presentes (macrófitos, perifiton y macroinvertebrados). Tras 6 días de exposición (t6), 2 de las jaulas, escogidas al azar, fueron retiradas de cada estación y los cangrejos fueron congelados. El mismo procedimiento se repitió después de otros 6 días (t12). Además, al comienzo del experimento en cada estación se recolectaron muestras de sedimento para determinar el nivel basal de contaminación.

Procesado de cangrejos para determinación de metales pesados y arsénico

Los cangrejos se descongelaron a temperatura ambiente y se diseccionaron en sus diferentes tejidos: músculo (importante para consumo humano), hepatopáncreas (órgano muy activo metabólicamente y que secuestra los metales proporcionando una medida integrada de los niveles de contaminación en función del tiempo de exposición a los mismos) y exoesqueleto con branquias (tejido donde frecuentemente son excretados los contaminantes). Los músculos y exoesqueletos se secaron en una estufa a 80 °C durante 48 horas, y los hepatopáncreas se incineraron en una mufla durante 2 h a 550 °C. Posteriormente, se trituraron mediante el uso de morteros de vidrio para homogeneizar la muestra y se enviaron al laboratorio de ICP/MS de la unidad de análisis elemental del SIdI. El material empleado durante el proceso fue limpiado cuidadosamente con ácido nítrico y enjuagado con agua destilada tras su uso para evitar posibles contaminaciones de las muestras.

Los análisis de metales pesados y As se realizaron utilizando un espectrómetro de absorción atómica ICP-MS Elan 6000 Perkin-Elmer Sciex, equipado con un autosampler AS-91 y corrección para la Cámara de grafito. Se pesaron 200–250 mg de los tejidos de cangrejo y de sedimentos (Para hepatopáncreas se pesaron < 20 mg) y se digirieron en 5 ml de HNO₃ Suprapur



Foto 4. Modelo de jaula experimental empleada. En cada compartimento se colocaba un cangrejo.

Photo 4. Cage designed for the experiment, with each cell harbouring a single crayfish.

(65%) con 5 ml de H₂O Milli-Q en el horno microondas de alta presión (Milestone ETHOS SEL) en contenedores cerrados de teflon y siguiendo el protocolo descrito en Anderson et al. (1997a). Para los tejidos se consiguió un digestión total mientras que para los sedimentos se analiza el lixiviado, ya que quedó residuo. Se obtuvo un blanco de digestión para cada 10 muestras. Las muestras fueron aforadas a 25 ml añadiendo HNO₃ 1% (v/v). Los isótopos utilizados fueron: ⁶³Cu, ⁶⁵Cu, ⁶⁴Zn, ⁶⁸Zn, ⁶⁶Zn, ⁷⁵As, ¹¹⁴Cd, ²⁰⁸Pb. Los patrones

internos utilizados fueron: ^{72}Ge , ^{103}Rh . Todas las rectas de calibrado obtenidas presentan un coeficiente de correlación > 0.999 .

Resultados y Discusión

En el experimento de translocación, se encontró un efecto significativo de los dos tiempos de exposición de los cangrejos en la bioacumulación de metales pesados y arsénico en los cangrejos de las tres estaciones experimentales respecto a los individuos control (MANOVA, C vs t₆+t₁₂, $F_{5,287}=6.361$, $p<0.0001$) (Figura 7). Además, el contenido medio de contaminantes medido en los cangrejos para ambos tiempos de exposición fue mayor para la estación Doblás (MANOVA, est. 2 vs est. 1+3, $F_{5,286}=6.418$, $p<0.0001$). Respecto a los tejidos, fue el hepatopáncreas el que mostró un mayor contenido medio en metales en las tres estaciones y los 2 periodos de exposición, seguido del exoesqueleto+branquias y luego el músculo (MANOVA, H vs E+M, $F_{5,281}=252.032$, $p<0.0001$). El hepatopáncreas es un órgano de los cangrejos que está involucrado con un buen número de funciones fisiológicas, tales como la secreción de jugos digestivos, adsorción y almacenamiento de los alimentos digeridos, y la detoxificación y almacenamiento de contaminantes (Icely & Nott, 1992). Por otro lado, en el exoesqueleto es común encontrar altas concentraciones de Pb que parecen estar más relacionadas con la adsorción de este elemento que con su bioacumulación (Knowlton et al. 1983), mientras que las branquias, al estar en contacto directo con el medio que las rodea y tener una alta permeabilidad, pues son las responsables del intercambio gaseoso e iónico, acumulan altas concentraciones de metales (Bollinger et al., 1997). El músculo abdominal, sin embargo, aparece mencionado en la literatura como el tejido que contiene una menor cantidad de metales

(Rincón-León et al., 1988; Devi et al., 1996; Anderson et al., 1997a; Bollinger et al., 1997).

Las concentraciones medias de todos los metales en todos los tejidos fueron mayores para los cangrejos que fueron incubados 12 días respecto a los que sólo lo fueron 6 días, tanto en Guijo como en las Doblás. Sin embargo, en el Puente de los Vaqueros se encontró un patrón opuesto, donde los hepatopáncreas de los cangrejos incubados 6 días presentaban las mayores concentraciones de metales y luego, durante los siguientes 6 días eran capaces de disminuir las concentraciones acumuladas de Pb en un 76 %, Cd en un 35 % y As un 71 % (Figura 7). De hecho, el nivel de contaminación basal de cada estación se corresponde con las concentraciones medias medidas en este tejido, que es el que acumula más contaminantes, por lo que las concentraciones del hepatopáncreas pueden servir para ordenar el nivel de contaminación de cada estación, que en nuestro caso quedaría como Doblás>Guijo>Puente Vaqueros. En general, la acumulación de elementos no esenciales, Cd, Pb y As refleja las concentraciones encontradas en el medio (medidas en los sedimentos), mientras que los esenciales, Zn y Cu, siempre fueron los que mostraron concentraciones mayores independientemente del tiempo de exposición y de las estaciones.

De acuerdo con estos resultados, se ha encontrado que periodos de exposición a contaminantes de 6 a 12 días es suficiente para producir una bioacumulación significativa de metales en los tejidos del cangrejo americano, particularmente en el hepatopáncreas. Además el nivel de bioacumulación está relacionado con el papel metabólico desempeñado en los organismos y con su abundancia en el medio circundante (Alcorlo et al. 2006).

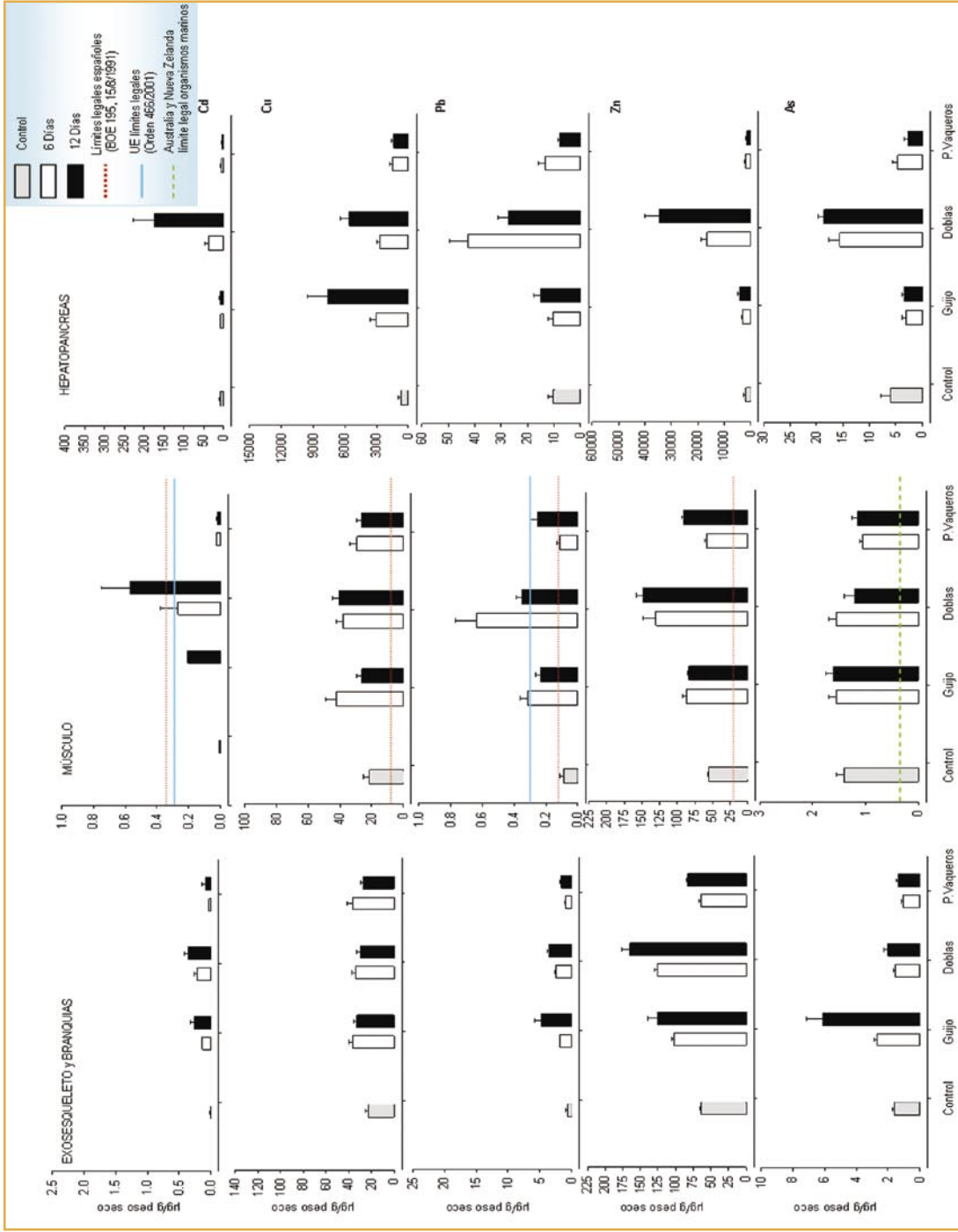


Figura 7 (siguiente página). Valores medios (Media±ES) de las concentraciones medidas en los distintos tejidos de los cangrejos del experimento de translocación ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco). Todos los individuos utilizados (control y translocados) fueron comprados en una procesadora de cangrejo local. La línea de puntos corresponde a los límites de la legislación española para Cu ($20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco), Pb y Cd ($1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco) (BOE 195, 15/8/1991). La línea continua corresponde a los límites de la legislación europea para Cd ($0.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco) y Pb ($0.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco) (Reglamento 466/2001 CE). La línea discontinua indica los límites máximos legislados para Zn ($70 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco) y As ($1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso fresco) en Australia y Nueva Zelanda para organismos marinos como valores de referencia porque no existen valores máximos legislados en Europa. Todos estos límites se han transformado en peso seco, para que estén en las mismas unidades que las de los cangrejos y se facilite la comparación entre ambos tipos de valores. Para ello se ha considerado que el peso fresco de los cangrejos contiene un 70 % de agua (Rigler & Downing 1984) y se ha dividido el valor de la concentración expresada en peso fresco por un factor de 3.3.

Figure 7 (next page). Mean and Standard Error of the Mean values of metal concentration measured in different tissues of the crayfish of the translocation experiment ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight). All individuals (control and translocated) were purchased to the same seafood vendor. Horizontal dotted line corresponds to Spanish legal limits for Cu ($20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ fresh wt) and for Pb and Cd ($1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ fresh wt) (BOE 195, 15/8/1991). Straight line shows European legislation limits for Cd ($0.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ fresh wt) and Pb ($0.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ fresh wt) (EC Regulation 466/2001). Short dashed line indicates maximum limits legislated for Zn ($70 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ fresh wt) and As ($1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ fresh wt) in Australia and New Zealand for marine organisms, as reference values because there are no maximum values legislated in Europe. All these limits expressed in fresh weight have been converted to $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight, assuming a water content of 70 % in crayfish (Rigler and Downing, 1984) thus, they were divided by a factor of 3.3.

Conclusiones

La abundancia de cangrejo americano en la cuenca del río Guadiamar, excepto la zona de Entremuros, es baja. Desde el vertido tóxico, se ha constatado la capacidad de colonización de la especie en estos ambientes, sin embargo, la zona donde desarrolla poblaciones abundantes y estables, es la que corresponde al tramo bajo. Dicha zona con sustrato arcilloso, y gran cantidad de vegetación helofítica litoral con sus comunidades de invertebrados asociados, proporcionan áreas óptimas de refugio y disponibilidad de recursos tróficos y detritus utilizables por el cangrejo americano.

La dinámica de las poblaciones de cangrejo está estrechamente relacionada con la hidrología de cada año, de modo que los años con fuertes sequías suponen un 'control natural' de sus abundancias.

La concentración de metales pesados en los tejidos de los cangrejos, así como de As, sigue mostrando unos valores altos en las estaciones más cercanas a la mina y en las del tramo medio del río, aunque en general, existe una tendencia a disminuir su concentración.

La contaminación por metales pesados y As que existe actualmente en el tramo medio (Las Doblas-Vado del Quema) procede de los vertidos industriales, urbanos y agrícolas de los alrededores.

Se han detectado episodios ocasionales de valores más altos en las estaciones del tramo bajo del Guadiamar (Entremuros) a lo largo del tiempo, que han coincidido con momentos de avenidas en los que se han removido los sedimentos y puesto de nuevo en circulación los contaminantes.

Los resultados experimentales tanto en individuos juveniles como adultos de cangrejo americano (*P. clarkii*) apoyan su utilización como especie bioindicadora de metales pesados y As; eficaz por su capacidad de bioacumularlos según el papel metabólico que tengan y su abundancia en el medio circundante; por encontrarse presente en multitud de sistemas acuáticos de forma abundante y, por poseer una vida lo suficientemente larga para registrar los cambios producidos en el exterior.

AGRADECIMIENTOS

La existencia del Espacio Natural Protegido del Corredor Verde del Guadiamar no habría sido posible sin el trabajo de todo el personal relacionado con la Oficina Técnica del Corredor Verde del Guadiamar, ya que gracias a ellos se ha podido llevar uno de los proyectos de restauración más ambiciosos de España. Entre todos ellos queremos expresar nuestro agradecimiento a sus directores Javier Serrano y José María Arenas y, a Francisco Carrascal y Alberto Gil.

Miguel Ángel Bravo nos aportó valiosos comentarios que nos han servido para interpretar mejor la biología del cangrejo, así como, apoyo logístico en numerosas ocasiones. José María Martínez y Yolanda Díaz colaboraron en las fases iniciales del PICOVER. En los muestreos de campo nos ayudaron José de Toledo, Pedro Zorrilla, Sergio Velasco y Pablo Sastre. Finalmente, los análisis de metales pesados no habrían sido posibles sin la inestimable participación de Ana Gómez del Laboratorio de Vigilancia y Control de la Contaminación de la Junta de Andalucía en Huelva e Inmaculada Rivas del Servicio Interdepartamental de Investigación de la UAM.

Recomendaciones

Es necesario tomar las adecuadas medidas de gestión que regulen y/o prohíban los vertidos industriales y/o urbanos, así como proceder al seguimiento y mantenimiento de las plantas depuradoras para garantizar una buena calidad del agua y contribuir así a la mejora de la salud ambiental de la cuenca del Guadamar.

Es recomendable mantener una gestión del agua que circula por el río Guadamar manteniendo su régimen hídrico natural de acuerdo con las fluctuaciones anuales e interanuales de los hidoperiodos donde se alternen años con meses de estiaje de distinta duración e intensidad, ya que sirve como método de control en la dispersión de esta especie invasora.

Regular la inundación del río de modo que en los meses de primavera y verano circule un buen caudal supondría que esta especie invasora tuviese una buena oportunidad de expansión por el 'corredor' al existir buenos recursos (temperaturas templadas y/o cálidas,

agua, abundancia de presas) a su disposición en la época más adecuada para su reproducción.

La utilización de nasas de almohada podría considerarse como un método eficaz para controlar la densidad de otras especies exóticas presentes en el río, tales como los peces percasol (*Lepomis gibbosus*). No obstante, deberían ser revisadas cada 12 o 24 h para evitar la mortalidad accidental de otras especies autóctonas de reptiles y/o anfibios.

Es aconsejable implementar, en las actividades de control de la calidad ambiental del Corredor Verde del Guadamar, la utilización de *Procambarus clarkii* como especie centinela de la salud de este río. La incubación de cangrejos en los puntos donde se quiera evaluar la contaminación durante 6 días y posterior análisis del contenido en metales del hepatopáncreas supondría una medida indicadora eficiente y precisa de la contaminación si existiese.

11

BIBLIOGRAFÍA

Alcorlo P., Otero M., Crehuet M., Baltanás A. & C. Montes. 2006. The use of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*, Girard) as indicator of the bioavailability of heavy metals in environmental monitoring in the River Guadamar (SW, Spain). *Science of the Total Environment* 366: 380-390.

Allinson G., Laurenson L.J.B., Pistone G., Stagnitti F. & P.L. Jones. 2000. Effects of dietary copper on the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor*. *Ecotox Environ Saf* 46: 117-123.

Anderson R.V. & J.E. Brower. 1978. Patterns of trace metal accumulation in crayfish population. *Bull Environ Contam Toxicol* 20: 120-127.

Anderson M.B., Reddy P., Preslan J.E., Fingerman M., Bollinger J., Jolibois L., Maheshwarudu G. & W.J. George. 1997a. Metal accumulation in crayfish, *Procambarus clarkii*, exposed to a petroleum-contaminated Bayou in Louisiana. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 37: 267-272.

Anderson M.B., Preslan J.E., Jolibois L., Bollinger J.E. & W.J. George. 1997b. Bioaccumulation of lead nitrate in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *J Hazard Mater* 54: 15-26.

Bollinger J.E., Bundy K., Anderson M.B., Millet L., Preslan J.E., Loloibois L., Chen H.-L., Kamath B. & W.J. George. 1997. Bioaccumulation of chromium in red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Journal of Hazardous Materials* 54 : 1-13.

Chen S., Wu J. & Malone R.F. 1995. Effects of temperature on mean molt interval, molting and mortality of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Aquaculture* 131: 205-217.

Depledge M.H., Forbes T.L. & V.E. Forbes. 1993. Evaluation of cadmium, copper, zinc and iron concentrations and tissue distributions in the benthic crab, *Dorippegranulata* (De Haan, 1841) from Tolo Harbour, Hong Kong. *Environmental Pollution* 81: 15-19.

- Devi M., Thomas D.A., Barber J.T. & M. Fingerman. 1996. Accumulation and physiological and biochemical effects of cadmium in a simple aquatic food chain. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 33: 38-43.
- Dickson G.W., Briese L.A. & J.P. Giesy, Jr. 1979. Tissue metal concentrations in two crayfish species cohabiting a Tennessee Cave Stream. *Oecologia* 44: 8-12.
- Keenan S. & M.A. Alikhan. 1991. Comparative study of cadmium and lead accumulations in *Cambarus bartoni* (Fab.) (Decapoda, Crustacea) from an acidic and a neutral lake. *Bull Environ Contam Toxicol* 47: 91-96.
- Knowlton M.F., Boyle T.P. & J.R. Jones. 1983. Uptake of lead from aquatic sediment by submersed macrophytes and crayfish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 12: 535-541.
- Icely J.D. & J.A. Nott. 1992. Digestion and absorption: Digestive systems and associated organisms. In Harrison, F.W. and A.G. Humes, editors. *Microscopic Anatomy of Invertebrates*, Volume 10: Decapod Crustacea. New York: Wiley-Liss, Inc.: 147-201.
- Lozano, I. 2004. Efectos de la contaminación por metales pesados en el cangrejo rojo americano (*Procambarus clarkii*). Memoria presentada para optar al Diploma en Estudios Avanzados del Departamento de Ecología, Universidad Autónoma de Madrid.
- Madden J.D., Grodner R.M., Feagley S.E., Finerty M.W. & L.S. Andrews. 1991. Minerals and xenobiotic residues in the edible tissues of wild pond-raised Louisiana crayfish. *J. Food Saf.* 12:1-15.
- Madigovsky S.R., Álvarez-Hernández X. & J. Glass. 1991. Lead, cadmium and aluminum accumulation in the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* G. collected from roadside drainage ditches in Louisiana. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 20, 253-258.
- Martínez M., Torreblanca A., Del Ramo J. & J. Díaz-Mayans .1994. Effects of sublethal exposure to lead on levels of energetic compounds in *Procambarus clarkii* (Girard, 1852). *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology* 52: 729-733.
- Meyer W., Kretschmer M., Hoffmann A. & G. Harisch. 1991. Biochemical and histochemical observations on effects of low level heavy metal load (lead, cadmium) in different organ systems of the freshwater crayfish, *Astacus astacus* L. (Crustacea: Decapoda). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 21: 137-156.
- Naqvi S.M. & C.T. Flagge. 1990. Chronic effects of arsenic on American red crayfish, *Procambarus clarkii*, exposed to monosodium methanearsonate (MSMA) herbicide. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology* 45: 101-106.
- Naqvi S.M. & R.D. Howell. 1993. Toxicity of cadmium and lead to juvenile red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, and effects on fecundity of adults. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology* 51: 303-330.
- Ogden J.C., Davis S.M. & L.A. Brandt. 2002. Science strategy for a regional ecosystem monitoring and assessment program: the Florida everglades example. In: Busch, D. & J.C. Trexler (eds). *Monitoring ecosystems*. Island Press: 135-163.
- Palmer M.A., Bernhardt E.S., Allan J.D., Lake P.S., Alexander G., Brooks S., Carr J., Clayton S., Dahn C.N., Follstad S.J., Galat D.L., Loss S.G., Goodwin P., Hart D.D., Hassett B., Jemkinson R., Kondolf G.M., Lave R., Meyer J.L., O'Donnell T.K., Pagano L. & Sudduth E. 2005. Standards for ecologically successful river restoration. *Journal of Applied Ecology* 42: 208-217.
- Pastor A., Medina J., Del Ramo J., Torreblanca A., Díaz-Mayans J. & F. Fernández. 1988. Determination of lead in treated crayfish *Procambarus clarkii*: Accumulation in different tissues. *Bull Environ Contam Toxicol* 41: 412-418.
- Phillips D.J.H. & M.H. Depledge. 1986. Chemical forms of arsenic in marine organisms with emphasis on *Herminurus ternatanus*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 64: 261-266.
- Postel S. & B. Richter. 2003. *Rivers for life: managing water for people and nature*. Island Press, Washington, DC. 253 p.
- Rainbow P.S. 1995. Physiology, Physicochemistry and metal uptake: a crustacean perspective. *Mar. Pollut. Bull.* 31: 55-59.
- Rainbow P.S. 1997. Ecophysiology of trace metal uptake in Crustaceans. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44: 169-175.
- Rigler F.H. & J.A. Downing. 1984. The calculation of secondary production. In: Downing J.A. & F.H. Rigler, editors. *A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters*. IBP Handbook No.17. Blackwell, Oxford, 2nd edition: 19-58.
- Sánchez-Juny M., Bereguer M., Corral C., Bladé E., Sempere D. & J. Dolz. 2003. Estudio hidrológico-hidráulico de la Cuenca del Guadiamar. En: Arenas J.M., Martínez-Faraco F.R., Mora A., editors. *PICOVER 1998-2002. Ciencia y restauración del río Guadiamar*. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía : 326-339.
- Stinson M.D. & D.L. Eaton. 1983. Concentrations of lead, cadmium, mercury and copper in the crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) obtained from a lake receiving urban runoff. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 12: 693-700.
- Toja J., Alcalá E., Burgos M.D., Martín G., Plazuelo A., de Schutter T., Prat N., Plans M. & C. Solá. 2003. Efecto del vertido tóxico en las comunidades de plancton y perifiton del río Guadiamar. En: Arenas J.M., Martínez-Faraco F.R., Mora A., editors. *PICOVER 1998-2002. Ciencia y restauración del río Guadiamar*. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía : 94-109.
- White S.L. & P.S. Rainbow. 1984. Regulation of zinc concentration by *Palaemon elegans* (Crustacea:Decapoda): zinc flux and effects of temperature, zinc concentration and moulting. *Marine Ecology-Progress Series* 16: 135-147.
- Zia S., & M.A. Alikhan. 1989. Copper uptake and regulation in a copper-tolerant decapod *Cambarus bartoni* (Fabricius) (Decapoda, Crustacea). *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology* 42: 103-110.