



## Trabajo Fin de Grado

Ciencias Ambientales

### Toxicología en el tramo medio del río Ebro y el Canal Imperial de Aragón.

Posibles consecuencias para la supervivencia de la margaritona (*Pseudunio auricularius*=*Margaritifera auricularia* Spengler, 1793)

Toxicology in the middle section of the Ebro River and Canal Imperial de Aragón.

Possible consequences on the survival of the giant freshwater pearl mussel  
(*Pseudunio auricularius*=*Margaritifera auricularia* Spengler, 1793)

Leonor Alcalá Fonte

Directores:

Keiko Nakamura Antonacci  
Joaquín Guerrero Campo

Ponente:

Ernesto Pérez Collazos

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR

2021

# Índice

Resumen .....	1
1. Introducción.....	3
1.1. La cuenca del Ebro: el estado de sus aguas y contaminación .....	3
1.2. Náyades en la cuenca del Ebro .....	7
1.3. Antecedentes .....	10
1.4. Justificación .....	12
1.5. Objetivos .....	12
1.6. Relación con Objetivos de Desarrollo Sostenible .....	13
2. Material y métodos .....	14
2.1. Área de estudio.....	14
2.2. Datos del Control del Estado de las Masas de Agua Superficiales.....	15
2.3. Datos del Gobierno de Aragón.....	17
2.4. Análisis y tratamiento de los datos .....	19
3. Resultados .....	20
3.1. Variables físico-químicas del agua.....	20
3.1.1. Análisis estadístico de los datos.....	31
3.2. Contaminantes en agua .....	34
3.3. Contaminantes en sedimento.....	37
3.4. Contaminantes en biota .....	41
4. Discusión.....	46
4.1. Variables físico-químicas del agua.....	46
4.2. Contaminantes .....	50
5. Conclusiones.....	55
6. Recomendaciones.....	56
7. Agradecimientos.....	56
8. Bibliografía .....	57
9. Anexos .....	67

## Índice de figuras

Figura 1: Cuenca del Ebro.....	3
Figura 2. Estado de las masas de agua superficial.....	5
Figura 3. <i>Pseudunio auricularius</i> .....	7
Figura 4. <i>Unio mancus</i> .....	8
Figura 5. <i>Potomida littoralis</i> .....	9
Figura 6. <i>Anodonta anatina</i> .....	9
Figura 7. Localización de las masas de agua objeto de estudio.....	14
Figura 8. Localización espacial de las estaciones del CEMAS objeto de estudio.....	16
Figura 9. Localización de los muestreos llevados a cabo por el Gobierno de Aragón.....	17
Figura 10. Sólidos en suspensión para los tres puntos de muestreo.....	22
Figura 11. Resultados de pH. ....	23
Figura 12. Conductividad a 20 °C. ....	24
Figura 13. Temperatura del agua.....	25
Figura 14. Oxígeno disuelto.....	26
Figura 15. Nitratos. ....	27
Figura 16. Fosfatos.....	28
Figura 17. Sulfatos.....	29
Figura 18. Amonio. ....	30
Figura 19. Metales en sedimento en las localizaciones del río Ebro en 2018 y 2020.....	37
Figura 20. Metales en sustrato en las localizaciones del CIA en 2013, 2018 y 2020.....	38
Figura 21. Metales en tejido de <i>Corbicula</i> spp. en el río Ebro en 2018 y 2020.....	41
Figura 22. Metales en tejido de <i>Corbicula</i> spp. en el CIA en 2013, 2018 y 2020.....	42
Figura 23. Compuestos químicos en tejido de <i>Corbicula</i> spp. en el CIA en 2020.....	43
Figura 24. Metales en tejido de <i>P. auricularius</i> en el CIA en 2013 y 2014.....	44

## **Índice de tablas**

Tabla 1. Calificadores de estado de las masas de agua superficial. ....	4
Tabla 2. Estaciones y puntos de muestreo del CEMAS objeto de estudio. ....	15
Tabla 3. Caracterización de las muestras recogidas por el Gobierno de Aragón. ....	18
Tabla 4. Pruebas de normalidad de las variables analizadas.....	31
Tabla 5. Tendencia de las distintas variables a lo largo de los años .....	31
Tabla 6. Variables con tendencias significativas a aumentar o disminuir. ....	32
Tabla 7. Diferencias entre medias de las variables analizadas .....	33
Tabla 8. Estadísticos de los metales pesados para los distintos puntos de muestreo.....	34
Tabla 9. Resultados de la comparación con el RD 817/2015 en agua. ....	36
Tabla 10. Resultados de la comparación con la ISQC en sedimento.....	40

## Resumen

Las náyades autóctonas de los ríos alrededor del mundo están experimentando un serio declive, como es el caso de la margaritona (*Pseudunio auricularius*), especie clasificada como en peligro crítico. A partir de 2013 se registró un episodio de mortalidad tremadamente elevado, especialmente en el Canal Imperial de Aragón, tanto de la margaritona como de las otras especies de náyades. Una de las hipótesis planteadas es la influencia de la contaminación de las aguas fluviales en el río Ebro y el Canal Imperial de Aragón.

En el presente trabajo se han estudiado series de datos históricos de las variables físico-químicas de ambas masas de agua y parte de los contaminantes presentes en el agua, los sedimentos y la biota. Las concentraciones de los contaminantes se han contrastado con los umbrales legislativos e información toxicológica disponible, con el objetivo de detectar concentraciones que puedan haber intervenido en la mortalidad de las náyades.

Los resultados indican una tendencia a disminuir, con el paso del tiempo, en variables como los sólidos en suspensión, el oxígeno disuelto, nitratos y fosfatos. Por el contrario, la conductividad está aumentando. Respecto a los contaminantes, se sobrepasan las recomendaciones internacionales para la calidad de sedimento, debido a las concentraciones de arsénico y plomo presentes. En biota (tejido de almeja asiática) se ha superado la concentración máxima de mercurio marcada en la legislación. También se han detectado incumplimientos de los límites de concentración legales en agua para el nonilfenol y el cadmio, además, se han identificado, puntualmente, concentraciones de cobre y zinc en el agua superiores a la CL<sub>50</sub> de *P. auricularius*.

*Palabras clave:* Contaminación, náyades, metales pesados, mortalidad, pesticidas.

## Abstract

Native freshwater mussels are in serious decline around the world. *Pseudunio auricularius*, protected in the Ebro River basin, has been suffering a sharp decline in its populations since 2013, which is especially visible in the Canal Imperial de Aragón, affecting this species and the other freshwater mussels. One of the hypotheses raised by the Aragón Government is the influence of the pollution of the river.

In this work, historical series of physicochemical variables and part of the contaminating compounds -present in water, sediments and biota- have been studied. The concentration of the pollutants has been contrasted with legislative thresholds and available toxicological information with the aim of finding values that may have affected in the survival of the freshwater mussels.

The obtained results have shown a decrease in variables such as suspended matter, dissolved oxygen, nitrates and phosphates. Regarding contaminants, international sediment quality guidelines are not fulfilled, since the levels of concentrations of lead and especially, arsenic are higher than recommended. In biota, the maximum concentration set in legislation has been exceeded by mercury in Asian clam tissues. In the same sense, nonylphenol and cadmium also do not meet the legal standards in water. In addition, copper and zinc concentrations in water have been punctually higher than the LC<sub>50</sub> defined for *P. auricularius*.

*Key words:* freshwater mussels, heavy metals, mortality, pesticides, pollution.

## 1. Introducción

### 1.1. La cuenca del Ebro: el estado de sus aguas

La cuenca del Ebro se sitúa en el cuadrante NE de la península ibérica (Fig. 1) y ocupa, según datos de la Confederación Hidrográfica del Ebro (CHE), una superficie total de 85.534 km<sup>2</sup>, siendo la cuenca hidrográfica más extensa de España. Su delimitación está establecida mediante el Real Decreto 125/2007, de 2 de febrero, por el que se fija el ámbito territorial de las demarcaciones hidrográficas.



**Figura 1: Cuenca del Ebro. 1) río Ebro, 2) río Aragón, 3) río Gállego, 4) río Cinca, 5) río Jalón y 6) río Guadalope. Fuente: Confederación Hidrográfica del Ebro.**

La cuenca está drenada por el río Ebro (Fig. 1), de 928 km de longitud, que discurre en sentido NO-SE desde la Cordillera Cantábrica hasta el mar Mediterráneo. Consta de 823 masas de aguas superficiales identificadas y delimitadas por el Plan Hidrológico del Ebro, descrito en el Real Decreto 1/2016, de 8 de enero. Algunos de sus afluentes, por su margen izquierda, son: el Aragón, el Gállego o el Cinca-Segre y por su margen derecha: el Jalón o el Guadalope.

En la cuenca hay numerosos lagos como los ibones de zonas montañosas o las lagunas de Sariñena (Huesca), de Montcortés (Lleida) o la laguna salada de Chiprana (Zaragoza). Igualmente cuenta con numerosos embalses, sumando hasta 187 presas, lo que ocasiona un intenso control antrópico de los caudales, reteniendo hasta el 85 % de la precipitación anual de toda la cuenca en ellos (Val et al., 2016). Estas intensas modificaciones tienen por objetivo proveer de agua a los regadíos así como obtener energía hidroeléctrica. Así, la cuenca natural está acompañada de una red de cauces artificiales, como el Canal de Monegros, el Canal de Tauste o el Canal Imperial de Aragón (CIA). Este último discurre paralelo al Ebro, por su margen derecha, a lo largo de unos 108 km, desde la localidad de Fontellas (Navarra) hasta Fuentes de Ebro (Zaragoza, Aragón).

El control de la calidad de las aguas de toda la cuenca es competencia de la CHE y sigue las indicaciones de la Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, del 23 de octubre de 2000, conocida como Directiva Marco del Agua (DMA).

La DMA obliga a los estados miembros a establecer estaciones de vigilancia para el control de la contaminación causada en el medio acuático (agua, sedimentos y biota) por sustancias peligrosas aguas abajo de sus puntos de emisión. La legislación vigente en España a este efecto es el Real Decreto 817/2015, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental (RD 817/2015, en adelante).

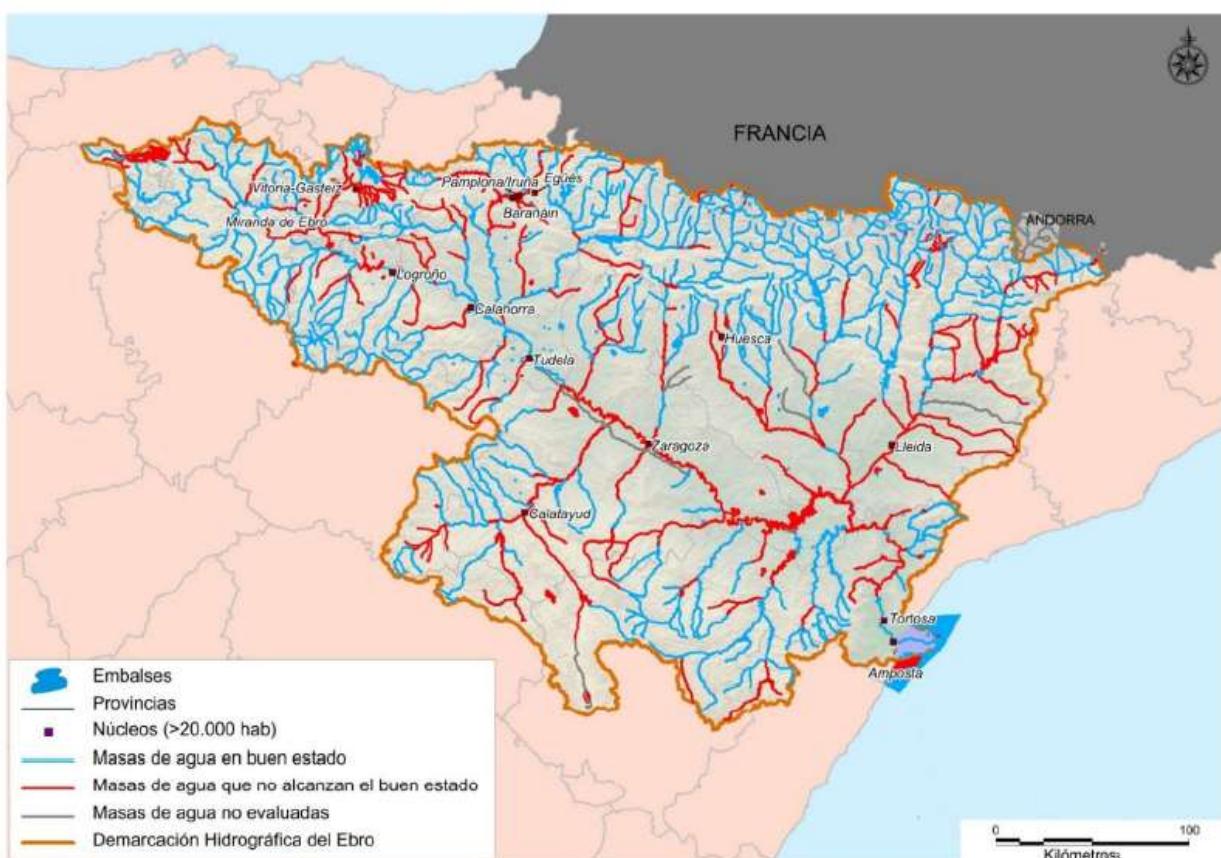
La DMA establece que el estado de las masas de agua superficiales se determina a partir del estado ecológico y el estado químico (Tabla 1). El ecológico se obtiene utilizando indicadores físicos-químicos (pH, amonio, nitratos, etc.), biológicos (macroinvertebrados y diatomeas) e hidromorfológicos (calidad del bosque de ribera). El estado químico depende del cumplimiento o no de las Normas de Calidad Ambiental: “concentración de un contaminante o grupo de contaminantes en el agua, los sedimentos o la biota, que no debe superarse en aras de la protección de la salud humana y el medio ambiente”, expresadas como media anual y de las expresadas como concentración máxima admisible (NCA-MA y NCA-CMA, respectivamente), que aparecen en el RD 817/2015 (Angulo et al., 2017).

**Tabla 1. Clasificación del estado de las masas de agua superficial.**

Estado ecológico	Muy buen estado
	Buen estado
	Estado moderado
	Estado deficiente
	Estado malo

Estado químico	Buen estado
	No alcanza el buen estado
Estado masas de agua superficial	Buen estado
	No alcanza el buen estado

El principio de cálculo para establecer el estado de la masa es calificarla de la misma manera que el estado que haya obtenido una clasificación más baja: “uno fuera, todos fuera” (Angulo et al., 2017). Así, para alcanzar el buen estado general, su estado ecológico debe ser superior a moderado y el químico debe alcanzar el buen estado. Según los datos del Plan de seguimiento del plan hidrológico para el periodo 2015-2021, emitidos en 2019, el número de masas de agua en buen estado supone un 67,5 % del total de masas (Fig. 2). Cabe destacar que los canales, como el CIA, no han sido evaluados.



**Figura 2. Estado de las masas de agua superficial.** Fuente: Plan de seguimiento del plan hidrológico de la cuenca del Ebro para el periodo 2015-2021.

El eje del río Ebro, según el tipo de contaminación que sufre, puede dividirse en 3 grandes áreas (Terrado et al., 2006). El área superior se caracteriza por albergar altos niveles de compuestos relacionados con la industria y la urbanización: metales pesados (zinc, cobre, cromo, plomo, cadmio y mercurio) hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), hexaclorociclohexanos (HCHs), triclorobencenos (TCBs) y condiciones eutróficas (alto contenido en amonio, fosfatos, materia orgánica, etc.). En el área media, se hereda la contaminación previa y existe una salinización, alcalinidad y conductividad elevadas, acumulando elementos como calcio, sodio, magnesio y potasio, fruto de la sinergia entre los suelos y la geología de la zona en combinación con los regadíos intensivos. En el área final, destacan de nuevo los compuestos orgánicos y los metales pesados (mercurio, cadmio, zinc y arsénico), que tiene como fuente las actividades industriales. La producción de arroz, ya en el Delta del Ebro, hace que la cantidad de pesticidas aumente notablemente en esa zona.

Algunos de los metales pesados y contaminantes orgánicos persistentes intervienen en el metabolismo de los organismos acuáticos, como el del calcio, esencial para las conchas de los bivalvos (Frank y Gerstmann, 2007).

La agricultura y la industria contribuyen a la contaminación de las aguas superficiales: el uso de pesticidas en el sector agrario tiene importantes efectos en la calidad del agua y conlleva consecuencias medioambientales severas (Claver et al., 2006; Soler et al., 2018; Lavado et al., 2004).

Tanto la utilización de agroquímicos, como de productos industriales e, incluso, de medicamentos, ha dado lugar a la proliferación de los llamados contaminantes emergentes. Estos compuestos, generalmente esquivos a los tratamientos de depuración, pueden causar daños importantes a los organismos, incluso en bajas dosis, dado que sus efectos se relacionan con disruptores endocrinas (Oropesa et al., 2017; Lavado et al., 2004; Riva et al., 2020; Blaise et al., 2003; Doria et al., 2020).

Las afecciones de los compuestos químicos sobre los seres vivos se estudian, entre otros métodos, mediante ensayos de toxicidad con el fin de establecer umbrales legislativos, como los contenidos en el citado RD 817/2015. Estas pruebas, generalmente, se realizan sobre invertebrados como anfípodos, quironómidos, cladóceros y especies de peces o anfibios, que son, en general, menos sensibles a los tóxicos en comparación con las náyades (que son organismos filtradores y bioacumuladores) quedando estas desprotegidas frente a los valores establecidos como umbrales de contaminación (Augspurger et al., 2003; Wang et al., 2017; Vijuesca, 2018).

## 1.2. Náyades en la cuenca del Ebro

Se conoce como náyades a los grandes bivalvos de agua dulce (Filo: Mollusca, Clase: Bivalva, Orden: Unionida) caracterizados por su complejo ciclo reproductivo, en el que los gloquidios (nombre que reciben sus larvas) necesitan parasitar las branquias de un pez hospedador (generalmente muy específico) para llevar a cabo la metamorfosis (Altaba y López, 2001; Araujo et al., 2003; Modesto et al., 2018, Nakamura et al., 2019; Oscoz et al., 2010). Posteriormente, se liberan de las branquias y se entierran en el sedimento de los ríos o canales. Una vez convertidas en adultas, favorecen la oxigenación y depuración de las aguas (Lopes-Lima et al., 2017) llegando, algunas especies, a filtrar hasta 50 litros al día (Cosgrove y Hastie, 2001).

### *Pseudunio auricularius* (Spengler, 1793)

La margaritona o gran almeja de río, conocida también como *Margaritifera auricularia* (Fig. 3) se caracteriza por su gran tamaño, llegando hasta los 18 cm, y por su extraordinaria longevidad, pudiendo vivir hasta los 70 años (Nakamura et al., 2018). Habitán en cursos de aguas limpias asociados a fondos de grava y arena, preferentemente en zonas remansadas, donde pueden permanecer enterrados a bastante profundidad (Araujo y Ramos, 2000; Altaba y López, 2001; Oscoz et al., 2010; Durán et al., 2012). Dentro de la península ibérica existen poblaciones en el río Ebro y en el Canal de Tauste, pero las mayores se encuentran en el Canal Imperial de Aragón: hay censados más de 4.768 ejemplares (Catalá et al., 2017), en estructura de parches, a lo largo de 30 km (Araujo y Ramos, 2000).



Figura 3. *Pseudunio auricularius*. Fuente: Colección de moluscos de Museo Nacional de Ciencias Naturales.

*P. auricularius* está reportada como hermafrodita (Grande et al., 2000) y, al parecer, no alcanza la madurez sexual antes de los 20 años (Oscoz, Galicia y Miranda, 2010). Para cerrar su ciclo biológico necesitan de un pez hospedador de sus larvas, actualmente el blenio de río (*Salarias fluviatilis*), pues el esturión común (*Acipenser sturio*), que se considera su antiguo y principal hospedador, se encuentra extinto en la cuenca del río Ebro (Araujo et al., 2003).

Este bivalvo dulceacuícola está catalogado como “En peligro de extinción” en el Catálogo Español de Especies Amenazadas (CEEA), así como en el Catálogo de Especies Amenazadas de Aragón (CEAA), además de aparecer como en “Peligro crítico” en la Lista Roja de la UICN. Por ello, posee un Plan de Recuperación, aprobado mediante el Decreto 187/2005, de 26 de septiembre, del Gobierno de Aragón, por el que se establece el Régimen de protección para la especie.

### *Unio mancus* (Lamarck, 1819)

Esta náyade vive en España en los ríos mediterráneos desde el sur de los Pirineos hasta el Júcar, siendo la única especie de *Unio* que vive en la cuenca del Ebro. No está catalogada en el Catálogo Español de Especies Amenazadas. Las mayores poblaciones conocidas en España habitan en el Alto Ebro (Cantabria y Burgos). Su longitud es normalmente inferior a 10 cm (Fig. 4) y sus peces hospedadores son los barbos (género *Barbus*) (Araujo, 2012).



Figura 4. *Unio mancus*. Fuente: Colección de moluscos del Museo Nacional de Ciencias Naturales.

### *Potomida littoralis* (Cuvier, 1798)

Esta náyade goza de un área de distribución en la península ibérica muy amplia, ocupando la mayoría de los ríos atlánticos y mediterráneos, si bien está catalogada como vulnerable en el Libro Rojo de los Invertebrados de España (Verdú y Galante, 2006). Su longitud oscila entre los 6 y los 8 cm (Fig. 5). Los peces hospedadores de sus gloquidios, entre otros, son los barbos y las bogas (géneros *Barbus* y *Pseudochondrostoma*) (Araujo, 2011).



Figura 5. *Potomida littoralis*. Fuente: Araujo, 2011.

### *Anodonta anatina* (Lamarck, 1758)

Esta especie posee un elevado número de sinonimias y es confundida habitualmente con *A. cygnea*. Su distribución es amplia por toda la península ibérica en ríos, embalses y lagos, siendo la especie de *Anodonta* más común. Sin embargo, aparece catalogada como Casi Amenazada en el Libro Rojo de los Invertebrados de España (Verdú y Galante, 2006). Sus conchas son frágiles y polimórficas (Fig. 6). Entre las especies hospedadoras de sus gloquidios en la península se han señalado el barbo de Graells (*Barbus graellsii*), la madrilla (*Chondrostoma miegii*), el blenio de río (*Salaria fluviatilis*), el gobio (*Gobio gobio*), el cacho (*Squalius pyrenaicus*) y el bagre (*S. cephalus*) (Araujo et al., 2009).

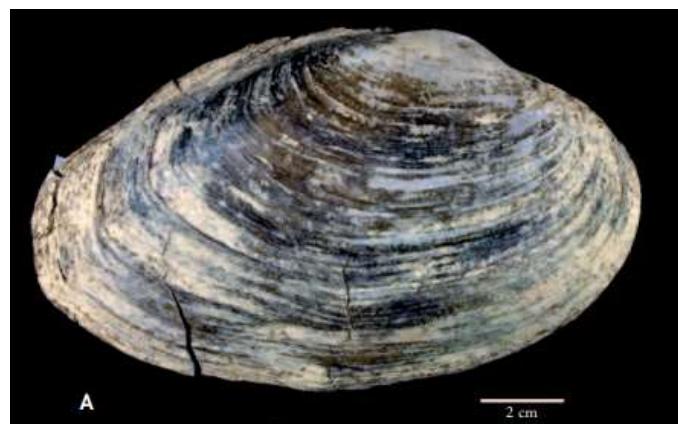


Figura 6. *Anodonta anatina*. Fuente: Araujo et al., 2009.

### 1.3. Antecedentes

Las náyades autóctonas de los ríos alrededor del mundo están experimentando un serio declive (Faria et al., 2010a; Lopes-Lima et al., 2017; Wang et al, 2016; Ivey et al., 2018; Cosgrove y Hastie, 2001).

Una de las náyades más afectadas en Europa es *Pseudunio auricularius*. Desde hace décadas ha sufrido una fuerte regresión en la distribución original de sus poblaciones, hasta tal punto que se considera extinta en casi toda Europa. Actualmente sobrevive en Francia y en España, en la cuenca del Ebro, donde la gran mayoría de estos ejemplares se encuentran en el Canal Imperial de Aragón, existiendo también algunos ejemplares en el Canal de Tauste y en el propio río.

Las causas del descenso poblacional son numerosas:

- La ausencia o escasez de peces hospedadores de los gloquidios. El esturión común (*Acipenser sturio*) se encuentra extinto en la cuenca del río Ebro y el blenio de río (*Salarias fluvialis*) está catalogado como “Vulnerable” en el CEEA, siendo así la especie nativa del río Ebro capaz de transformar los gloquidios de *M. auricularia* en juveniles viables (Altaba y López, 2001; Araujo et al., 2003; Nakamura et al., 2019) iniciando así el complejo ciclo de la náyade.

- La destrucción de hábitat por la construcción de embalses, canalizaciones, obras en los canales y plantas de energía hidroeléctrica, que acabó (entre otros motivos) con la mayor población en la península ibérica (Araujo y Álvarez-Cobelas, 2016).

- La introducción de especies exóticas como la almeja asiática (*Corbicula spp.*) y el mejillón cebra (*Dreissena polymorpha*) que pueden competir directamente por los recursos disponibles. En el río Ebro se observó que existe una correlación positiva entre densidad de almeja asiática y náyades autóctonas muertas (Campos, 2019). El mejillón cebra se adhiere en grandes cantidades a la superficie de las conchas. Así, ambos bivalvos invasores disminuyen la cantidad de alimento disponible para las náyades (Guerrero y Jarne, 2014). El siluro (*Silurus glanis*), el pez gato (*Ameirus melas*) y la carpa (*Cyprinus carpio*) amenazan a los peces hospedadores autóctonos de las náyades por depredación directa, competencia y por alteración de todo el hábitat (Guerrero y Jarne, 2014).

- Antiguamente, la extracción masiva de ejemplares de la especie para utilizar sus conchas como materia prima (Gómez y Araujo, 2008), como es el caso de Sástago, donde se utilizaba el nácar para la decoración de las navajas y cuchillos que se elaboraban en el pueblo (Álvarez, 1998).

- La contaminación derivada de vertidos industriales puntuales y la contaminación difusa motivada por la agricultura, siendo que los bivalvos de agua dulce están entre las especies más sensibles a los compuestos químicos (Ferreira-Rodríguez, 2019; Soler et al., 2018; Augspurger et al., 2003; Wang et al., 2016; Vijuesca, 2018). Al ser animales filtradores, estos tóxicos se acumulan en su interior (bioacumulación) en concentraciones mayores a las del agua (Benito et al., 2015; Baudrimont et al., 2018).

Adicionalmente, desde hace unos 10 años, la situación ha empeorado drásticamente, ya que se ha registrado una disminución de los niveles de fertilidad de las adultas que se usan para la cría en cautividad en Aragón. Anteriormente, el 90 % de los individuos extraídos del medio natural liberaban gloquidios y, actualmente, aproximadamente solo el 5 % de ellos lo hacen (Catalá et al., 2017).

Al ya existente declive se suma un episodio de mortalidad tremadamente elevado a partir de 2013 y que, al parecer, no ha cesado, especialmente visible en el Canal Imperial de Aragón. Según los resultados reflejados en el Plan de traslocación y Plan de emergencia de *Margaritifera auricularia*, entre 2013 y 2017 el porcentaje de mortalidad en el Canal Imperial se incrementó hasta el 79 % (Catalá et al., 2017). Estos valores son extremadamente preocupantes, más cuando, en algunas zonas, el total de los ejemplares habían muerto. Esta situación, unida al bajísimo reclutamiento de la especie, supone que la especie esté en un grave peligro de extinción. Sin embargo, también el resto de especies de náyades, *Potomida littoralis*, *Unio mancus* y *Anodonta anatina*, están bajo el mismo peligro y su mortalidad ha aumentado, de hecho, a unos ritmos aún mayores que los de la margaritona, considerándose, a día de hoy, extintas en el Canal Imperial de Aragón (Nakamura et al., 2018; Guerrero et al., 2021).

Dentro de las hipótesis que se barajaron en un primer momento para explicar esta inusual mortalidad, estuvieron las obras de mantenimiento anuales de los canales y la manipulación de ejemplares o muerte natural por envejecimiento de las poblaciones. Estas fueron rechazadas dado que también murieron ejemplares que no habían sido afectados, ni manipulados y entre los que se encontraban jóvenes (Guerrero et al., 2021).

Otras hipótesis plateadas fueron la llegada, a partir de 2006, de bivalvos exóticos, los agentes patógenos o posibles enfermedades y la contaminación. La hipótesis de los patógenos se ha debilitado, ya que las traslocaciones que se han llevado a cabo a tramos superiores del CIA y al río Ebro, no parecen haber aumentado la mortalidad en los ejemplares nativos de náyades allí residentes (Guerrero et al., 2021).

Por ello, la llegada de bivalvos exóticos y la contaminación se presumen como principales causantes del acusado declive. En este contexto, se han detectado en el propio Canal Imperial y aguas que le alimentan varios eventos contaminantes: mortandad puntual de peces por aluminio, vertidos de sulfato de cobre, vertido de pilas y otros elementos con contaminantes, etc. En la localidad de Grisén (punto kilométrico 52 del CIA), durante varios días de febrero y marzo de 2013, se observó cómo camiones y tractores enjuagaban los depósitos con fitosanitarios junto al canal y vertían los restos en el suelo, que por filtración o por escorrentía superficial llegaban al Canal (Catalá et al., 2017).

## 1.4. Justificación

Existen multitud de antecedentes y estudios sobre el vínculo de la contaminación y la elevada mortalidad de organismos acuáticos, en este caso, de náyades. Este trabajo pretende analizar los resultados toxicológicos de numerosas muestras de agua, sustrato y tejido de bivalvos tomadas en el hábitat de *P. auricularius*. La intención es aportar luz sobre el más reciente episodio de mortalidad y poder proponer medidas de gestión y corrección para actuar en consecuencia y evitar la pérdida de una especie tan emblemática en Aragón como es la margaritona.

## 1.5. Objetivos

Objetivo general:

- Estudiar y evaluar los datos físico-químicos y de contaminantes presentes en el río Ebro y el Canal Imperial de Aragón para determinar los posibles efectos sobre la supervivencia de las náyades, con especial énfasis sobre *P. auricularius*.

Objetivos específicos:

- Ordenar, categorizar y analizar los datos recogidos por el Control del Estado de las Masas de Agua Superficiales (CEMAS) de la Confederación Hidrográfica del Ebro (CHE).

- Ordenar, categorizar y analizar los datos obtenidos por el Gobierno de Aragón en referencia a los análisis de agua, sustrato y biota de las muestras recogidas *in situ* en el hábitat de *P. auricularius* desde el año 2013.

- Comprobar si los datos de contaminantes en las distintas matrices están dentro de los rangos establecidos en la normativa ambiental actual y, posteriormente, compararlos con bibliografía específica.

- Interpretar las posibles anomalías derivadas de esos resultados y analizar si algún contaminante podría estar vinculado con el episodio de mortalidad masiva reciente de las náyades en el Canal Imperial de Aragón.

## 1.6. Relación con Objetivos de Desarrollo Sostenible

La investigación contribuye a la promoción del desarrollo sostenible en el marco de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) pertenecientes a la Agenda 2030 sobre el Desarrollo Sostenible, aprobada por la ONU en 2015. La Agenda cuenta con 17 objetivos, desglosados en metas, cuyo cumplimiento garantizará la salud en la relación entre los seres humanos y el medio que les rodea. Así, este trabajo tiene vinculación directa con los ODS 6 y 15 y con algunas de sus correspondientes metas:



"Garantizar la disponibilidad de agua y su gestión sostenible y el saneamiento para todos".

-**Meta 6.6:** De aquí a 2020, proteger y restablecer los ecosistemas relacionados con el agua, incluidos los bosques, las montañas, los humedales, los ríos, los acuíferos y los lagos.



"Gestionar sosteniblemente los bosques, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras, detener la pérdida de biodiversidad".

-**Meta 15.1:** Para 2020, velar por la conservación, el restablecimiento y el uso sostenible de los ecosistemas terrestres y los ecosistemas interiores de agua dulce y los servicios que proporcionan, en particular los bosques, los humedales, las montañas y las zonas áridas, en consonancia con las obligaciones contraídas en virtud de acuerdos internacionales.

-**Meta 15.5:** Adoptar medidas urgentes y significativas para reducir la degradación de los hábitats naturales, detener la pérdida de la diversidad biológica y, para 2020, proteger las especies amenazadas y evitar su extinción.

-**Meta 15.8:** Para 2020, adoptar medidas para prevenir la introducción de especies exóticas invasoras y reducir de forma significativa sus efectos en los ecosistemas terrestres y acuáticos y controlar o erradicar las especies prioritarias.

-**Meta 15.a:** Movilizar y aumentar de manera significativa los recursos financieros procedentes de todas las fuentes para conservar y utilizar de forma sostenible la diversidad biológica y los ecosistemas.

## 2. Material y métodos

### 2.1. Área de estudio

Dentro de la cuenca del Ebro (Fig. 7), las dos masas de agua estudiadas en este trabajo son el tramo medio del río Ebro, desde Tudela hasta Zaragoza y el Canal Imperial de Aragón, entre su origen en El Bocal, muy cerca de Tudela, punto kilométrico (PK) 0 y el PK 86 en la ciudad de Zaragoza.



Figura 7. Localización de las masas de agua objeto de estudio: río Ebro desde Tudela hasta Zaragoza y Canal Imperial de Aragón. Elaboración propia.

## 2.2. Datos del Control del Estado de las Masas de Agua Superficiales

Para cumplir con las exigencias de la DMA, la CHE cuenta con distintas herramientas para controlar la calidad de las aguas. Los datos usados en el presente trabajo son parte de los recogidos por el Control de Estado de las Masas de Agua Superficiales (CEMAS).

El CEMAS consta de varias redes:

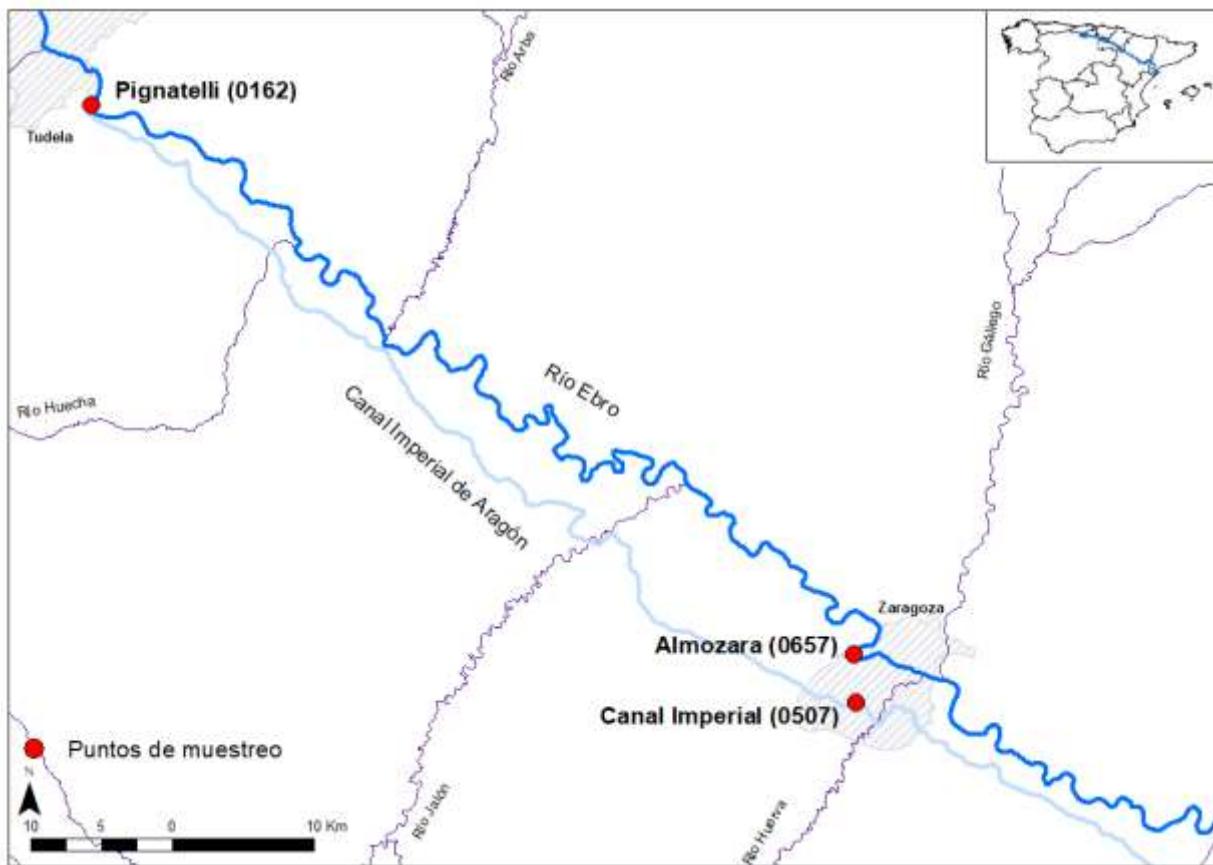
- La red control de vigilancia, que se ocupa de variables como la temperatura del aire y del agua, los sólidos en suspensión, oxígeno disuelto, pH, nitratos, etc.
- La red control operativo analiza las mismas variables que la anterior, pero está especialmente enfocada a masas de agua con riesgo de no cumplir sus objetivos medioambientales. Además, dentro de esta red se incluyen los planes de control específicos, que son, atendiendo al distinto origen de las sustancias peligrosas que examinan:
  - La Red de Control de Sustancias Peligrosas (RCSP), para el control de la contaminación de origen fundamentalmente industrial/puntual.
  - La Red de Control de Plaguicidas (RCP) destinada a controlar la contaminación de origen agrícola/difuso.

Los datos físico-químicos del agua de los análisis de las redes de control y de la RCP y la RCSP utilizados en el trabajo se han obtenido de la *Web de Consulta de datos de Calidad de Aguas Superficiales*, una aplicación informática de la CHE.

Con el fin de caracterizar los pares de datos (fecha Resultado de la variable) a lo largo de los ejes seleccionados de las dos masas de agua: el río Ebro en su tramo medio y el CIA, se ha elegido como punto de partida para ambas masas de agua el punto aguas arriba donde nace el CIA: la estación R0448 Ebro/Pignatelli (El Bocal). Como punto final, en el río se ha escogido la estación R0542 Ebro/Zaragoza-Almozara, y como punto final en el CIA, la estación R0886 Canal Imperial/Zaragoza. En la Tabla 2 se detallan las relaciones entre las estaciones y los puntos de muestreo elegidos y en la Figura 8 se localizan espacialmente.

**Tabla 2. Estaciones y puntos de muestreo del CEMAS objeto de estudio.**

Estación	Punto de muestreo	Nombre
R0448	0162-FQ	Ebro/Pignatelli
R0542	0657-FQ	Ebro/Zaragoza-Almozara
R0886	0507-FQ	Canal Imperial/Zaragoza



**Figura 8. Localización espacial de las estaciones del CEMAS objeto de estudio. Elaboración propia.**

Se ha documentado una serie de 20 años de datos, desde 1991 hasta 2021. Entre ellos, variables físico-químicas del agua como: sólidos en suspensión, pH, conductividad (20 °C), temperatura del agua, oxígeno disuelto, nitratos, fosfatos, sulfatos y amonio. También las concentraciones de los siguientes metales pesados: cobre, cadmio, cromo, hierro, mercurio, níquel, plomo y zinc; y de los plaguicidas: alacloro, aldrín, atrazina, clorfenivos, clorpirimifos, dielldrín, diurón, endrín, heptacloro, hexaclorobenceno, isodrín, isoproturón, metolacloro, DDT, DDD, DDE, simazina, terbutilazina, terbutrina y trifuralina.

## 2.3. Datos del Gobierno de Aragón

El Gobierno de Aragón, dentro del Plan de Recuperación de la gran almeja de río, ha muestreado y analizado (mediante encargo a laboratorios externos), desde 2013 hasta 2020, numerosas muestras de agua, sedimentos y biota (tejido de *Corbicula* spp. y *P. auricularius*) tomadas en diferentes puntos del hábitat de la especie. Los compuestos objeto de estudio fueron metales pesados y contaminantes como plaguicidas o residuos de productos industriales.

El uso de almeja asiática en los análisis de biota se debe, básicamente, a su elevada presencia en el medio. Por el contrario, se dispone de pocas muestras de tejido de margaritona, ya que, aunque se encuentran muchos ejemplares muertos, sus cuerpos blandos ya han desaparecido.

Las tomas de muestras se han realizado en los puntos señalados en la Figura 9, a lo largo del tramo medio del Ebro y del CIA.

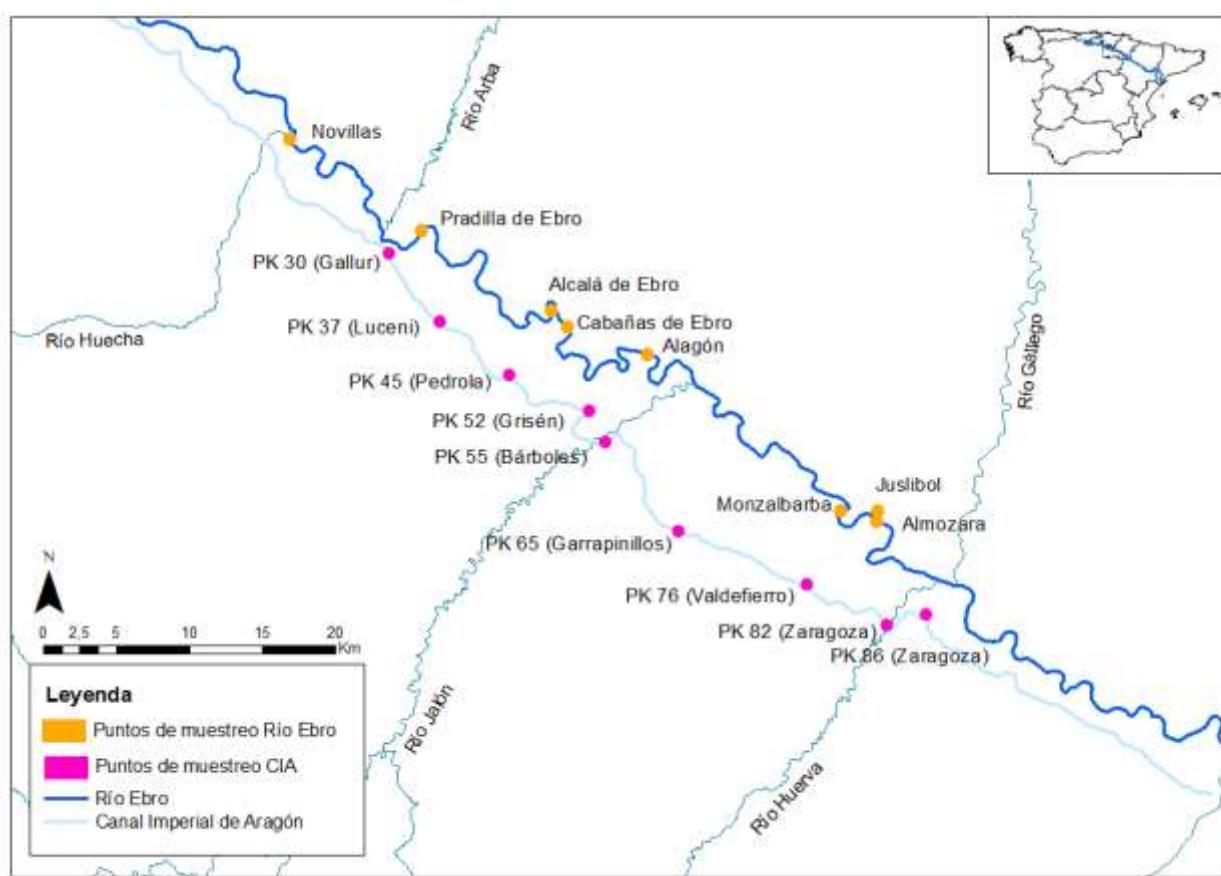


Figura 9. Localización de los muestreos llevados a cabo por el Gobierno de Aragón. Elaboración propia.

En la Tabla 3 se indican los tipos de muestra, el año, el origen, el laboratorio que las analizó y el método de detección.

**Tabla 3. Caracterización de las muestras recogidas por el Gobierno de Aragón.**

Muestra	Año	Origen	Laboratorio	Método de detección
Agua	2013	CIA	SALUD	Metales (Al, Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb): ICP-OES <sup>1</sup> .
	2013	CIA	CHE	Metales (Ar, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb): ICP-MS <sup>2</sup> . Metal Se: Fluorescencia atómica Se. Metal Hg: Fluorescencia atómica Hg. Pesticidas: SBSE <sup>3</sup> /CG/MS <sup>4</sup> .
	2017	Ebro, CIA	SALUD	Metales (Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, Se): ICP-MS. Amonio: Cromatografía iónica.
Sustrato	2013	CIA	CHE	Metales (Cd, As, Se): ICP-MS. Metales (Cr, Cu, Ni, Pb, Zn): ICP-OES. Metal Hg: combustión y absorción atómica (vapor frío). Pesticidas: CG/MS.
	2018	Ebro, CIA	IPROMA	Metales (Cd, Cu, As, Zn, Cr, Pb, Ni): ICP-MS. Metal Hg: EAA.
	2018	Ebro, CIA	Laboratorio Agro- ambiental	Pesticidas: GC-MS.
	2020	CIA	Laboratorio Agro- ambiental	Pesticidas: GC-MS.
	2020	Ebro, CIA	IPROMA	Metales (Cd, Cu, As, Zn, Cr, Pb, Ni): ICP-MS. Metal Hg: EAA <sup>5</sup> .
Biota	2013	CIA	CHE	Metales (Cd, As, Se): ICP-MS. Metales (Cr, Cu, Ni, Pb, Zn): ICP-OES. Metal Hg: combustión y absorción atómica (vapor frío).
	2013 y 2014	CIA	IREC	Metales: EAA. Pesticidas: GC-MS.
	2018	Ebro, CIA	IPROMA	Metales (Cd, Cu, As, Zn, Cr, Pb, Ni): ICP-MS. Metal Hg: EAA.
	2018	Ebro, CIA	Laboratorio Agro- ambiental	Pesticidas: GC-MS/MS.
	2020	Ebro, CIA	IPROMA	Metales (Cd, Cu, As, Zn, Cr, Pb, Ni): ICP-MS. Metal Hg: EAA.
	2020	CIA	Laboratorio Agro- ambiental	Pesticidas: GC-MS.

<sup>1</sup> Espectroscopía de emisión atómica de plasma de acoplamiento inductivo.

<sup>2</sup> Espectroscopía de masas de plasma de acoplamiento inductivo.

<sup>3</sup> Extracción por sorción sobre barra agitadora.

<sup>4</sup> Cromatografía de gases/espectrometría de masas.

<sup>5</sup> Espectroscopía de absorción atómica.

## **2.4. Análisis y tratamiento de los datos**

Los datos se han ordenado convenientemente en tablas y se han realizado gráficas para visualizar la evolución temporal de cada parámetro en cada punto de muestreo, con el objetivo de estudiar las tendencias y detectar anomalías en las series.

De la misma forma se han calculado los estadísticos descriptivos básicos (media, desviación típica, máximos y mínimos) para cada localidad. Se ha comprobado la normalidad o no de los datos (Kolmogorov-Smimov) y, posteriormente, se ha evaluado la significancia de las tendencias de evolución temporal que se reflejan en las gráficas: P de Pearson (paramétrica) o Rho de Spearman (no paramétrica). Finalmente, para comparar los valores de cada variable entre localidades se realizó un test de diferencias de medias. Se utilizó t de Student (paramétrico) o U de Mann Whitney (no paramétrico), según correspondía.

Posteriormente, los datos se contrastaron con el RD 817/2015, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental. De esta forma se comprobó si las concentraciones de los contaminantes están dentro de los límites aceptables de calidad. A su vez, se ha contrastado con la bibliografía específica (experimentos o ensayos toxicológicos) para conocer cómo esas concentraciones podrían afectar en la supervivencia de *P. auricularius* y, en general, de las náyades.

### 3. Resultados

#### 3.1. Variables físico-químicas del agua

Las variables físico-químicas estudiadas fueron: sólidos en suspensión (mg/l), pH, conductividad a 20 °C ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), temperatura del agua (°C), oxígeno disuelto (mg/l), nitratos (mg/l), fosfatos (mg/l), sulfatos (mg/l) y amonio (mg/l).

En las figuras 10-18 se exponen, en forma de gráfica, las variables fisicoquímicas en los puntos de muestreo del CEMAS 0162-FQ: Ebro/ Pignatelli (“Tudela”), 0507-FQ: Canal Imperial/ Zaragoza (“CIA en Zaragoza”) y 0657-FQ: Ebro/ Zaragoza-Almozara (“río en Zaragoza”).

El periodo de tiempo máximo estudiado comprende los años entre 1991 y 2021, si bien se debe apreciar que en algunos de los casos el comienzo de la toma de datos no se produce en los mismos años.

En las gráficas de **sólidos en suspensión** (Fig. 10) se observa una tendencia a disminuir en todas las estaciones a lo largo de los años. Se aprecian también dos picos anormales en Tudela (736 mg/l) y en el CIA (1360 mg/l). Los valores medios rondan los 27-56 mg/l de sólidos en suspensión, existiendo también valores tan bajos como 1 o 5 mg/l.

El comportamiento de los valores de **pH** es heterogéneo entre las 3 tres estaciones de muestreo. En Tudela va incrementándose ligeramente desde 1991; en el CIA, disminuyendo y en el río en Zaragoza se mantiene estable (Fig. 11). Aun así, las variaciones son muy ligeras y los valores medios son muy similares, encontrándose entre 8,05 y 8,1. Los valores más extremos se han dado, ambos, en el CIA, correspondiendo a valores de 7 y 9.

La **conductividad** del agua parece incrementarse en todas las estaciones (Fig. 12). Los valores históricamente más altos se han dado en el Ebro en Zaragoza, que cuenta con una media de 1338  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y unos máximos de hasta 2400  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , frente a los valores medios de aproximadamente 900  $\mu\text{S}/\text{cm}$  en Tudela y en el CIA.

La **temperatura del agua** (Fig. 13) se muestra, de media, muy estable en el tiempo, mostrando las típicas variaciones correspondientes a las estaciones del año. Esta estabilidad se encuentra también en los valores entre estaciones, con medias muy similares entorno a los 15 °C.

Las gráficas del **oxígeno disuelto** (Fig.14) revelan una tendencia a la baja en el periodo de estudio, especialmente en el CIA, donde se parte, en los años 2000, de valores medios de 10 mg/l, para acabar en la actualidad rozando los 8 mg/l. Los valores mínimos registrados son de 5,8 mg/l (río en Zaragoza) y los más altos alcanzan los 15,9 mg/l (CIA en Zaragoza).

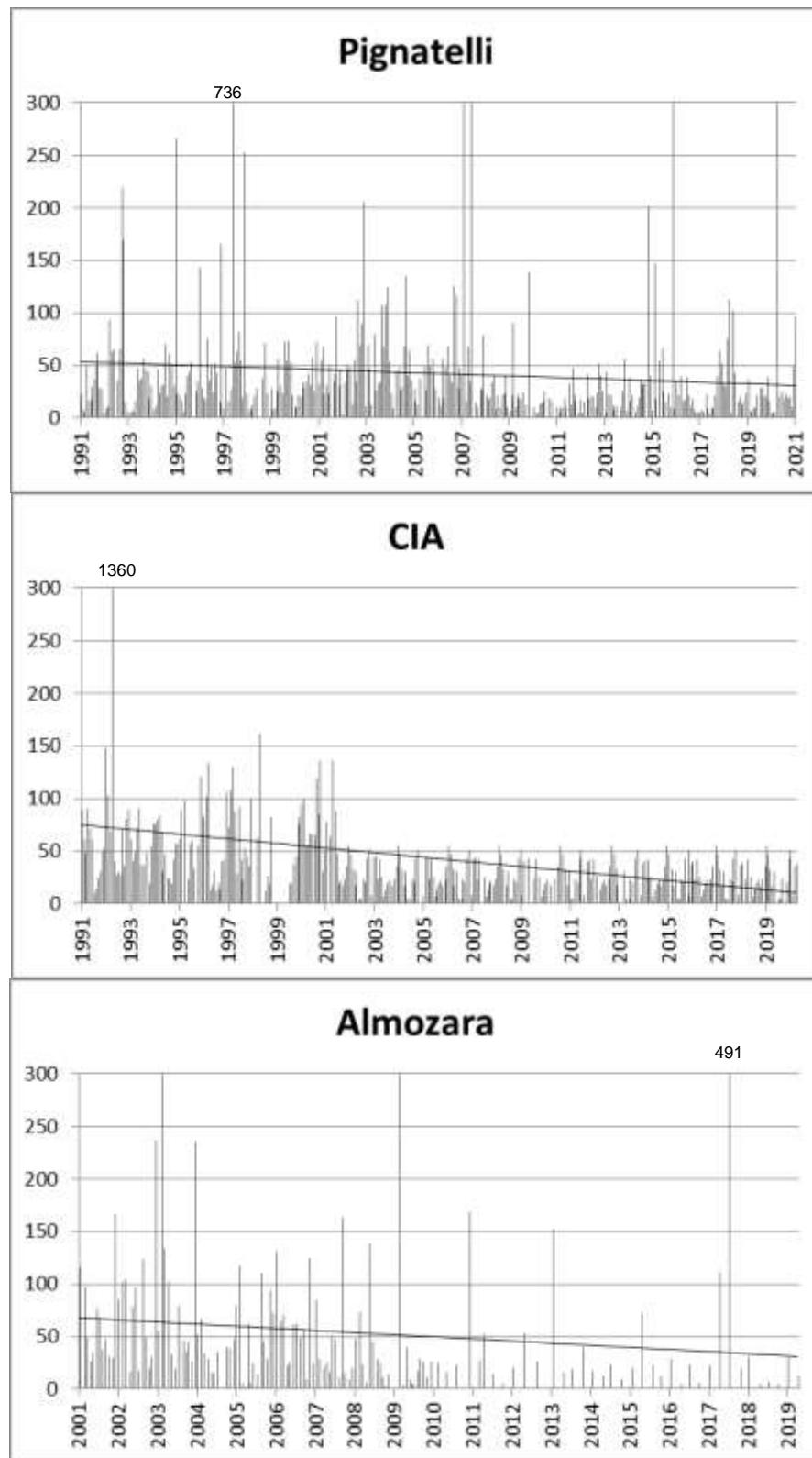
Los **nitratos** muestran una bajada bastante drástica de sus concentraciones en todas las estaciones (Fig. 15). La más notable se observa en el CIA, pues se parten de unos niveles medios de 20 mg/l en los años 90 y desciende a la mitad, quedando a día de hoy valores medios de 10 mg/l de nitratos. En Tudela y el Ebro en Zaragoza, las bajadas rondan los 5 puntos de media. Los valores puntuales más altos se han dado en el CIA, llegando a un máximo de 44,9 mg/l en 2004. El valor más bajo también se ha registrado en el canal y corresponde a 2 mg/l de nitratos.

Los **fosfatos** (Fig. 16) muestran asimismo una bajada acusada, especialmente en la estación de Tudela (también esta estación es la que históricamente ha contado con concentraciones más altas: su media es de 0,245 mg/l frente a los 1,6 mg/l de media de las otras dos estaciones). En Tudela se registró un pico anormalmente elevado: 2,72 mg/l en 1992.

La representación gráfica de los **sulfatos** muestra una aparente tendencia al alza de los mismos en Tudela, mientras que en el CIA y en el río a su paso por Zaragoza, parecen haber descendido ligeramente a lo largo del periodo estudiado (Fig.17). Es destacable la diferencia entre la media del río en Zaragoza (266 mg/l) respecto a las otras dos estaciones (126-154 mg/l). Además, esta estación es la única que ha superado regularmente los 400 mg/l.

El **amonio** (Fig. 18) muestra un comportamiento muy diferente entre las estaciones de Tudela y el CIA: mientras que en la primera los valores más altos (alrededor de 1 mg/l) se encuentran en los años 1991-1995, en el CIA, el incremento (valores que rondan los 0,7 mg/l) se ha dado en los últimos años. En el Ebro en Zaragoza, los valores son estables, por debajo de los 0,2 mg/l.

Sólidos en suspensión (mg/l)	Pignatelli	CIA	Almozara
Media	42,181	27,33	56,00
Desviación estándar	62,17	14,68	60,548
Mínimo	1	5	2
Máximo	736	1360	491



**Figura 10. Sólidos en suspensión. Valores medios, mínimos y máximos. Valores y tendencias en serie histórica 1991-2021. \*2001-2021 en Almozara.**

pH	Pignatelli	CIA	Almozara
Media	8,04	8,12	8,035
Desviación estándar	0,250	0,198	0,21
Mínimo	7,2	7	7,4
Máximo	8,6	9	8,5

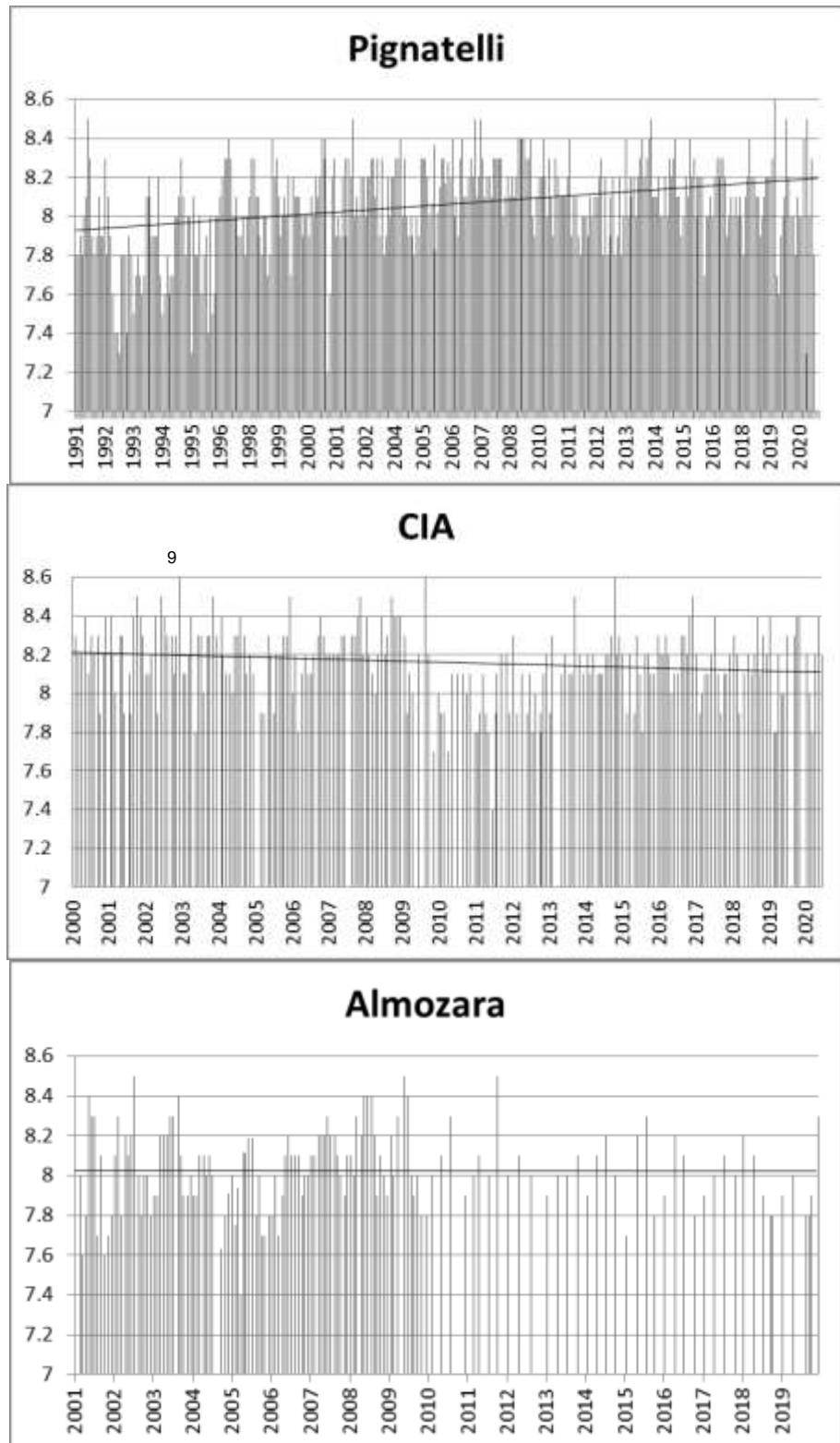
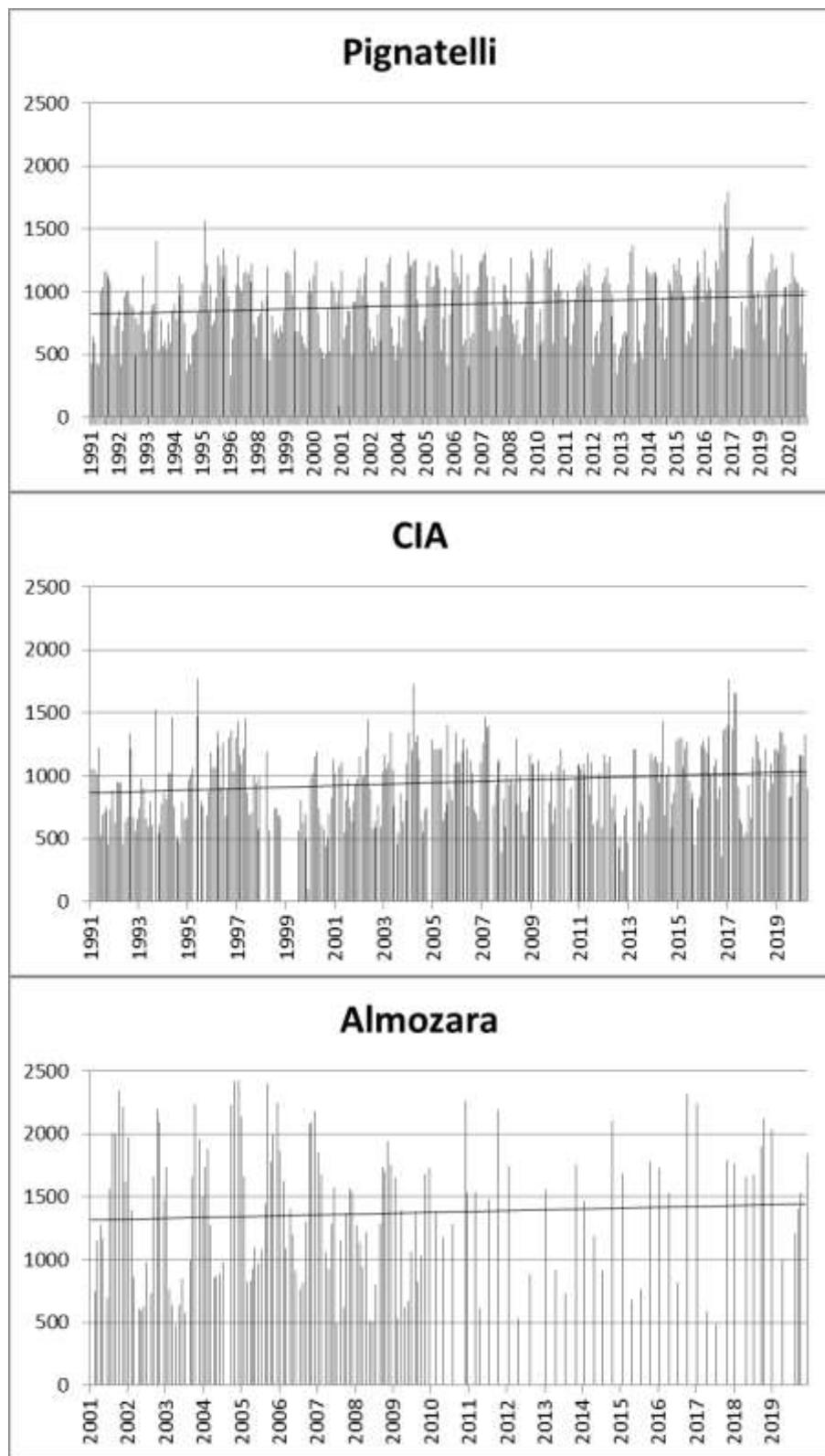


Figura 11. Resultados de pH. Valores medios, mínimos y máximos. Valores y tendencias en serie histórica

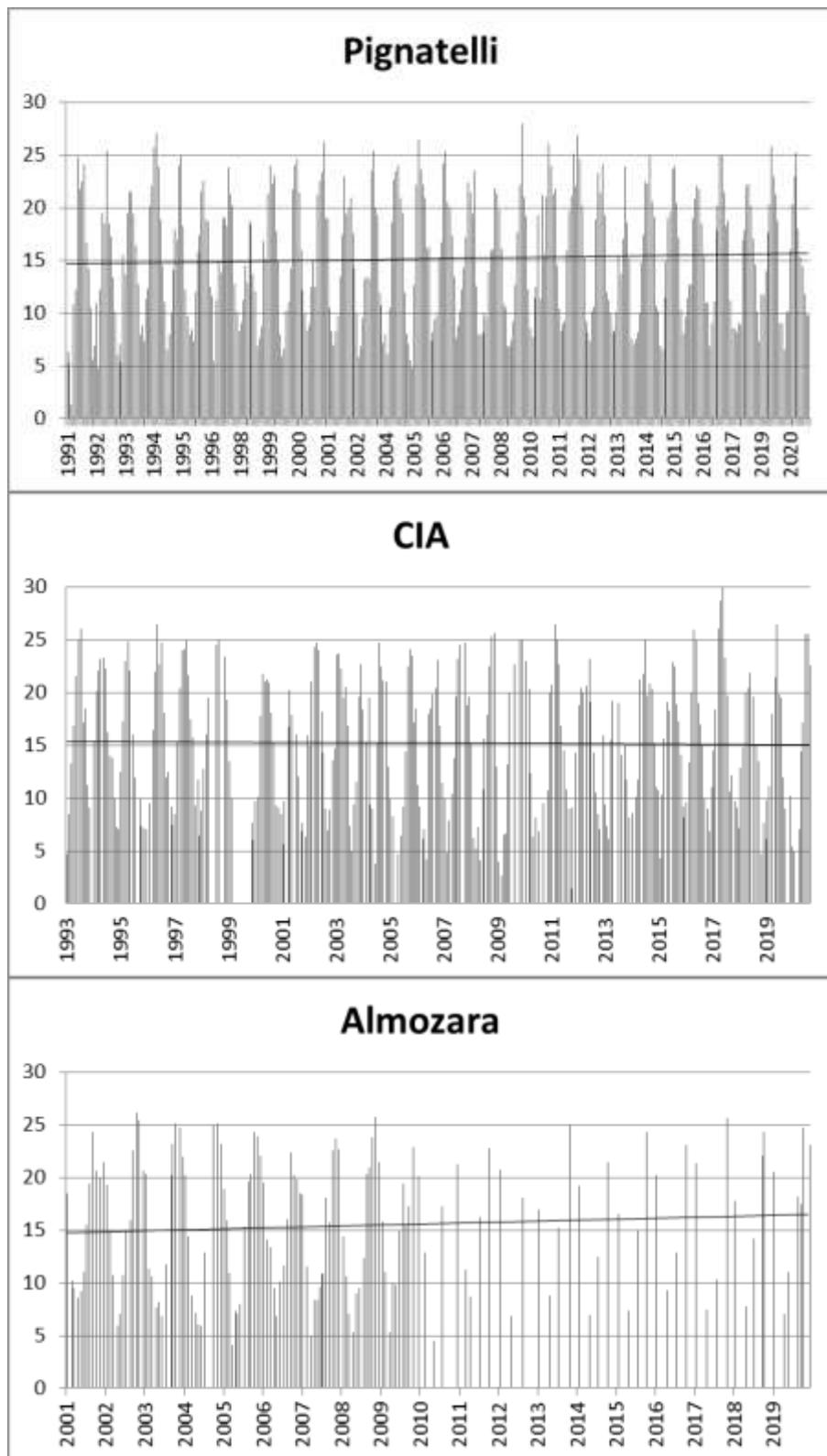
\*1991-2021 en Pignatelli. \*2000-2021 en CIA. \*2001-2021 en Almozara.

<b>Conductividad a 20ºC (<math>\mu\text{S/cm}</math>)</b>	Pignatelli	CIA	Almozara
Media	879,57	978,24	1338,51
Desviación estándar	269,66	283,873	545,21
Mínimo	97,0	244,0	447,0
Máximo	1568,0	1768,0	2430,0



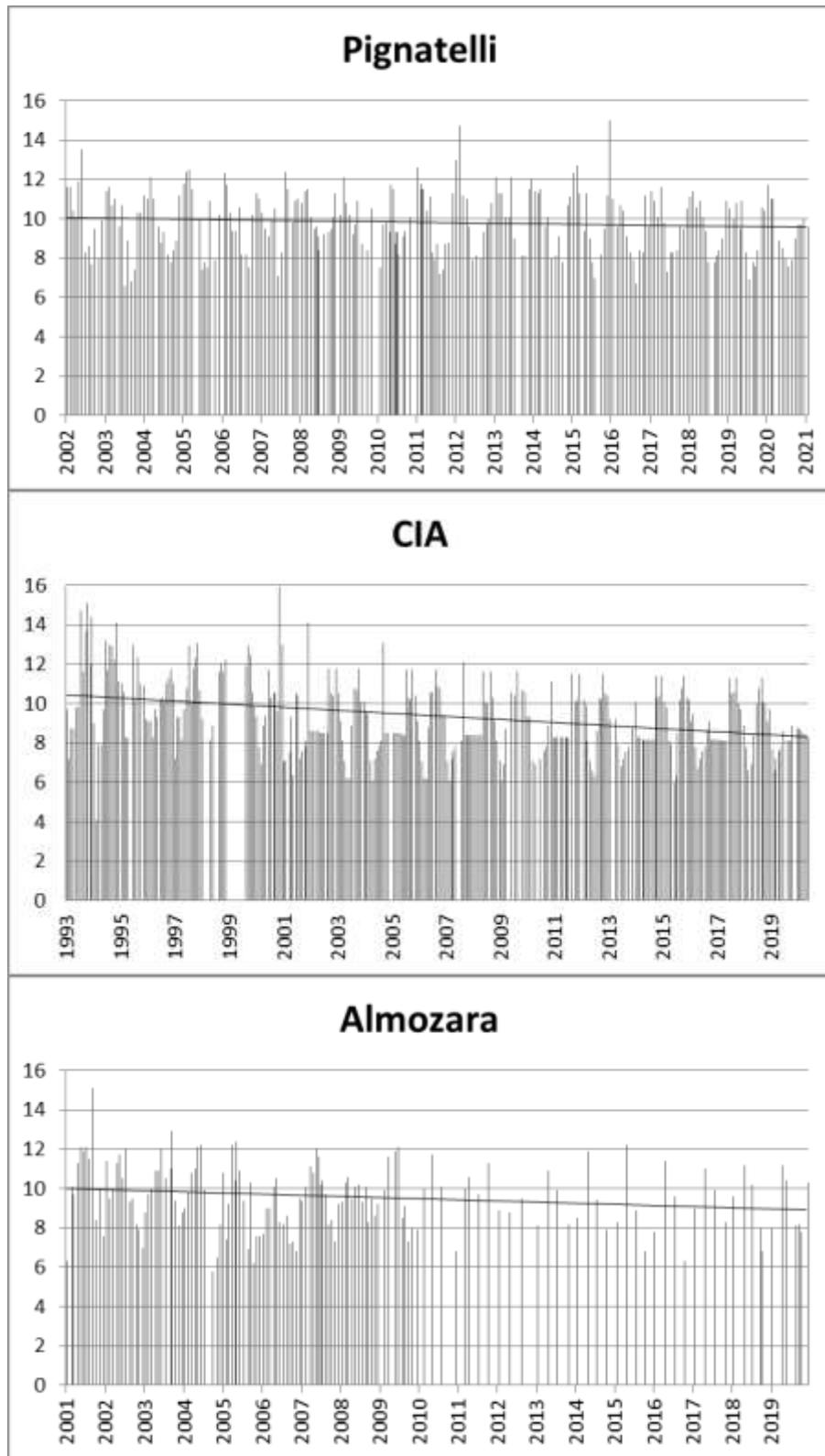
**Figura 12. Conductividad a 20 °C. Valores medios, mínimos y máximos. Valores y tendencias en serie histórica 1991-2021. \*2001-2021 en Almozara**

Temperatura del agua (°C)	Pignatelli	CIA	Almozara
Media	15,89	15,26	15,120
Desviación estándar	6,064	6,668	6,25
Mínimo	1,3	1	4,1
Máximo	28	31	26,2



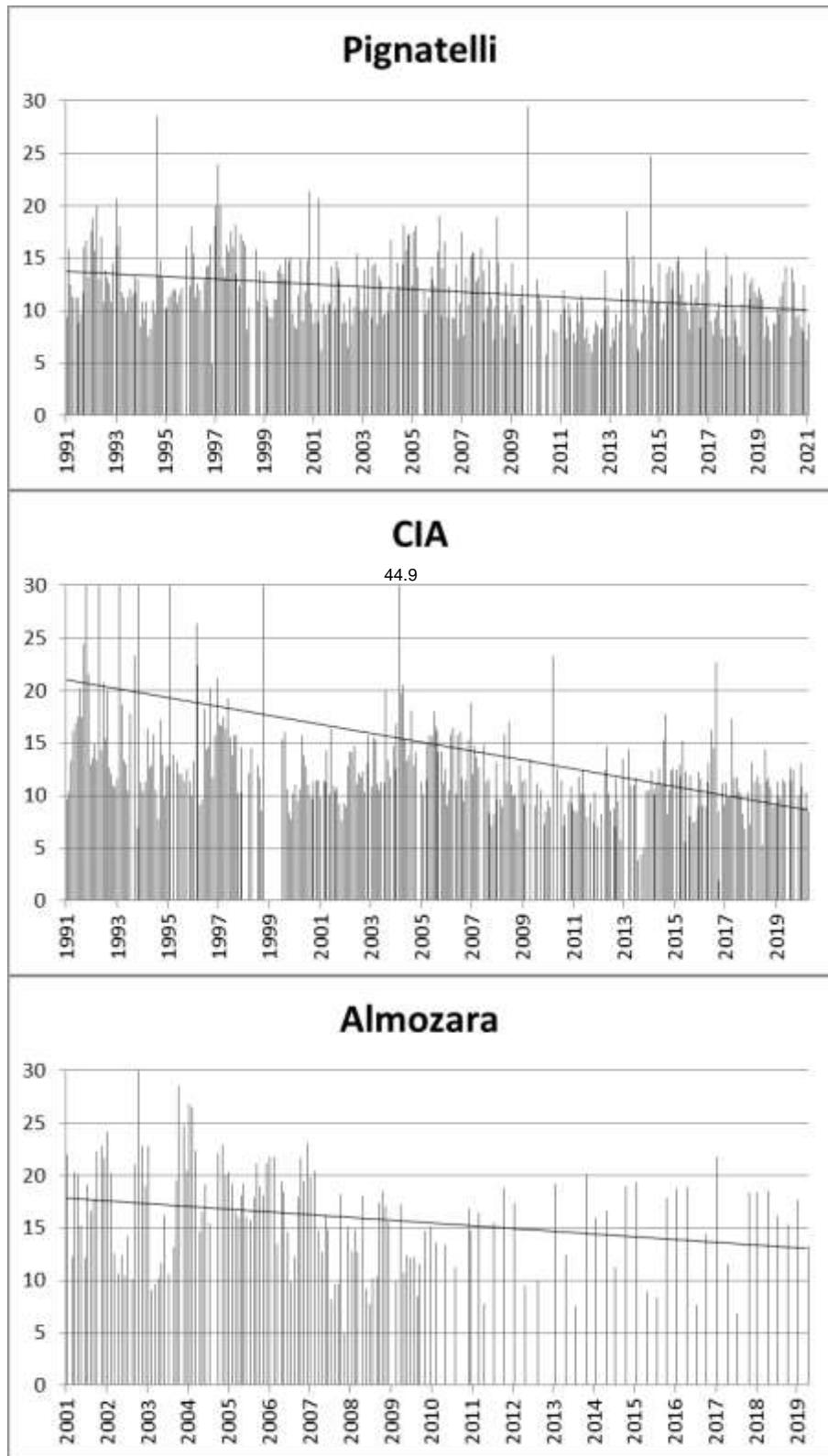
**Figura 13. Temperatura del agua. Valores medios, mínimos y máximos. Valores y tendencias en serie histórica \*1991-2021 en Pignatelli. \*1993-2021 en CIA. \*2001-2021 en Almozara.**

Oxígeno disuelto (mg/l)	Pignatelli	CIA	Almozara
Media	9,826	8,89	9,68
Desviación estándar	1,55	1,415	1,658
Mínimo	6,60	6	5,8
Máximo	15,00	15,9	15,10



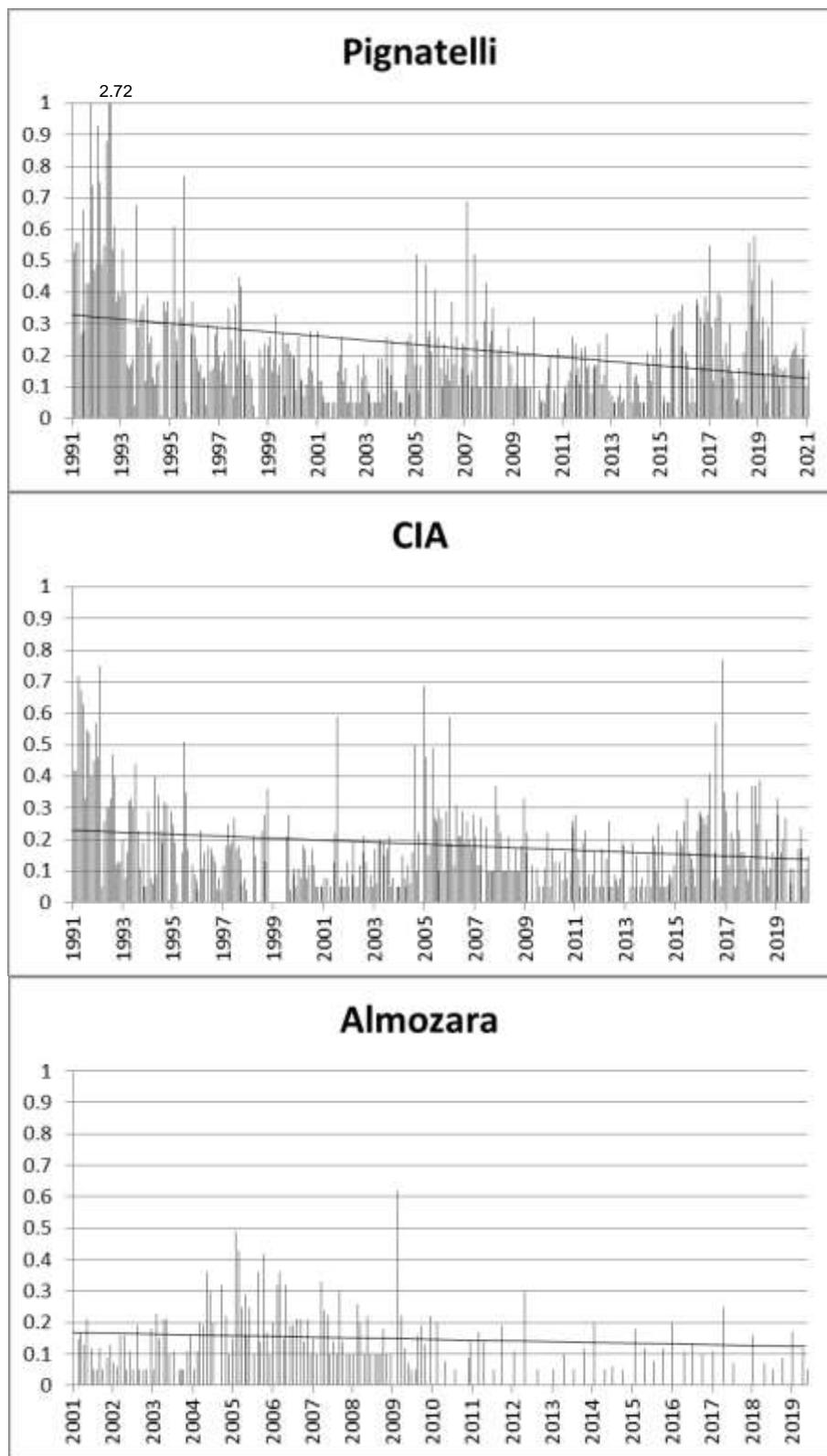
**Figura 14. Oxígeno disuelto. Valores medios, mínimos y máximos. Valores y tendencias en serie histórica**  
 \*1991-2021 en Pignatelli. \*1993-2021 en CIA. \*2001-2021 en Almozara.

Nitratos (mg/l)	Pignatelli	CIA	Almozara
Media	12,64	14,81	16,15
Desviación estándar	3,60	3,027	5,0
Mínimo	4,9	2,0	5,0
Máximo	29,50	44,9	30,5



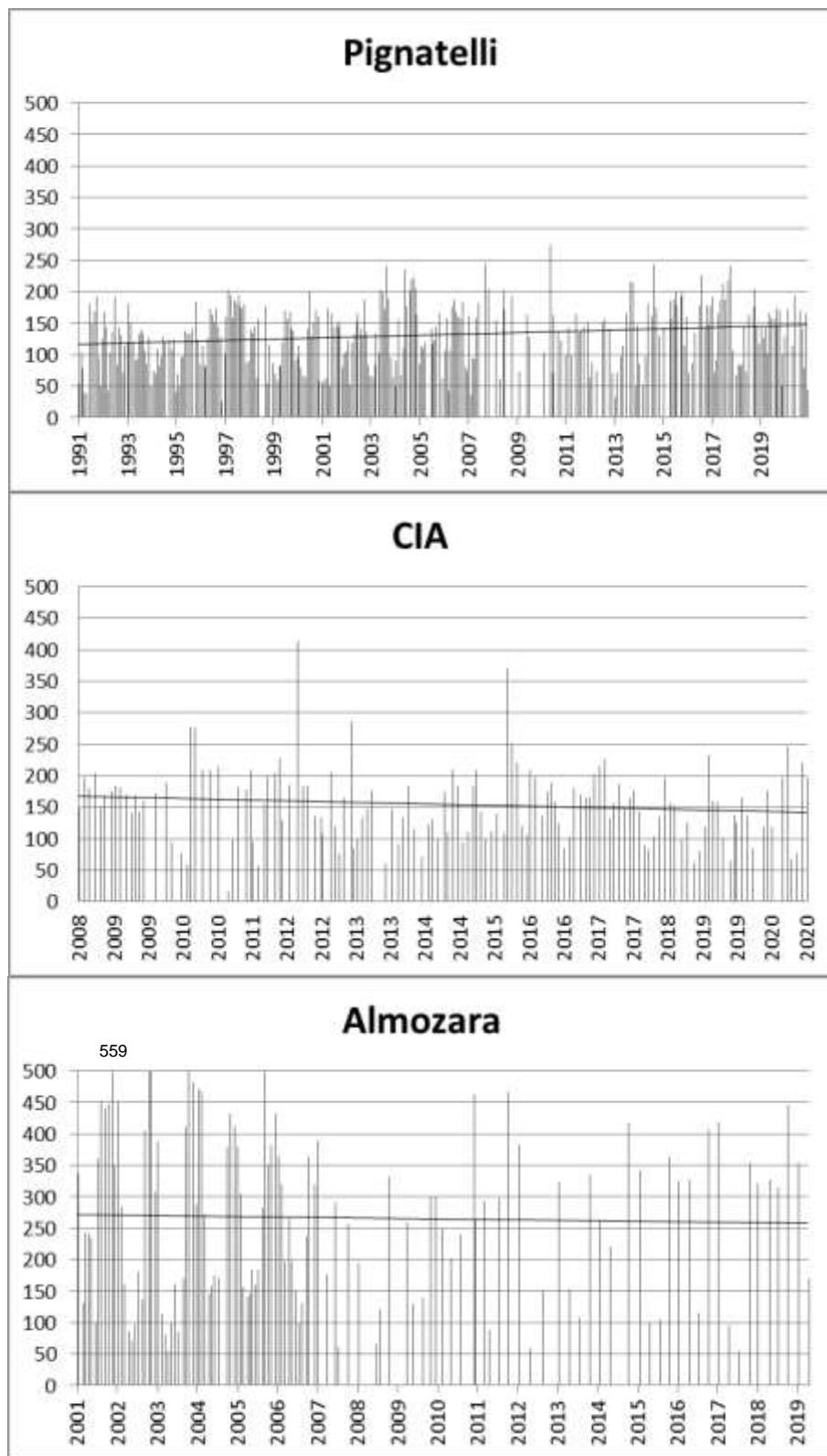
**Figura 15. Nitratos. Valores medios, mínimos y máximos. Valores y tendencias en serie histórica 1991-2021. \*2001-2021 en Almozara.**

<b>Fosfatos (mg/l)</b>	Pignatelli	CIA	Almozara
Media	0,2454	0,16	0,159
Desviación estándar	0,060	0,110	0,101
Mínimo	0,0	0,0	0,05
Máximo	2,72	0,77	0,62



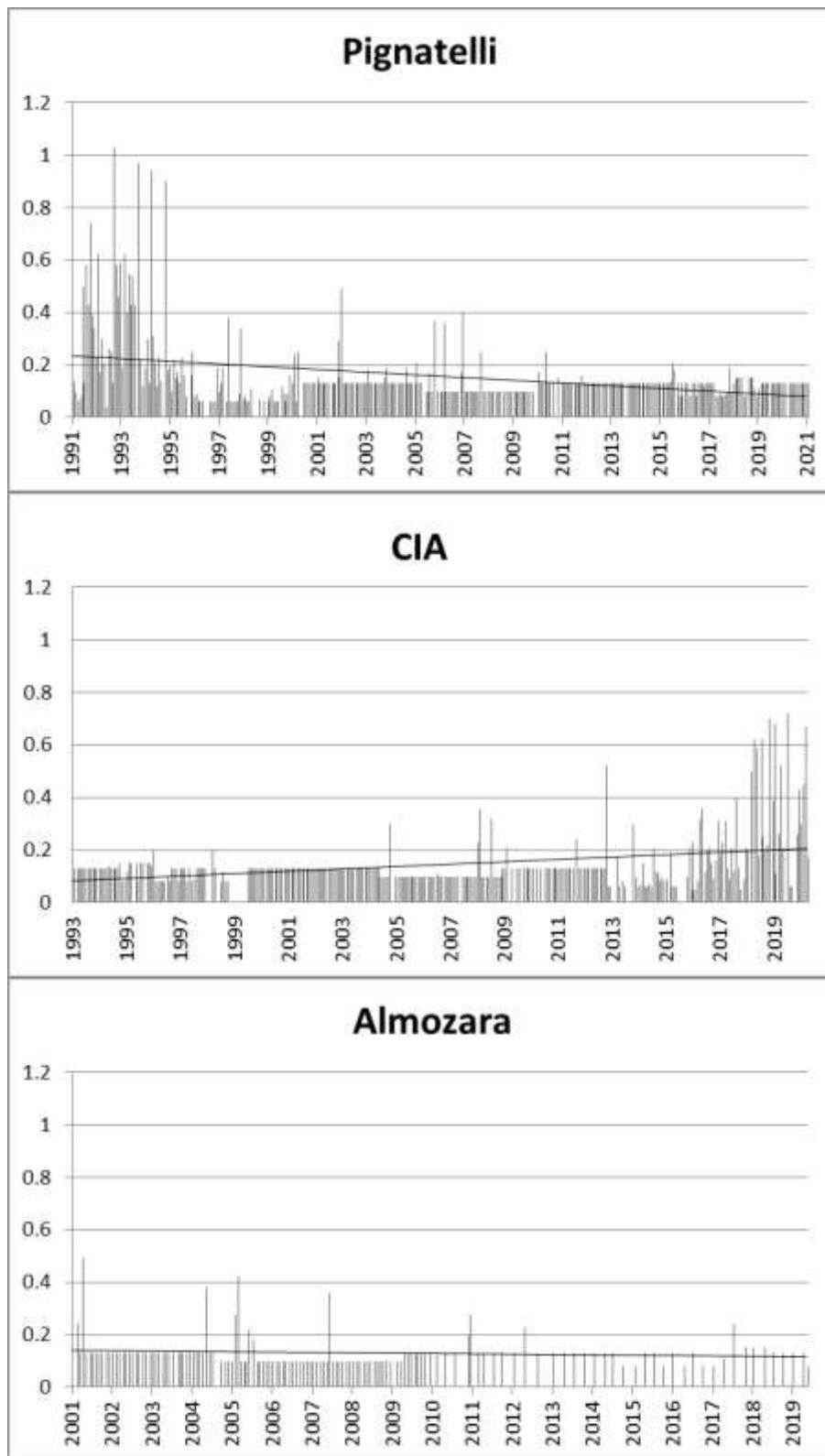
**Figura 16. Fosfatos. Valores medios, mínimos y máximos. Valores y tendencias en serie histórica 1991-2021. \*2001-2021 en Almozara.**

<b>Sulfatos (mg/l)</b>	Pignatelli	CIA	Almozara
Media	126,37	154,78	266,66
Desviación estándar	48,42	58,691	132,872
Mínimo	25,90	17	53,80
Máximo	275	414	559



**Figura 17. Sulfatos. Valores medios, mínimos y máximos. Valores y tendencias en serie histórica**  
 \*1991-2021 en Pignatelli. \*2008-2021 en CIA. \*2001-2021 en Almozara.

Amonio (mg/l)	Pignatelli	CIA	Almozara
Media	0,120	0,18	0,1334
Desviación estándar	0,161	0,152	0,061
Mínimo	0	0	0,10
Máximo	1,03	1	0,49



**Figura 18. Amonio. Valores medios, mínimos y máximos. Valores y tendencias en serie histórica**  
 \*1991-2021 en Pignatelli. \*1993-2021 en CIA. \*2001-2021 en Almozara.

### 3.1.1. Análisis estadístico de los datos

Los conjuntos de datos con distribución normal (aplicando el test de Kolmogorov-Smirnov) han resultado ser los sulfatos en Pignatelli y en el CIA y el oxígeno disuelto y nitratos en la Almozara (Tabla 4).

**Tabla 4. Pruebas de normalidad de las variables analizadas ( $p\text{-value}>0,05$  distribución normal).**

Variable	Pignatelli		CIA		Almozara	
	n	p-value	n	p-value	n	p-value
Sólidos en suspensión	348	0,000	323	0,000	143	0,000
pH	349	0,000	231	0,000	145	0,004
Conductividad 20 °C	349	0,015	323	0,044	145	0,029
Temperatura del agua	350	0,001	303	0,003	151	0,000
Oxígeno disuelto	231	0,001	300	0,000	144	<b>0,200</b>
Nitratos	347	0,004	323	0,001	144	<b>0,159</b>
Fosfatos	349	0,000	323	0,000	144	0,000
Sulfatos	303	<b>0,089</b>	135	<b>0,200</b>	121	0,002
Amonio	349	0,000	299	0,000	145	0,000

Aplicando, en función de su normalidad o no, los test P de Pearson y Rho de Spearman (Tabla 5), para correlacionar las variables a través de los años, se puede confirmar si las tendencias de las gráficas que se observan son estadísticamente significativas y, por tanto, reales.

**Tabla 5. Tendencia de las distintas variables a lo largo de los años ( $p\text{-value}<0,05$ ).**

Variable	Pignatelli		CIA		Almozara	
	Coeficiente de correlación	p-value	Coeficiente de correlación	p-value	Coeficiente de correlación	p-value
Sólidos en suspensión	-0,235	<b>0,000</b>	-0,418	<b>0,000</b>	-0,425	<b>0,000</b>
pH	0,307	<b>0,000</b>	-0,167	<b>0,011</b>	0,017	0,836
Conductividad 20°C	0,144	<b>0,006</b>	0,191	<b>0,001</b>	0,041	0,616
Temperatura del agua	0,043	0,479	0,016	0,783	0,055	0,501
Oxígeno disuelto	-0,101	0,127	-0,318	<b>0,000</b>	-0,185	<b>0,024</b>
Nitratos	-0,320	<b>0,000</b>	-0,411	<b>0,000</b>	-0,260	0,108
Fosfatos	-0,209	<b>0,000</b>	-0,125	<b>0,025</b>	-0,077	0,360
Sulfatos	0,335	<b>0,000</b>	-0,125	0,148	-0,041	0,654
Amonio	-0,132	<b>0,014</b>	0,126	0,138	-0,144	0,085

Los resultados, tras estos análisis (Tabla 6), indican una disminución real de la concentración de sólidos en suspensión en los períodos estudiados, puesto que en todas las estaciones esta tendencia ha resultado ser significativa a la baja. Las variaciones de pH a lo largo del tiempo han sido significativas en Pignatelli y en CIA. Resulta llamativo que en la primera la tendencia sea al alza y en el CIA el pH tiende a disminuir. Los resultados para la conductividad del agua a 20°C indican una tendencia al alza en las estaciones Pignatelli y CIA. La disminución del oxígeno disuelto en el agua resulta significativa para las estaciones CIA y Almozara. Los nitratos y los fosfatos tienen una tendencia significativamente descendente desde 1991 hasta la actualidad en las estaciones de Pignatelli y CIA. Respecto a los sulfatos, se observa una tendencia significativa en Pignatelli, que resulta ser ascendente. El amonio desciende significativamente en la estación de Pignatelli.

Cabe señalar que, aunque los *p-value* han resultado estadísticamente significativos, las correlaciones son muy débiles, siendo la más alta de 0,4.

**Tabla 6. Variables con tendencias significativas a aumentar o disminuir con el paso de los años.**

Pignatelli	CIA	Almozara
Sólidos en suspensión↓ pH↑ Conductividad↑ Nitratos↓ Fosfatos↓ Sulfatos↑ Amonio↓	Sólidos en suspensión↓ pH↓ Conductividad↑ Oxígeno disuelto↓ Nitratos↓ Fosfatos↓	Sólidos en suspensión↓ Oxígeno disuelto↓

Mediante el test U de Mann Whitney (Tabla 7) se han comparado las medias de las variables con variaciones de tendencias más marcadas en cada punto de muestreo (en el periodo 2001-2021, para poder comparar con la localidad de la Almozara, que empiezan en esa fecha) con el fin de estudiar si existen diferencias significativas entre el inicio y el final del CIA (Pignatelli-CIA), a lo largo del río Ebro entre Tudela y Zaragoza (Pignatelli-Almozara) y, también, entre las propias masas de agua, comparando los valores de las dos estaciones aguas abajo CIA-Almozara.

**Tabla 7. Diferencias entre medias de las variables analizadas ( $p\text{-value}<0.05$  diferencia significativa).**

	Eje del Canal (Pignatelli-CIA)	Eje del tramo del río Ebro (Pignatelli-Almozara)	Diferencias Ebro y CIA (CIA-Almozara)
Variable	$p\text{-value}$	$p\text{-value}$	$p\text{-value}$
Sólidos en suspensión	0,979	<b>0,006</b>	<b>0,002</b>
Conductividad 20°C	0,07	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
Oxígeno disuelto	<b>0,000</b>	0,232	<b>0,000</b>
Nitratos	0,159	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
Sulfatos	<b>0,014</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>

El río Ebro sufre más variaciones a lo largo del eje estudiado (Tudela-Zaragoza), pues tiene un mayor número de variables con diferencias entre medias (sólidos en suspensión, conductividad, nitratos y sulfatos).

El CIA sufre variaciones entre su inicio y el tramo medio solo en el caso del oxígeno disuelto y en los sulfatos.

Se observa cómo las masas de agua del río Ebro y el CIA son diferentes entre sí, dado que las medias de las variables estudiadas en la Tabla 7 son significativamente diferentes entre las estaciones del CIA y del río en Zaragoza.

### 3.2. Contaminantes en agua

Los resultados de los valores de metales pesados presentes en las diferentes localidades son variables (Tabla 8).

**Tabla 8. Estadísticos de los metales pesados para los distintos puntos de muestreo.**

		Pignatelli	CIA	Almozara
<b>Cadmio</b> µg/l	N	208	23	95
	Media	0,3325	0,344	0,86
	Desviación estándar	0,50	0,424	0,41
	Mínimo	0	0	0,003
	Máximo	3	1	3
<b>Cobre</b> µg/l	N	296	85	81
	Media	4,6	3,76	2,8
	Desviación estándar	13,1	5,17	15,0
	Mínimo	0	0	0,9
	Máximo	210	40	11
<b>Níquel</b> µg/l	N	9	7	2
	Media	0,046	2,61	-
	Desviación estándar	0,084	0,95	-
	Mínimo	0,5	2	2
	Máximo	4,6	4,6	6
<b>Plomo</b> µg/l	N	285	23	70
	Media	2,8	3,5	4,49
	Desviación estándar	5,1	6,4	3
	Mínimo	0	0	0
	Máximo	50	30	10
<b>Zinc</b> µg/l	N	199	88	82
	Media	31,1	36,7	28
	Desviación estándar	36	68	22
	Mínimo	0	2	2
	Máximo	427	280	101
<b>Cromo</b> µg/l	N	208	21	66
	Media	2,356	1,40	2,722
	Desviación estándar	4,70	0,94	4,23
	Mínimo	0	0	0
	Máximo	36	2	35
<b>Mercurio</b> µg/l	N	207	21	96
	Media	0,046	0,047	0,1
	Desviación estándar	0,084	0,053	0,04
	Mínimo	0	0	0,05
	Máximo	0,5	2	0,21
<b>Arsénico</b> µg/l	N	208	21	67
	Media	0,712	1,385	1,402
	Desviación estándar	1,333	2,123	0,624
	Mínimo	0	0	2
	Máximo	10	10	2,67

El **cadmio** presenta valores medios de 0,3 µg/l en Pignatelli y CIA, aumentando considerablemente en Almozara, donde su media es de 0,8 µg/l. Alcanza unos valores máximos muy altos, de 3 µg/l registrados en Pignatelli en los años 1992 y 2002 y en Almozara en el año 2002.

El **cobre** tiene unos valores medios entre 2,8 y 4,6 µg/l, si bien existe un máximo de 40 µg/l en CIA (1992) y otro especialmente alto en Pignatelli, llegando a los 210 µg/l en 1994.

Los datos correspondientes al **níquel** tienen un tamaño muestral tan pequeño que resulta poco representativo. La media de Pignatelli es de 0,046 mientras que la del CIA es más alta: 2,61 µg/l.

Los valores del **plomo** tienen unas medias entre 2,8 y 4,49 µg/l, unos mínimos de 0 y unos máximos que llegan hasta concentraciones de 50, 30 y 10 µg/l en Pignatelli (1993), CIA (1993) y Almozara (2002), respectivamente.

El **zinc** muestra unos valores medios entre 28 y 36,7 µg/l, alcanzando valores muy por encima puntualmente: 101 µg/l en Almozara (2002), 280 µg/l en CIA (1999) y hasta 427 µg/l en Pignatelli (2001).

El **cromo** tiene unos valores medios de entre 2,3 y 2,7 µg/l, salvo en el CIA, donde el resultado es de 1,40 µg/l, si bien en esta última estación el tamaño muestral es más pequeño. Cuenta con dos picos (36 y 35 µg/l) en Pignatelli y Almozara, ambos en el año 2003.

Los valores medios de concentración de **mercurio** tienen unos valores prácticamente iguales en Pignatelli y CIA, mientras en la Almozara se doblan: 0,1 µg/l de mercurio de media. Destaca un valor pico en el CIA de 2 µg/l, en 2009, frente a los máximos de las otras estaciones, que son de 0,5 y 0,2 µg/l.

El **arsénico** presenta unos valores medios entre 0,7 y 1,4 µg/l. Los máximos de 10 µg/l presentes en torno al año 1991.

## Comparación de resultados en agua con valores máximos del RD 817/2015

Se contrastan los datos de metales pesados, pesticidas (alacloro, aldrín, atrazina, clorfenvifos, clorpirifos, dieldrín, diurón, endrín, heptacloro, hexaclorobenceno, isodrín, isoproturón, metolacloro, DDT, DDD, DDE, simazina, terbutilazina, terbutrina y trifuralina) y los resultados de los datos de los muestreos *in situ* obtenidos por el Gobierno de Aragón con los valores máximos del Real Decreto 817/2015, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental.

Como resultado, se detecta el incumplimiento de la NCA-CMA (Norma de Calidad Ambiental -Concentración Máxima Admisible) establecida para el nonilfenol en el PK 52 del CIA, en 2013. El dato corresponde a una concentración de 2,4 µg/l de la sustancia en agua, siendo el límite 2 µg/l (Tabla 9).

La concentración del cadmio ha sobrepasado la NCA-CMA indicada en el RD en varias ocasiones: en 1992 y 2020 llegó a 3 µg/l en la estación de Pignatelli y en 2002 alcanzó la misma concentración en la estación de la Almozara. En 2002 se detectaron 2 µg/l de cadmio en Pignatelli y en Almozara y, en 2010, se volvió a alcanzar ese nivel en Pignatelli (Tabla 9).

**Tabla 9. Resultados de la comparación de los valores de metales pesados y pesticidas con el RD 817/2015 en agua. \*NCA-MA: Norma de Calidad Ambiental - Media Anual. \*NCA-CMA: Norma de Calidad Ambiental - Concentración Máxima Admisible.**

Elemento	RD 817/2015		Estaciones de la CHE (CEMAS)					Gobierno de Aragón		
	NCA-MA* (µg/l)	NCA-CMA* (µg/l)	Pignatelli (µg/l)	Año	CIA	Almozara (µg/l)	Año	CIA (µg/l)	Año	Ebro
Nonilfenol	0,3	2,0	-	-	-	-	-	2,4 (PK 52)	2013	-
Cadmio y sus compuestos	0,25 (clase 5) <sup>1</sup>	1,5 (clase 5) <sup>1</sup>	3	1992 y 2020	-	3	2002	-	-	-
			2	2002 y 2010	-	2	2002	-	-	-

<sup>1</sup> Depende de la dureza del agua. Al caso de estudio corresponde Clase 5:  $\geq 200 \text{ mg CaCO}_3/\text{l}$ .

### 3.3. Contaminantes en sedimento

Las muestras de sedimento analizadas por el Gobierno de Aragón, tomadas en 2013, 2018 y 2020, provienen de distintos puntos del río Ebro y del CIA (Figuras 8 y 9). En algunos años no se muestrearon todas las zonas, por lo que aparecen en blanco. El año 2020 fue en el que se cubrieron más puntos. Los resultados de concentración de metales pesados en sedimento se muestran en las figuras 19 y 20.

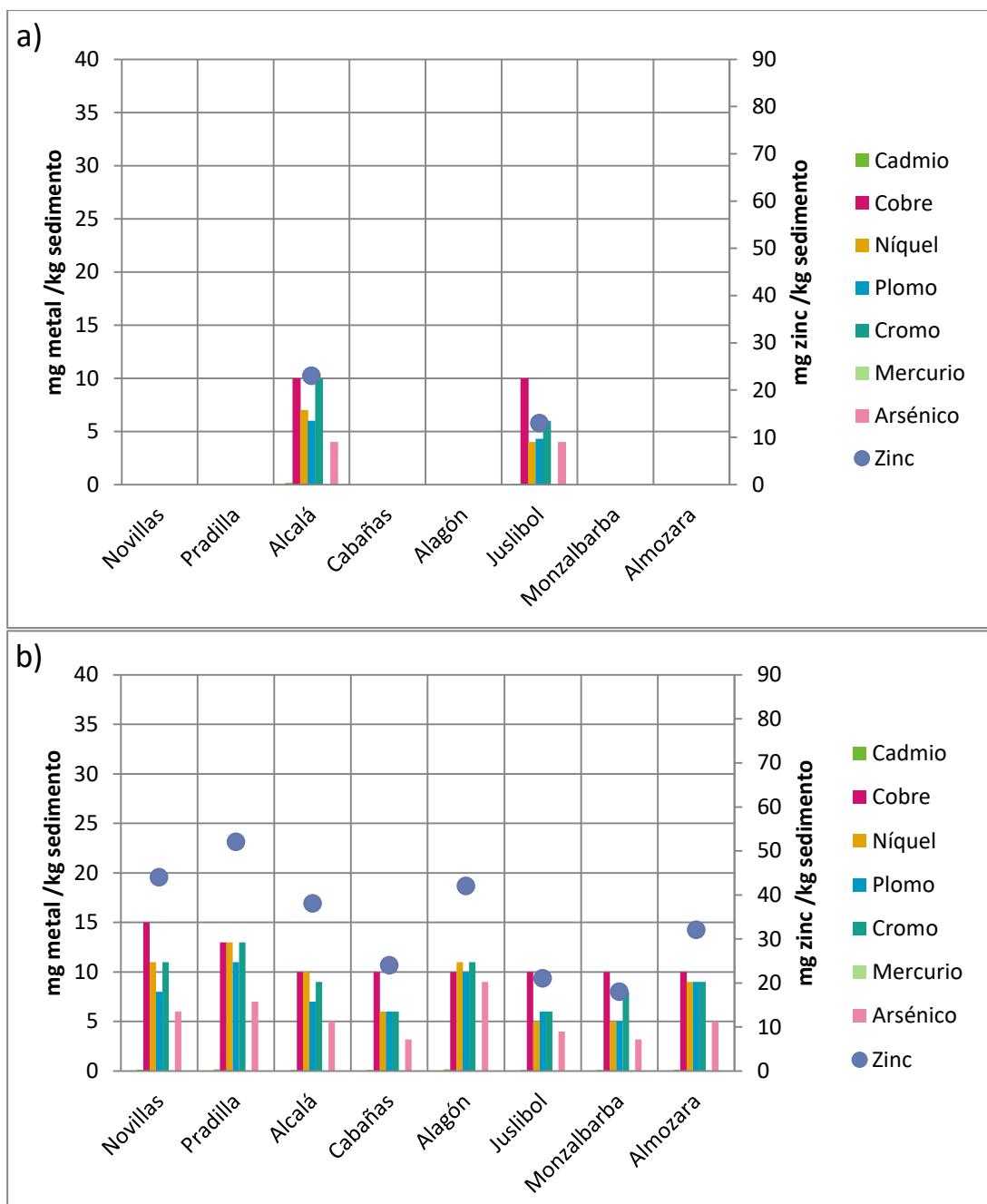


Figura 19. Resultados de metales pesados en sedimento en las localizaciones del río Ebro en a) 2018 y b) 2020. \* Zinc en eje secundario.

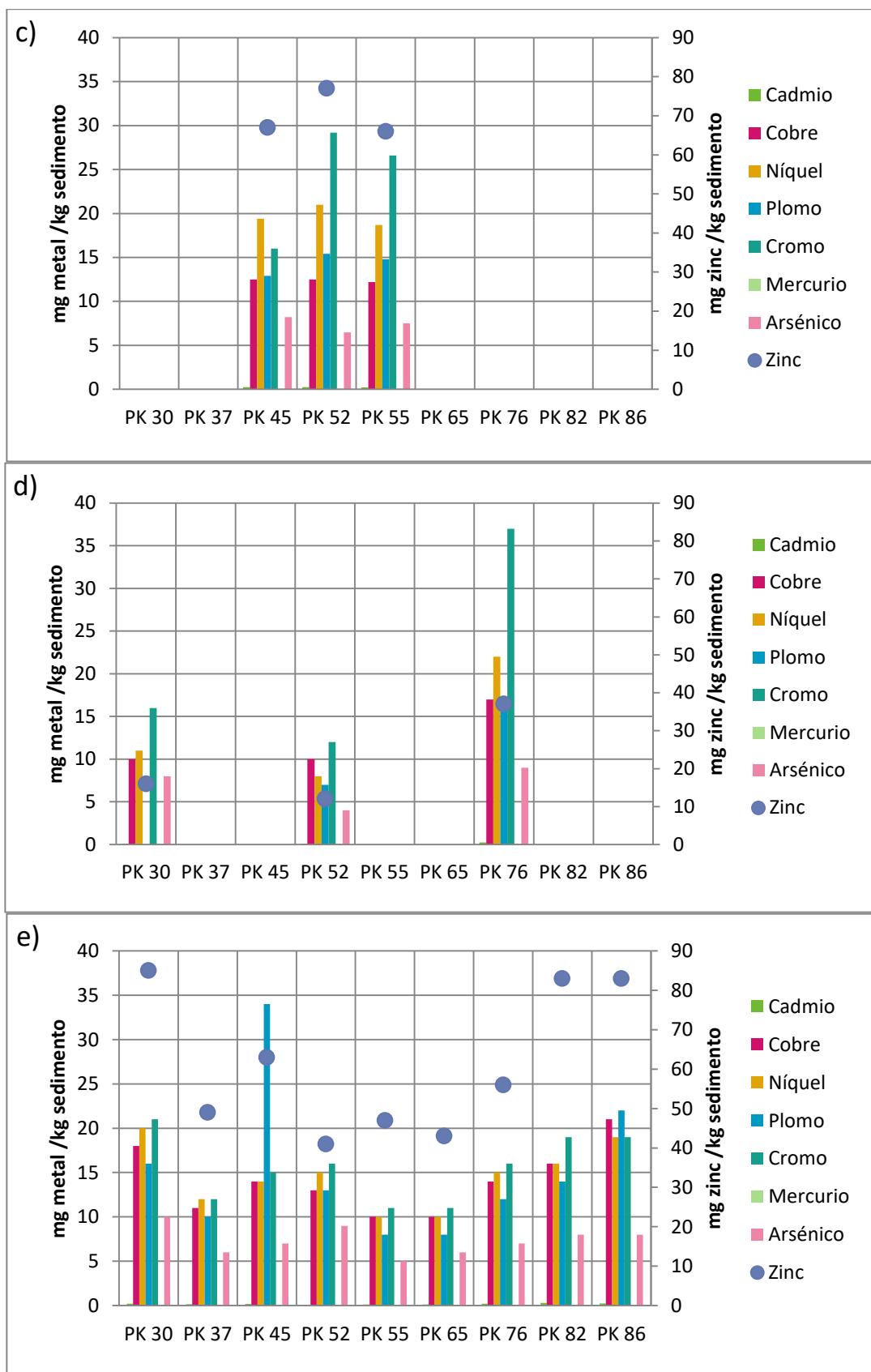


Figura 20. Resultados de metales pesados en sustrato en las localizaciones del CIA en c) 2013, d) 2018 y e) 2020. \*Zinc en eje secundario.

En el río Ebro, destaca el aumento de concentración de zinc, especialmente en la localidad de Alcalá, que permite la comparación en dos años: de 23 mg/kg (2018) a 38 mg/kg (2020) (Fig. 19). Además, este metal es el que muestra mayor variabilidad entre localidades, pues los valores del resto son similares a lo largo del río Ebro.

En el CIA, el zinc ha tenido una fuerte bajada en sus concentraciones de 2013 a 2018: de casi 80 mg/kg a un máximo que no llega a los 40 mg/kg (Fig. 20). De 2018 a 2020 los valores de varios PK vuelven a incrementarse, superando los 80 mg/kg.

El cromo (Fig. 20) es otro metal que sufre variaciones notables. En 2013 alcanzaba concentraciones de casi 30 mg/kg, para, en 2018, no llegar a los 10 mg/kg. En 2020, los valores varían entre 10 y 20 mg/kg, según el PK.

El plomo (Fig. 20) destaca porque en 2020, en el PK 45, alcanza los 34 mg/kg, mientras que en otros PK y otros años sus valores rondan los 10-20 mg/kg.

En 2020, de todos los pesticidas analizados en el sedimento del río Ebro, se han encontrado concentraciones de los siguientes compuestos (Anexo I): DEET (0,006 mg/kg sedimento) y en el CIA, de fludioxonil (0,003-0,004 mg/kg sedimento).

### **Comparación de resultados de sedimento**

El RD 817/2015 obliga a realizar un seguimiento y análisis trienal pero no queda indicada la NCA para muestras de sedimento, por lo que no se pueden comparar los valores obtenidos con la legislación española. La toxicidad de los sedimentos es más difícil de establecer por la interacción química en el mismo, que determina su biodisponibilidad (de Castro-Catalá et al., 2016).

Así, los datos del Gobierno de Aragón se han contrastado con las Guías de Calidad Ambiental Internacionales (Interim Sediment Quality Guideline, ISQG) (Canadian Council of Ministers of the Environment, 2001), encontrándose que el arsénico supera en numerosas ocasiones el nivel establecido en la ISQC (Tabla 10), en varios PK del CIA durante los años 2013, 2018 y 2020. También se supera el nivel en el río Ebro en Alagón, Novillas y Pradilla en el muestreo del año 2020.

El plomo en el PK del CIA, en 2020, está en el límite y a punto de superar los niveles indicados, pero sin llegar a hacerlo (Tabla 10).

**Tabla 10. Resultados de la comparación de los valores de metales pesados con la ISQC en sedimento.**

Elemento	ISQC (mg/kg)	Gobierno de Aragón			
		CIA (mg/kg)	Año	Ebro (mg/kg)	Año
Arsénico	5,9	8,2 (PK 45)	2013	9 (Alagón)	2020
		6,47 (PK 52)		6 (Novillas y Pradilla)	
		7,51 (PK 55)			
		8 (PK 30)	2018		
		9 (PK 76)			
		10 (PK 30)	2020		
		6 (PK 37)			
		7 (PK 45)			
		9 (PK 52)			
		6 (PK 65)			
		7(PK 76)			
		8 (PK 82)			
		8 (PK 86)			
Plomo	35,0	34 (PK45)	2020	-	-

### 3.4. Contaminantes en biota

Las muestras de sedimento analizadas por el Gobierno de Aragón arrojan los siguientes datos de contaminantes en los cuerpos blandos de *Corbicula* spp. (Figs. 21 y 22) y de *P. auricularius* (Fig. 23). Para la náyade, los únicos metales analizados han sido el plomo, el cadmio y el arsénico, y las muestras datan del 2013 y 2014.

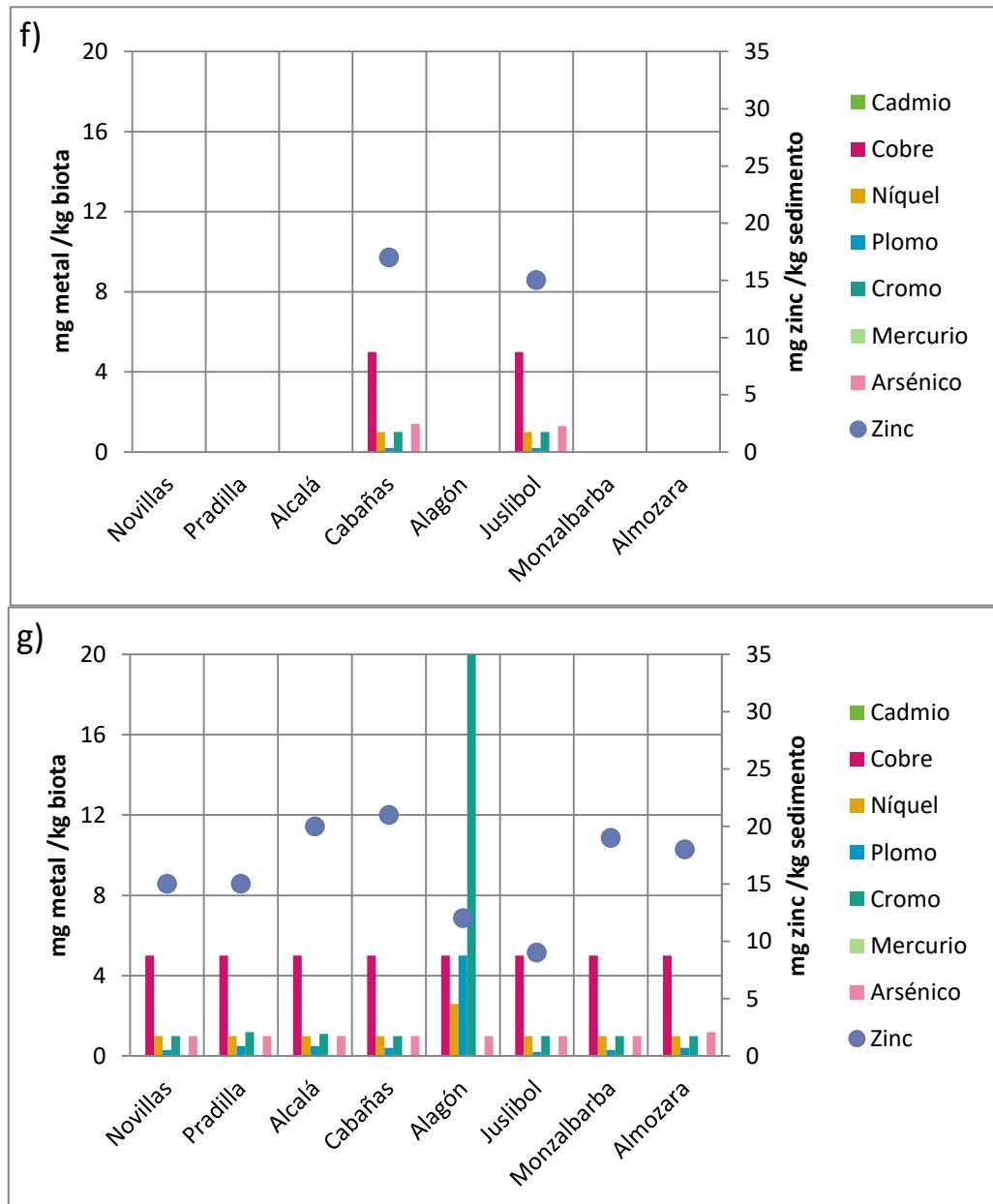


Figura 21. Resultados de metales en tejido de *Corbicula* spp. en las localizaciones del río Ebro en f) 2018 y g) 2020. \*Zinc en eje secundario.

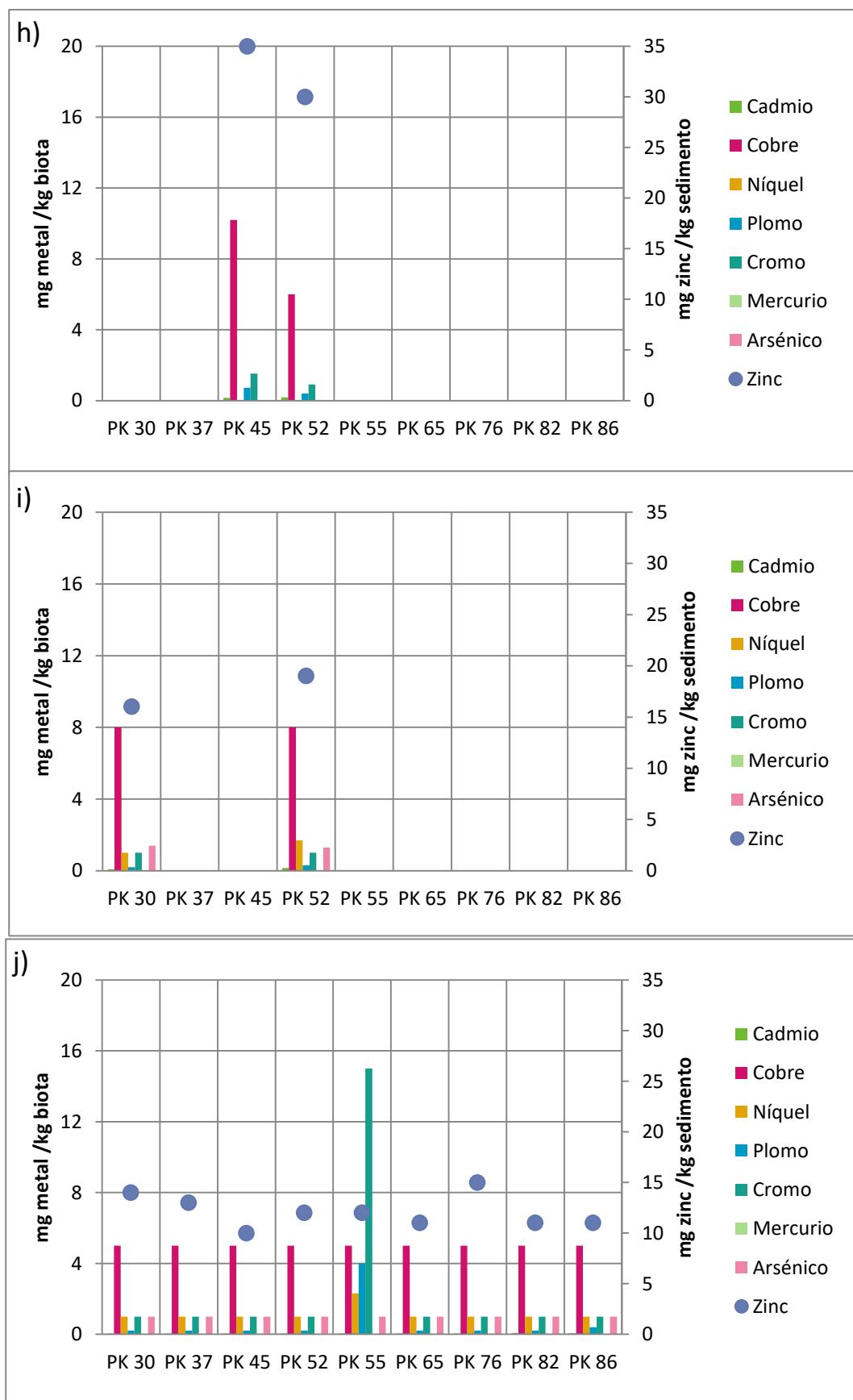


Figura 22. Resultados de metales en tejido de *Corbicula* spp. en las localizaciones del CIA en h) 2013, i) 2018 y j) 2020. \* Zinc en eje secundario.

El dato más llamativo de estos resultados, en el río Ebro, es el cromo (Fig. 21): en 2018 las almejas de Cabañas y Juslibol contaban con concentraciones de 1 mg/kg. En 2020, en todas las localizaciones, la concentración también era de 1 mg/kg, menos en Alagón, donde alcanza los 20 mg/kg.

En los tejidos de almeja asiática sucede un fenómeno similar al del sedimento respecto a las concentraciones de zinc: son elevadas y variables.

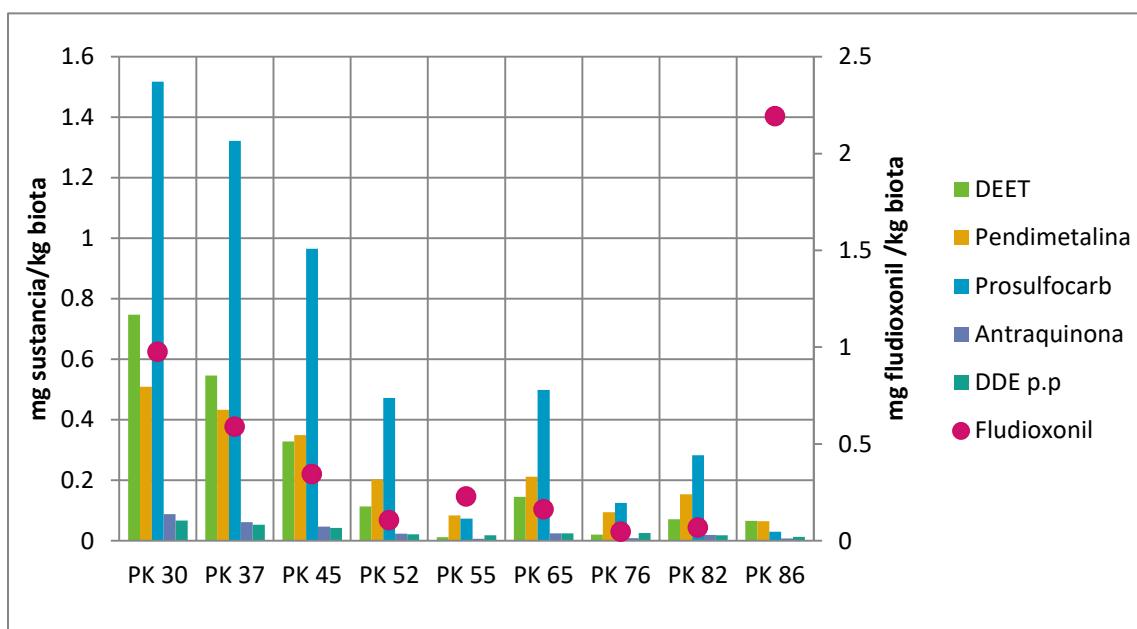
Destacan también los valores de níquel (2,6 mg/kg) y de plomo (5) en Alagón, en 2020, pues las concentraciones de estos metales en el resto de localizaciones se mantiene aproximadamente constante, en 1 y 0,3 mg/kg, respectivamente (Fig. 21).

En el CIA (Fig. 22), de nuevo vuelve a llamar la atención el dato de cromo en 2020, en este caso en el PK 55, que se eleva a 15 mg/kg.

Cabe resaltar la gran cantidad de cobre acumulado en las almejas asiáticas en el CIA, que alcanza los 10 mg/kg en el PK 45 en 2013 (Fig. 22).

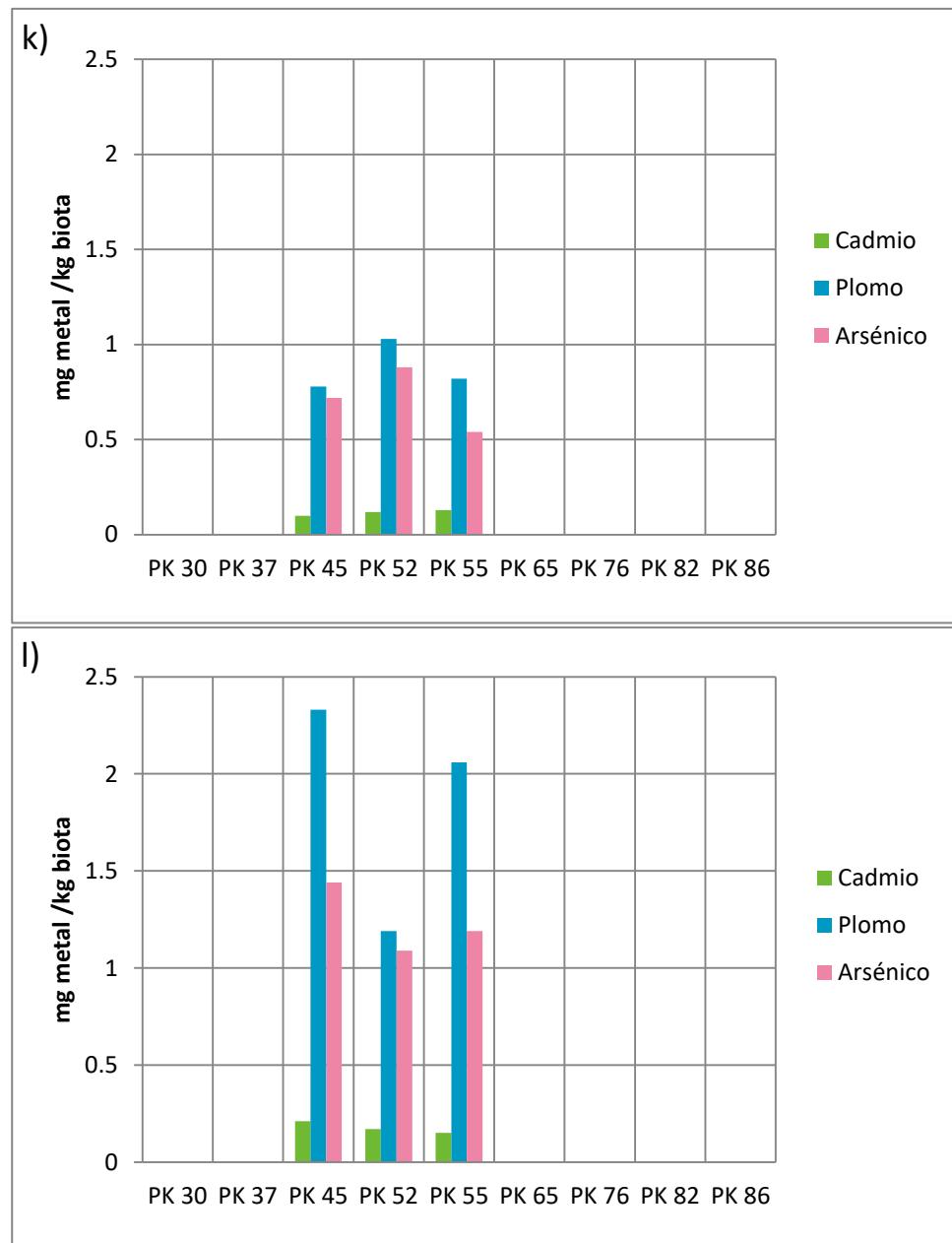
También destaca la concentración de plomo en el PK 55 en 2020, que llega a 4 mg/kg, siendo su dato habitual menor a 1 mg/kg (Fig. 22).

En 2020, en las muestras de almeja asiática en el CIA se hallaron, en concentraciones detectables, los siguientes compuestos (Anexo I): DEET, fludioxonil, pendimetalina, prosulfocarb, antraquinona y DDE p.p (Fig. 23). En el río Ebro se encuentran en concentraciones notablemente más bajas: DEET (hasta 0,45 mg/kg), fludioxonil (0,1 mg/kg), oxifluorfen (0,02 mg/kg), pendimetalina (0,064 mg/kg) y prosulfocarb (0,011 mg/kg).



**Figura 23. Resultados de compuestos químicos en tejido de *Corbicula* spp. en el CIA en 2020. \*** Fludioxonil en eje secundario.

En el caso de *P. auricularius*, los datos de concentración de plomo en tejido (Fig. 24) son mucho más elevados en los especímenes analizados en 2014 (superan los 2 mg/kg), frente a los de 2013 (no alcanzan 1 mg/kg).



**Figura 24. Resultados de metales en tejido de *P. auricularius* en las localizaciones del CIA en k) 2013 y l) 2014.**

También en 2014 se observa un incremento de los niveles de arsénico, superando 1 mg/kg, dato al que no se llegaba en ninguno de los PK en 2013.

El cadmio también se incrementa, doblando su concentración en el PK 45 de 0,1 mg/kg en 2013 a 0,21 mg/kg en 2014.

### **Comprobación de resultados en biota con valores máximos del RD 817/2015**

En el RD 817/2015 están establecidas muy pocas NCA para biota. Aun así, se detecta una de las muestras analizadas de tejido de almeja asiática que incumple los valores de mercurio en el río Ebro, en las localidades de Cabañas (2018) y Juslibol (2020), con un valor de 31 µg/kg en ambos casos, cuando el NCA es de 20 µg/kg peso fresco.

Al existir pocos límites establecidos para biota, se comparan los datos del Gobierno de Aragón con el Reglamento 1881/2006 de la comisión europea, de 19 de diciembre de 2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. Sirviendo estos límites como concentraciones máximas orientativas de metales pesados en cuerpos blandos de moluscos, los datos que incumplen el citado Reglamento son únicamente respecto al plomo, cuyo límite está establecido en 1,5 mg/kg. La muestra de *Corbicula* spp. recogida en 2020 en el PK 55 del CIA (4 mg/kg) y dos cuerpos de *P. auricularius*, de 2020, en el PK 41 y 55 del CIA (2,33 y 2,06 mg/kg), respectivamente.

## 4. Discusión

### 4.1. Variables físico-químicas del agua

Los **sólidos en suspensión** disminuyen con el tiempo en los tres puntos estudiados (río Ebro cerca de Tudela, río Ebro en Zaragoza y Canal Imperial en Zaragoza) (Fig.10). La serie histórica refleja picos especialmente altos, que se pueden relacionar con variaciones puntuales de caudal, vinculadas a episodios de grandes precipitaciones. Estos datos se complementan con las medidas de turbidez detectadas en la potabilizadora de Zaragoza (situada en el Canal Imperial en Zaragoza), que también marcan un descenso con el tiempo (Potabilizadora de Zaragoza, datos sin publicar).

Se advierte una tendencia a la baja del **oxígeno disuelto** en el río Ebro en Zaragoza y más aún en el CIA (Fig. 14). El CIA presenta una media de oxígeno significativamente inferior a los dos puntos estudiados en el río. Una posible explicación podría ser la relación con un aumento de la temperatura del agua, provocada por el calentamiento progresivo del planeta. Sin embargo, la tendencia de este parámetro, aunque parece ir al alza, no es significativa: no se puede afirmar, con estos datos, que la **temperatura del agua** en esas masas esté aumentando (Fig. 13). También podría atribuirse a una mayor presencia de macrófitos en los últimos años, que favorecen la acumulación de materia orgánica y conducen a una mayor actividad bacteriana aeróbica para degradar esa materia, consumiendo oxígeno. Esta situación también podría plantearse como hipótesis para el descenso de sólidos disueltos, pues los macrófitos hacen que la velocidad del agua disminuya, provocando una mayor deposición de los elementos en suspensión (Ibáñez et al., 2008).

Otra hipótesis que se puede plantear para explicar tanto el descenso del oxígeno disuelto en el agua, como el acusado descenso de turbidez y sólidos en suspensión, es la presencia de la almeja exótica invasora *Corbicula* spp. Este bivalvo alóctono comenzó a observarse en este sector del río y del Canal Imperial a partir de 2007, alcanzando paulatinamente grandes densidades. Las elevadísimas densidades de *Corbicula* spp. tienen gran capacidad para filtrar fitoplancton, materia orgánica y depositar sólidos en suspensión (Modesto et al., 2019). Se aprecia que las disminuciones más importantes de sólidos en suspensión y de oxígeno se producen en el Canal Imperial en Zaragoza, lo que se corresponde con el hecho de que allí las densidades medias de *Corbicula* spp. sean más elevadas que en el río Ebro en su tramo paralelo al Canal, entre Tudela y Zaragoza: 1.017 ejemplares/m<sup>2</sup> en el Canal en 2016 (Gimeno, 2017b) frente a 196 ejemplares/m<sup>2</sup> en el río, en 2019 (Mota, 2020).

Además del peligro que entrañan por la competencia de recursos, tienen un riesgo potencial, vinculado a los eventos climáticos extremos (sequías e inundaciones). En estas circunstancias, multitud de estos individuos pueden morir y aumentar las concentraciones de materia orgánica y amonio, conllevando una bajada del oxígeno disuelto puntual (Campos, 2019; Gimeno et al., 2017a; Sousa et al., 2008a; Sousa et al., 2008b; Sousa et al., 2012; Sousa et al., 2014; Nakamura et al., 2020). Sumado a esto, en las avenidas, la concentración de sólidos suspendidos aumenta, ya que el sedimento es resuspendido, además de incorporado, en grandes cantidades, desde el bosque de ribera. Esto hace que posibles contaminantes que se encuentren en él pasen a la fase acuosa y con ello aumenta el riesgo de que las náyades los asimilen (Rivetti et al., 2015; Faria et al., 2010b; Schmitz et al., 2015).

Se observa un ligero incremento no significativo de las concentraciones de **amonio** en los últimos años en el CIA, hecho que contrasta con la disminución significativa del amonio en Tudela (Fig. 18). Estas tendencias podrían ligarse a mortandades de todo tipo de organismos, entre ellos *Corbicula* spp. que, como se comentó antes, presenta densidades mucho mayores en el CIA que en el río Ebro. Cabe destacar que, aunque la CHE nunca ha detectado valores superiores a 1 mg/l, una de las muestras recogidas en 2013 por el Gobierno de Aragón, concretamente en el PK 52 del CIA, daba un resultado de 2 mg/l. Este fue, precisamente, el punto y año donde comenzó a detectarse una mortalidad importante en la población de margaritona y donde ya habían muerto casi todo el resto de náyades y, posiblemente, parte de la población de *Corbicula* spp.

Este dato se acerca a los límites peligrosos para las náyades: la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos (Environmental Protection Agency, EPA) ha desarrollado los Criterios de Calidad del Agua (Water Quality Criteria, WQC). En su base de datos se caracterizan los contaminantes y se definen dos concentraciones límite recomendadas: concentración máxima (Criterion Maximum Concentration, CMC) y concentración continua (Criterion Continuous Concentration, CCC) (United States Environmental Protection Agency, 2020). Así, la CMC para los moluscos de agua dulce se determina en 1,75-2,5 mg/l de amonio. La citada muestra recogida en el PK 52 del CIA en 2013 tiene un valor de amonio de 2 mg/l, lo que hace que se encuentre en los límites.

Las CMC que se aplican habitualmente están por encima de la CMC establecida para los moluscos, lo que implica que no se encuentran protegidos bajo estos límites (Augspurger et al., 2003; Wang et al., 2016; Gibson et al., 2018; Nakamura, et al., 2020). Los juveniles y adultos pueden defenderse de episodios agudos cerrando sus valvas con efectividad, pero están en riesgo bajo exposiciones crónicas, al ser animales filtradores (Faria et al., 2010a). Existe poca evidencia sobre la sensibilidad crónica de los bivalvos, a diferencia de la sensibilidad aguda, que está bastante más estudiada (Ivey et al., 2018).

Los efectos tóxicos del amonio para esta familia incluyen dificultad al abrir las valvas para respirar y alimentarse, alteración metabólica y muerte (Office of Water. U.S. Environmental Protection Agency, 2013). Además, según Strayer y Malcom (2012). Concentraciones de amonio superiores a 0,2 mg/l están correlacionadas con el fracaso del reclutamiento de especies de náyades y, según Moore y Bringolf (2020), el amonio también tiene efectos de disrupción endocrina en moluscos de agua dulce.

Nakamura et al. (2020) calculan la concentración letal del compuesto capaz de matar al 50 % de organismos del ensayo ( $CL_{50}$ ) del amonio para *P. auricularius*, obteniendo como resultado 7,53 mg/l y afirman que esta especie es más resistente que otras náyades a este tipo de contaminación.

Por otro lado, el **pH** está tendiendo a unos valores cada vez más altos en la parte alta de los dos tramos estudiados y, por el contrario, a acidificarse ligeramente a lo largo del CIA, manteniéndose muy estable en sus valores del Ebro en Zaragoza (Fig. 11). En todo caso, las medias históricas en los tres puntos son muy similares: en torno a 8. Es posible que las pequeñas variaciones entre el río y el CIA estén relacionadas con la capacidad de autorregulación que tiene el río Ebro frente al Canal. El río es un ecosistema más naturalizado, lo que le permitiría ejercer de disolución tampón ante las posibles variaciones de pH (Oberholster et al., 2017).

La **conductividad** ha aumentado con el paso de los años, al menos en el Ebro en Pignatelli y especialmente en el CIA en Zaragoza, donde se ha pasado de valores de 800  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a 1000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  en el plazo estudiado de 30 años (Fig. 12). El cambio climático está transformando los ecosistemas fluviales y se espera que lo haga con mayor intensidad, incrementando la frecuencia de esos eventos climáticos extremos, así como su intensidad (IPCC, 2014). Añadido al cambio climático, la cada vez mayor captación de agua para usos humanos genera un notable descenso en el caudal de los ríos de la península ibérica (Val et al., 2016). Al fluir menos agua, las concentraciones de las sales podrían estar aumentando, más aún en eventos como sequías, que juegan un fuerte papel en los parámetros físico-químicos y en la relación que estos tienen con el metabolismo de los seres vivos (Araujo y Alvarez-Cobelas, 2016). Todo ello puede acarrear una conductividad y unas concentraciones de sales cada vez más elevadas. Otras contribuciones al aumento de la concentración de sales son los retornos de las redes de riego (Lecina et al., 2009). Estas variaciones en los coloides, así como esperados descensos en las columnas de agua, podrán aumentar aún más los riesgos para la supervivencia de las náyades (Santos, 2015).

Los **nitratos** están siguiendo una tendencia claramente a la baja (Fig. 15), exactamente igual que los **fosfatos** (Fig. 16), lo cual parece deberse a la imposición de una legislación más restrictiva a la hora de aplicar estas sustancias como fertilizantes en la agricultura e, incluso, en los detergentes, a partir de la Directiva Marco del Agua. Respecto a los **sulfatos**, se aprecia que, en el Ebro en Zaragoza, los valores son mucho mayores que las otras dos estaciones, lo que puede explicarse por la gran cantidad de yesos existentes en el entorno de ese tramo del río (Esnaola y Gil, 1998). Con el paso del tiempo, sólo se aprecia un aumento en el Ebro en Pignatelli (Fig. 17).

Haciendo un análisis comparativo a lo largo del eje del CIA (puntos de muestreo Pignatelli-CIA), a lo largo del Ebro (Pignatelli-Almozara) y entre las dos masas (Pignatelli-Almozara), se observa cómo las variables se mantienen más constantes a lo largo del CIA y varían más al descender por el Ebro, lo que sugiere una mayor estabilidad en la calidad del agua según se avanza a lo largo del CIA. Las masas de agua son significativamente diferentes, en base a las variables analizadas. La interpretación de estos resultados puede estar vinculada al hecho de que el Canal Imperial de Aragón es una infraestructura construida para el uso agrario y que está mucho más controlado: su caudal es estable y no presenta una estacionalidad tan marcada como un río. Así, aunque las dos masas de agua partan del mismo punto, con las mismas características, el río sufre una serie de alteraciones que hace que, a su paso por Zaragoza, sus variables cambien mucho más que las de las aguas del CIA.

## 4.2. Contaminantes

Los metales como el arsénico, el hierro, el zinc o el cobre son micronutrientes esenciales para los organismos, pero que deben estar presentes en su ambiente en concentraciones muy bajas (Galán y Romero, 2008). Si se encuentran en dosis altas, los efectos causados son negativos. Esta cualidad se denomina hormesis. Existen otros metales que no son necesarios, ni siquiera en cantidades ínfimas como el cadmio, el mercurio o el plomo.

Los bivalvos filtradores pueden acumular estos elementos en el organismo (bioacumulación) hasta 3 o 5 órdenes de magnitud mayores que la concentración en el medio en el que viven (Galán y Romero, 2008). Por otro lado, poseen mecanismos de defensa como la capacidad de cerrar sus valvas cuando detectan compuestos dañinos o mecanismos de regulación y excreción de metales (Marasinghe Wadige et al., 2014; Faria et al., 2010a).

Los bivalvos están expuestos a estos contaminantes por cuatro rutas diferentes: agua superficial, agua retenida en los poros del sedimento (intersticial), sedimento y dieta (Cope et al., 2008).

Los sedimentos pueden actuar como un reservorio de contaminantes: la adsorción de los químicos en las partículas del sustrato hace que sean secuestrados de la columna de agua. Sin embargo, esto convierte al sedimento en una fuente que provee de estos compuestos a la biota bentónica (Lacorte et al., 2006; Rivetti, et al., 2015). La toxicidad de los sedimentos es difícil de determinar debido a las complejas interacciones entre los químicos con las características intrínsecas del sedimento y el pH. Las relaciones entre estos elementos determinarán su biodisponibilidad y, por lo tanto, el riesgo de afección a los organismos acuáticos y particularmente a las náyades (de Castro-Catalá et al., 2015; Simkiss, 1995).

El **cobre** afecta negativamente a los organismos acuáticos (Oliveira-Filho et al., 2004). Produce disruptores de procesos fisiológicos y toxicidad relacionada con el estrés oxidativo en bivalvos (Faria et al., 2010a). El cobre, en forma de sulfato, es un pesticida utilizado en el control de organismos como el mejillón cebra (de la Cruz et al., 2015).

Los ensayos toxicológicos de este compuesto determinan una CL<sub>50</sub> media para la familia Unionidae de 210 a 80 µg/l (Milam et al., 2005). El CL<sub>50</sub> de juveniles recién nacidos de *P. auricularius* reportado por Nakamura et al. (2020) es de 58,64 µg/l. Estos datos límite han sido sobrepasados en 1994, cuando en Pignatelli se detectaron 210 µg/l.

Hay una gran diferencia entre la CL<sub>50</sub> determinada como media de la familia y, en este caso, la margaritona. *Utterbackia imbecillis* es el uniónido más utilizado en los test de toxicidad, pero en el estudio desarrollado por Milam et al. (2005) se observa cómo la

tolerancia de este ( $520\text{-}160 \mu\text{g/l}$ ) es mucho mayor que la de *P. auricularius*. Esto alerta sobre la escasa conveniencia de extrapolar los valores de los test realizados a otras especies. Son necesarios múltiples test para obtener resultados confiables, especialmente a la hora de establecer límites de calidad ambiental (Roig, 2015; Durán et al., 2010; Gibson et al., 2018).

Resulta preocupante que en el PK 45 del CIA las almejas asiáticas alcancen los 10 mg/kg de cobre en 2013 (Fig. 22) y que, en sedimento, en 2020, casi la totalidad de los PK superan los 15 mg/kg de cobre (Fig. 20).

En la línea de lo anterior, el **cadmio** es otro buen ejemplo de cómo los valores de los ensayos no deben ser extrapolados entre especies. Por ejemplo, Moloukhia y Sleem (2011) determinan la CL<sub>50</sub> de dos moluscos (*Caelatura companyoi* y *Cleopatra bulimoides*) en 800-750  $\mu\text{g/l}$ , mientras que Nakamura et al. (2020) reportan este valor para *P. auricularius* en 38,85  $\mu\text{g/l}$ .

En este caso, ninguno de los datos que se han estudiado llega a superar esas concentraciones, pero sí se supera la NCA del Decreto 817/2015 en varias ocasiones (Tabla 16). Estos niveles ya podrían estar afectando al funcionamiento reproductivo de las náyades, pues la exposición experimental durante 7 días, de concentraciones de 2-5  $\mu\text{g/l}$  de cadmio, ha mostrado una conversión de individuos, de la especie *Margaritifera margaritifera*, de hermafroditas a femeninos. El porcentaje de estos era del 17 % en los controles y aumentó hasta el 33 % tras la exposición (Baudrimont et al., 2016). En el mismo estudio, se constata una fuerte bioacumulación del elemento, encontrándose en las branquias concentraciones de cadmio 15 veces mayores a las del agua.

Otros estudios apuntan a estos cambios de sexo en náyades sometidas a efluentes municipales, cuyas poblaciones poseen un número de individuos hembras que no se observan en las poblaciones naturales de la especie (Blaise et al., 2003). Este desajuste en la estructura de las poblaciones conlleva consecuencias severas en su supervivencia, especialmente si se tiene en cuenta las condiciones de amenaza que ya rodean a las náyades. En los trabajos de cría en cautividad de la margaritona, que lleva a cabo el Gobierno de Aragón, se observa, desde el año 2011, una preocupante “esterilidad” en los individuos que se extraen del medio natural y se llevan al laboratorio cada año. Hace 10 años el 90 % de las náyades liberaba gloquidios mientras que hoy en día solo lo hacen entre el 1 y el 5 % de las mismas (Nakamura et al., 2018).

Otros efectos del cadmio en las náyades podrían estar relacionados con daños en el metabolismo del calcio, observándose que sus conchas son más débiles si han estado bajo la influencia de este metal (Frank y Gerstmann, 2007).

El **níquel** y el **zinc** normalmente se estudian juntos porque forman enlaces y sus efectos en los bivalvos incluyen alteraciones en el crecimiento y en la eficiencia de filtración (Angelo et al., 2007). El zinc es un metal esencial con funciones biológicas como la síntesis del ADN y la expresión de los genes, pero puede tener efectos negativos en los moluscos, como daños en las branquias y descenso de la capacidad de filtración (Gibson et al., 2018).

La CL<sub>50</sub> reportada para la margaritona es de 267,4 µg/l (Nakamura et al., 2020). Este dato ha sido superado en dos ocasiones según los análisis del CEMAS: en 2001, en Pignatelli se alcanzaron 427 µg/l y en 1999, en CIA, 280 µg/l.

Según Gibson et al. (2018), las concentraciones de **níquel** se han doblado en los últimos 70 años, si bien los datos recogidos por el CEMAS relativos a este elemento no tienen un tamaño muestral suficiente para concluir nada similar. Tampoco estos valores superan las NCA ni la CL<sub>50</sub> para los juveniles de *P. auricularius*.

Las concentraciones de **plomo** en agua estudiadas en el presente trabajo están muy lejos de alcanzar los niveles de CL<sub>50</sub> para *P. auricularius*, que son superiores a 2000 µg/l, ya que este elemento es tan pesado que precipita rápidamente (Nakamura et al., 2020). En cambio, las concentraciones presentes en sedimento y en tejido de biota sí cuentan con valores altos, cercanos a las recomendaciones máximas de la ISQC e incumplimiento del Reglamento 1881/2006, respectivamente.

En el caso del sustrato, como no está establecida la sensibilidad de las náyades a sedimentos contaminados por plomo, no se puede valorar el riesgo de estos valores, aunque se conocen de sobra los efectos perjudiciales del plomo en organismos acuáticos (Pandey y Madhuri, 2014; Tomailla y Iannaccone, 2018).

En biota, se han encontrado muestras tanto de almeja asiática como de margaritona que superan los límites del Reglamento 1881/2006 para el consumo de moluscos como alimento. No obstante, los niveles detectados son inferiores a los señalados por Yap et al. (2003) en bivalvos expuestos a metales pesados y que había experimentado mortalidades del 20 % cuando habían acumulado concentraciones de 52,91 mg/kg de plomo.

El riesgo de toxicidad del **cromo** está muy determinado por su estado químico, ya que el cromo III, generalmente, tiene mayor biodisponibilidad que el cromo VI (Walsh y O'Halloran, 1997), sin embargo, este último es más tóxico para la fauna acuática (Laws, 2018). La CL<sub>50</sub> de cromo III estimada para *P. auricularius* es de más de 1000 µg/l, por lo que los valores estudiados (el CEMAS cuantifica el cromo total) permanecen muy por debajo de este límite.

Alguno de los efectos que tiene el **mercurio** sobre los diferentes moluscos son: daño en los tejidos, incremento del estrés oxidativo o aumento de la tasa de mortalidad de hemocitos y daño en el ADN, entre otros (Fonseca et al., 2019; Faria et al., 2010b). Los valores más preocupantes se han medido en tejido de almeja asiática, que incumple los valores establecidos en el RD 817/2015 en dos localidades del Ebro, en 2018 y 2020.

La toxicidad del **arsénico** está vinculada a la forma química en la que esté presente (Whaley-Martin et al., 2012; Yu et al., 2016): el arsénico III está relacionado con alteraciones de la regulación osmótica en los bivalvos juveniles y tiene efectos negativos en el citoesqueleto y la estructura celular. El arsénico V también tiene efectos sobre la regulación osmótica, además de afectar a algunas enzimas clave involucradas en el metabolismo energético. En este trabajo se han localizado concentraciones preocupantes en el sedimento del río y especialmente en el CIA, con valores de 8, 9 y 10 mg/kg, en los años 2013, 2018 y 2020, que sobrepasan las recomendaciones máximas de ISQC establecidas en 5,9 mg/kg.

Además de los metales pesados, en las aguas fluviales se encuentran otro tipo de compuestos dañinos para los organismos acuáticos. En la cuenca del Ebro, rodeada de campos de cultivo y polígonos industriales, es probable que estos contaminantes provengan de los productos agroquímicos utilizados en la agricultura y la ganadería, y de los vertidos industriales o municipales.

Los compuestos estudiados a partir de los datos del CEMAS (alacloro, aldrín, atrazina, clorfenvifos, clorpirifos, dieldrín, diurón, endrín, heptacloro, hexaclorobenceno, isodrín, isoproturón, metolacloro, DDT, DDD, DDE, simazina, terbutilazina, terbutrina y trifuralina) cumplen, en la serie de datos estudiada, las NCA establecidas por el RD 817/2015.

En cambio, en los compuestos detectados por el Gobierno de Aragón, uno de ellos no cumple los límites establecidos en el citado real decreto: el **nonilfenol** (CAS 25154-52-3). Es un compuesto que tiene numerosos isómeros, el 4-NP es su forma más comercial y común. Se utiliza como precursor en la fabricación de tensoactivos. El Reglamento (CE) n.<sup>º</sup> 1272/2008 sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas lo señala como “*Aquatic Acute 1*” (muy tóxico para la vida acuática) y “*Aquatic Chronic 1*” (muy tóxico para la vida acuática con efectos duraderos), entre otros peligros. Se ha evidenciado como disruptor endocrino imitando la actividad de los estrógenos, por lo que podría estar interviniendo en la fertilidad de los organismos acuáticos en el Ebro y el CIA. Además, induce la proteína precursora de la yema de huevo en peces y moluscos machos y provoca lesiones en gónadas (Lavado et al., 2004; Faria et al., 2010a; Kwak et al., 2017; Oropesa et al., 2017; Riva et al., 2020). También se ha sugerido su capacidad mutagénica, carcinogénica y teratogénica (Zhang et al., 2017).

El dato registrado en el CIA en el año 2013, 2,4 µg/l de nonilfenol (Tabla 16) que incumple la NCA, está muy lejos de aproximarse a la CL<sub>50</sub> de nonilfenol para la familia *Unionidae*: 770 µg/l (Milam et al., 2005). Sin embargo, sus riesgos en exposiciones largas, a bajas concentraciones, aún no están completamente estudiados, pues está considerado como un contaminante emergente (Mao et al., 2012).

## 5. Conclusiones

Tras la categorización y análisis de las variables físico-químicas recogidas por el Control del Estado de las Masas de Agua Superficiales (CEMAS) de la Confederación Hidrográfica del Ebro (CHE) se concluye una tendencia descendente con el paso de los años, entre 1991 y 2021, en la concentración de los sólidos en suspensión, el oxígeno disuelto, nitratos y fosfatos, mientras aumenta la conductividad.

Se observa cómo las variables (sólidos en suspensión, conductividad y nitratos) se mantienen más constantes a lo largo del Canal Imperial de Aragón y varían más al descender por el Ebro, lo que sugiere una mayor estabilidad en la calidad del agua según se avanza a lo largo del Canal. Las masas de agua son significativamente diferentes, en base a las variables analizadas.

Respecto a los contaminantes:

-No se cumplen las recomendaciones internacionales para la calidad de sedimento debido a las concentraciones de arsénico (en los años 2013, 2018 y 2020) y plomo (en 2020) presentes en numerosos puntos estudiados del Canal Imperial.

-En biota, se ha superado la concentración máxima de mercurio marcada en la legislación, en tejidos de *Corbicula* spp., en Cabañas, 2018 y en Juslibol, 2020 (ambos en el río Ebro). Además, las muestras recogidas en el CIA, tanto de *Corbicula* spp. como de margaritona, en 2020, superan los límites de plomo para el consumo como alimento.

-Se han detectado incumplimientos en los límites de concentración legales en agua para el nonilfenol (en el PK 52 del CIA, en 2013) y el cadmio (en las estaciones Pignatelli y Almozara, en los años 1992, 2002, 2010 y 2020).

-Se han identificado, puntualmente, concentraciones de cobre (en 1994) y zinc (en 1991 y 2001) en el agua superiores a la CL<sub>50</sub> de *P. auricularius*, tanto en el Ebro en Tudela como en el CIA en Zaragoza.

La mortalidad en el Canal Imperial de Aragón y en el río Ebro de las náyades, en particular *P. auricularius*, puede estar relacionada con los eventos de contaminación, ya sea por efectos agudos de forma puntual, como efectos crónicos debido a la bioacumulación, pues muchos de los contaminantes detectados afectan negativamente a estos amenazados bivalvos.

## **6. Recomendaciones**

Proponer medidas de control para los bivalvos invasores, que afectan tan negativamente a las náyades, debe ser una prioridad aunque se conoce de sobra que su eliminación es imposible. Sí que se puede actuar, en lo posible, para evitar los caudales bajos y mantenerlos durante el verano. El mantenimiento de un caudal ecológico muy oscilante podría ser beneficioso para el sistema, aunque causara bajas en las náyades, pues limitaría el desarrollo de almeja asiática. Más beneficioso aún sería propiciar picos de caudal durante el invierno, para frenar el desarrollo de macrófitos, tratando de no evitar el pico de inundaciones, al menos en la medida que no produzcan graves impactos económicos.

Es preciso seguir con las políticas de control y disminución de nitratos y fosfatos, que según los resultados de este trabajo se observa que han surtido efecto, pues sus concentraciones en las aguas estudiadas han disminuido en los últimos años.

En cuanto a la contaminación, es necesario un mayor control sobre las aportaciones de metales pesados y pesticidas. Se precisa más vigilancia y sistemas de control, para evitar que se utilicen ilegalmente productos peligrosos en la agricultura para el control de malas hierbas e invertebrados.

Continuar en la investigación sobre resistencia de estas especies, que son más sensibles a los tóxicos en agua y sedimento, con el objetivo de ampliar el conocimiento y establecer criterios de calidad del agua. Esto será útil, tanto para los mencionados controles del agua en el hábitat de las náyades, como para la toma de decisiones al traslocar o introducir individuos.

## **7. Agradecimientos**

A la Confederación Hidrográfica del Ebro, por el acceso a los datos de las variables en agua recogidos por el Control del Estado de las Masas de Agua Superficiales (CEMAS).

Al Gobierno de Aragón, por el acceso a los informes de los distintos laboratorios en los que se muestran los resultados de los análisis de agua, sedimento y biota. También, en particular, al Laboratorio Agroambiental del Gobierno de Aragón.

## 8. Bibliografía

- Álvarez, R. (1998). La industria del nácar de *Margaritifera auricularia* en Aragón y la gestión ambiental. *Temas de antropología aragonesa*, 8, 113-212.
- Angelo, R., Cringan, M., Chamberlain, D., Stahl, A., Haslouer, S., y Goodrich, C. (2007). Residual effects of lead and zinc mining on freshwater mussels in the Spring River Basin (Kansas, Missouri, and Oklahoma, USA). *Science of the Total Environment*, 384, 467-496.
- Angulo, R. (2017). *Control del Estado de las Masas de Agua C.E.M.A.S. Informe de situación 2014-2015*. Zaragoza: Confederación Hidrográfica del Ebro.
- Araujo, R. (2011). *Potomida littoralis* (Cuvier, 1798). En J. Verdú, C. Numa y E. Galante, *Atlas y Libro rojo de los invertebrados amenazados de España. Vol: II (Especies Vulnerables)* (pág. 1314). Madrid.
- Araujo, R. (2012). *Unio elongatulus*. En: VV.AA., *Bases ecológicas preliminares para la conservación de las especies de interés comunitario en España: Invertebrados*. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid. 6 pp.
- Araujo, R. y Álvarez-Cobelas, M. (2016). Influence of flow diversions on giant freshwater pearl mussel populations in the Ebro River, Spain. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 26, 1145-1154.
- Araujo, R. y Ramos, M. (2000). Status and conservation of the giant European freshwater pearl mussel (*Margaritifera auricularia*) (Spengler, 1793) (Bivalvia: Unionoidea). *Biological Conservation*, 96, 23-239.
- Araujo, R., Reis, J., Machordom, A., Toledo, C., Madeira, M. J., Gómez, I., Velasco, J. C., Morales, J. J., Barea, J. M., Ondina, P., Ayala, I. (2009). Las náyades de la península Ibérica. *Iberus*, 27(2), 7-72.
- Araujo, R., Quirós, M. y Ramos, M. (2003). Laboratory propagation and culture of juveniles of the endangered freshwater mussel *Margaritifera auricularia* (Splengler, 1793). *Journal of Conchology*, 38, 53-60.
- Augspurger, T., Keller, A., Black, M., Cope, W. y Dwyer, F. (2003). Water quality guidance for protection of freshwater mussels (Unionidae) from ammonia exposure. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(11), 2569-2575.

- Baudrimont, M., Gonzalez, P., Mesmer-Dudons, N. y Legeay, A. (2019). Sensitivity to cadmium of the endangered freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* from the Dronne River (France): experimental exposure. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Benito, M., Goñi, P., Ormad, M., Mosteo, R., Valero, P., Fernández, M. y Cieloszyk, J. (2015). Papel de *Dreissena polymorpha* (mejillón cebra) como reservorio de microorganismos potencialmente patógenos y metales en el ecosistema de la cuenca del Ebro y su riesgo para la salud y el medio ambiente. *Revista de salud ambiental (Espec. Congr.)*, 15, 86-174.
- Blaise, C., Gagné, F., Salazar, M., Salazar, S., Trottier, S. y Hansen, P. (2003). Experimentally-induced feminisation of freshwater mussels after long-term exposure to a municipal effluent. *Fresenius Environmental Bulletin*, 12, 865-870.
- Campos, V. (2019). *Estudio comparativo de la especie exótica invasora Corbicula spp. en el río Ebro (tramo medio) y canales asociados (Canal Imperial de Aragón y canal de Tauste) y su relación con las náyades autóctonas*. Trabajo de Fin de Grado. Universidad de Zaragoza.
- Canadian Council of Ministers of the Environment. (2001). Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: Summary tables. Updated. En *Canadian environmental quality guidelines*. Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.
- Catalá, C., Nakamura, K., Ginés, E. y Guerrero, J. (2017). *Plan de traslocación y Plan de Emergencia de Margaritifera auricularia. Versión 2.0*. Departamento de Desarrollo Rural y Sostenibilidad. Gobierno de Aragón.
- Claver, A., Ormad, P., Rodríguez, L. y Ovelleiro, J. (2006). Study of the presence of pesticides in surface waters in the Ebro river basin (Spain). *Chemosphere*, 64, 1437-1443.
- Confederación Hidrográfica del Ebro. (s.f.). Sitebro. Obtenido de <http://iber.chebro.es/SitEbro/sitebro.aspx>
- Cope, W.G., Bringolf, R.B., Buchwalter, D: B., Newton, T. J., Ingerdell, C. G., Wang, N., Auspurger, T.; Dwyer, F. J.,. (2008). Differential exposure, duration, and sensitivity of unionoidean bivalve life stages to environmental contaminants. *Journal of the North American Benthoogy Society*, 27(2), 451-462.
- Cosgrove, P. y Hastie, L. (2001). Conservation of threatened freshwater pearl mussel populations: river management, mussel translocation and conflict resolution. *Biological Conservation*, 99, 183-190.

- de Castro-Catalá, N., Kuzmanovic, M., Roig, N., Sierra, J., Ginebreda, A., Barceló, D., Pérez, S., Petrovic, M., Picó, Y., Schumacher, M. y Muñoz, I.. (2015). Ecotoxicity of sediments in rivers: Invertebrate community, toxicity bioassays and the toxic unit approach as complementary assessment tools. *Science of the Total Environment*, 540, 297-306.
- de la Cruz, M., Sánchez, F., Zorro, J. J. y Palero J. M. (2015). Medidas preventivas para el control del mejillón zebra en la captación del embalse de Iznájar. *Tecnoaqua*, 12, 2-8.
- Demarcación Hidrográfica del Ebro. (2019). *Seguimiento del plan hidrológico de la demarcación hidrográfica del Ebro. Ciclo de planificación hidrológica 2015-2021. Año hidrológico 2018-2019*. Confederación Hidrográfica del Ebro.
- Doria, G., Peñuela, G. y Valencia, G. (2020). 4-nonilfenol: efectos, cuantificación y métodos de remoción en aguas superficiales y potables. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 11(1), 117-132.
- Durán, C. (2012). *Guía de campo. Moluscos Acuáticos de la Cuenca del Ebro*. Confederación Hidrográfica del Ebro.
- Durán, C., Gargallo, P., Pintor, C. y Salvador, M. (2010). *Estudio estadístico de datos físico-químicos y biológicos por tipos de masas de agua de la cuenca del Ebro*. Confederación Hidrográfica del Ebro.
- Esnaola, J. M. y Gil, C. (1998) Mapa geológico y Memoria de la Hoja nº 354 (Alagón). Mapa Geológico de España E. 1:50.000
- Faria, M., López, M., Fernández-Sanjuan, M., Lacorte, S. y Barata, C. (2010a). Comparative toxicity of single and combined mixtures of selected pollutants among larval stages of the native freshwater mussels (*Unio elongatulus*) and the invasive zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). *Science of the Total Environment*, 408, 2452-2458.
- Faria, M., López, M., Díez, S. y Barata, C. (2010b). Are native naiads more tolerant to pollution than exotic freshwater bivalve species? An hypothesis tested using physiological responses of three species transplanted to mercury contaminated sites in the Ebro River (NE, Spain). *Chemosphere*, 81, 1218-1226.
- Ferreira-Rodríguez, N., Akiyama, Y. B., Aksanova, O. V., Araujo, R., Barnhart, M. C., Bespayala, Y. V., Bogan, A. E., Bolotov, I. N., Bucha, P. B... (2019). Research priorities for freshwater mussel conservation assessment. *Biological Conservation*, 231, 77-87.
- Fonseca, Q. D., Da Rosa, E., Wronski, J. G., Zuravski, L., Morini, M. V., dos Ankos, B., Ferreira, C. F., Machado, M. M. y Souza, L. F. (2019). Golden mussel (*Limnoperna fortunei*) as a bioindicator in aquatic environments contaminated with mercury: Cytotoxic and genotoxic aspects. *Science of the Total Environment*, 675, 343-353.

- Frank, H. y Gerstmann, S. (2007). Declining Populations of Freshwater Pearls Mussels (*Margaritifera margaritifera*) Are Burdened with Heavy Metals and DDT/DDE. *Ambio*, 36(7).
- Galán, E. y Romero, A. (2008). Contaminación de Suelos por Metales Pesados. *Revista de la sociedad española de mineralogía*, 10, 48-60.
- Gibson, K., Miller, J., Johnson, P. y Stewart, P. (2018). Acute Toxicity of Chloride, Potassium, Nickel, and Zinc to Federally Threatened and Petitioned Mollusk Species. *Southeastern Naturalist*, 17(2), 239-256.
- Gimeno, B., Guerrero, J., Nakamura, K. y Ginés, E. (2017a). La invasión de *Corbicula* spp. en los canales del Ebro en Zaragoza. ¿Podría relacionarse con la desaparición de *Margaritifera auricularia* y otras náyades? *GEIB Grupo Especialista en Invasiones Biológicas* (eds), *Invasiones Biológicas: avances 2017*, (págs. 49-56). Actas del 5º Congreso Nacional sobre Especies Exóticas Invasoras “EEI 2017”. GEIB, Serie Técnica.
- Gimeno, B. (2017b). *Presencia y evolución de la almeja asiática (Corbicula spp.) y su reacción con las náyades autóctonas en canales artificiales asociados al río Ebro en Aragón*. Trabajo de Fin de Grado. Universidad de Zaragoza.
- Gómez, I. y Araujo, R. (2008). Channels and ditches as the last shelter for freshwater mussels: the case of *Margaritifera auricularia* and other naiads inhabiting the mid Ebro River Basin, Spain. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 18, 658-670.
- Grande, C., Araujo, R. y Ramos, M. (2001). The gonads of *Margaritifera auricularia* (Spengler, 1973) and *M. margaritifera* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia: Unionoidea). *Journal of Molluscan Studies*, 67, 27-35.
- Guerrero, J. y Jarne, M. (2014). *Las especies exóticas invasoras en Aragón*. Zaragoza: Consejo de Protección de la Naturaleza en Aragón.
- Guerrero, J., Nakamura, K. y Ginés, E. (2021). Desaparece la principal población de *Margaritifera auricularia* en España. *Quercus*, 419, 23-29.
- Hernández, J., Risueño, P., Velázquez, J. y Pradillo, A. (2021). Situación límite para las náyades en la Comunidad Valenciana. *Quercus*, 421, 12-17.
- Huang, C., Chai, Z. Y., Yen, P., How, C. M., Yu, C., Chang, C. y Liao V. H. (2020). The bioavailability and potential ecological risk of copper and zinc in river sediment are affected by seasonal variation and spatial distribution. *Aquatic Toxicology*, 105604.

- Ibáñez, C., et al. (2008). Changes in dissolved nutrients in the lower Ebro river: Causes and consequences. *Limnetica*, 27(1), 131-142.
- Instituto Español de Ocenografía (2012). *Estrategia marina demarcación marina noratlántica. Parte IV. Descriptores del buen estado ambiental. Descriptor 9: Contaminantes en productos de la pesca. Evaluación inicial y buen estado ambiental*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- Ivey, C., Wang, N., Alvarez, D., Hammer, E. y Bauer, C. (2018). Chronic Toxicity of 4-Nonylphenol to Two Unionid Mussels in Water- Only Exposures. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 101, 423-427.
- Kwak, J., Moon, J., Kim, D., Cui, R. y An, Y. (2017). Species Sensitivity Distributions for Nonylphenol to Estimate Soil Hazardous Concentration. *Environmental Science Technology*, 51, 13957-13966.
- Lacorte, S., Raldúa, D., Martínez, E., Navarro, A., Diez, S., Bayona, J. y Barceló, D. (2006). Survey of a broad range of priority pollutants in sediment and fish from the Ebro river basin (NE Spain). *Environmental Pollution*, 140, 471-482.
- Lavado, R., Thibaut, R., Raldúa, D., Martín, R. y Porte, C. (2004). First evidence of endocrine disruption in feral carp from the Ebro River. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 196, 247-257.
- Lecina, S., Isidoro, D., Playán, E., y Aragües, R. (2009). Efecto de la modernización de regadíos sobre la cantidad y la calidad de las aguas: la cuenca del Ebro como caso de estudio. *Monografías INIA: Serie Agrícola*, 26.
- Lopes-Lima, M., Sousa, R., Geist, J., Aldridge, D. C., Araujo, R., Bergengre, J., Bespayala, Y., Bódis, E... (2017). Conservation status of freshwater mussels in Europe: state of the art and future challenges. *Biological Reviews*, 92, 572-607.
- Mao, Z., Zheng, X., Zhang, Y., Tao, X., Li, Y. y Wang, W. (2012). Occurrence and Biodegradation of Nonylphenol in the Environment. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 491-505.
- Marasinghe Wadige, C., Taylor, A., Maher, W. y Krikowa, F. (2014). Bioavailability and toxicity of zinc from contaminated freshwater sediments: Linking exposure-dose-response relationships of the freshwater bivalve *Hyridella australis* to zinc-spiked sediments. *Aquatic Toxicology*, 156, 179-190.

- Milam, C., Farris, J., Dwyer, F. y Hardesty, D. (2005). Acute Toxicity of Six Freshwater Mussel Species (*Glochidia*) to Six Chemicals: Implications for Daphnids and *Utterbackia imbecillis* as Surrogates for Protection of Freshwater Mussels (Unionidae). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48, 166-173.
- Modesto, V., Ilarri, M., Souza, A., Lopes-Lima, M., Douda, K., Clavero , M. y Sousa, R. (2018). Fish and mussels: Importance of fish for freshwater mussel conservation. *Fish and Fisheries*, 19, 244-259.
- Modesto, V., Castro, P., Lopes-Lima M., Antunes C., Ilarri, M. y Sousa, R. (2019). Potential impacts of the invasive species *Corbicula fluminea* on the survival of glochidia. *Science of the Total Environment*, 673, 157-164.
- Moloukhia, H. y Sleem, S. (2011). Bioaccumulation, Fate and Toxicity of Two Heavy Metals Common in Industrial Wastes in Two Aquatic Molluscs. *Journal of American Science*, 7(8), 459-464.
- Mota, D. (2020). *Estudio comparativo de las comunidades fitoplanctónicas del río Ebro (tramo medio) y del Canal Imperial de Aragón, y su relación con las poblaciones de almeja asiática (Corbicula spp.)*. Trabajo de Fin de Grado. Universidad de Zaragoza.
- Moore, A. y Bringolf, R. (2020). Comparative Toxicity of Nitrate to Common and Imperiled Freshwater Mussel Glochidia and Larval Fishes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 78, 536-544.
- Nakamura, K., Cañete, J., Vijuesca, D., Guillén, N., Sosa, C., Mesquita-Joanes, F. y Sorribas, V. (2020). Sensitivity of *Pseudunio auricularius* to metals and ammonia: first evaluation. *Hydrobiologia*.
- Nakamura, K., Elbaile, E., Salinas, C., Mesquita-Joanes, F., Sousa, R., Guerrero-Campo, J. y de Blas, I. (2019). Captive breeding of *Margaritifera auricularia* (Spengler, 1793) and its conservation importance. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 1-14.
- Nakamura, K., Guerrero, J., Alcántara, M., Muñoz, M. y Elbaile, E. (2018). Tiempos de incertidumbre para la náyade *Margaritifera auricularia*. *Quercus*, 383, 17-24.
- Nashaat, M., Al-Azzawi, M. y Ahmed, D. (2016). Concentrations of Copper and Zinc in Benthic Invertebrates Collected from the Tigris River at Baghdad City. *Journal of International Environmental Application and Science*, 11(1), 8-17.
- Oberholster, P. J., Botha, A. M., Hill, L. y Strydom W. F. (2017). River catchment responses to anthropogenic acidification in relationship with sewage effluent: An ecotoxicology screening application. *Chemosphere*, 189, 407-417.

- Office of Water. U.S. Environmental Protection Agency. (2013). *Aquatic Life Ambient Water Quality Criteria For Ammonia-Freshwater*. Washington DC.
- Oliveira, P., Lopes-Lima, M., Machado, J. y Guilhermino, L. (2015). Comparative sensitivity of European native (*Anodonta anatina*) and exotic (*Corbicula fluminea*) bivalves to mercury. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 1-8.
- Oliveira-Filho, E., Matos, R. y Roma, F. (2004). Comparative study on the susceptibility of freshwater species to copper-based pesticides. *Chemosphere*, 56, 369-374.
- Oropesa, A., Moreno, J. y Gómez, L. (2017). Lesiones histopatológicas en peces originadas por la exposición a contaminantes emergentes: recopilando y analizando datos. *Reista de Toxicología*, 34, 99-108.
- Oscoz, J., Galicia, D. y Miranda, R. (2010). *Macroinvertebrados dulceacuícolas de la Península Ibérica*. Departamento de Zoología y Ecología, Universidad de Navarra.
- Pandey, G. y Madhury, S. (2014). Heavy metals causing toxicity in animals and fishes. *Research Journal of Animal, Veterinary and Fishery Sciences*, 2, 17-23.
- Prieé, V. (2012). *Margaritifera auricularia* (errata version published in 2020). The IUCN Red List of Threatened Species 2010.
- Riva, C., Porte, C., Binelli, A. y Provini, A. (2020). Evaluation of 4-nonylphenol in vivo exposure in *Dreissena polymorpha*: Bioaccumulation, steroid levels and oxidative stress. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 152, 175-181.
- Rivetti, C., Gómez-Canela, C., Lacorte, S., Díez, S., Lázaro, W. L. y Barata, C. (2015). Identification of compounds bound to suspended solids causing sub-lethal toxic effects in *Daphnia magna*. A field study on re-suspended particles during river floods in Ebro River. *Aquatic Toxicology*, 161, 41-50.
- Roig, N., Sierra, J., Nadal, M., Moreno-Garrido, I., Nieto, E., Hampel, M., Pérez, E., Schumacher, M. y Blasco, J. (2015). Assessment of sediment ecotoxicological status as a complementary tool for the evaluation of surfacewater quality: the Ebro river basin case study. *Science of the Total Environment*, 503-504, 269-278.
- Sancho-Tello Valls, V. y Cortés Corbasí, S. (2020). *Red de Control de Plaguicidas Informe Anual año 2019*. Zaragoza: Área de Calidad de Aguas. Confederación Hidrográfica del Ebro.

- Santos, R. M. B., Sanches, L. F., Varandas, S. G. P., Pereira, M. G., Sousa, R., Teixeira, A. Lopes-Lima, M., Cortes, R. M. V. y Pacheco, F. A. L. (2015). Impacts of climate change and land-use scenarios on *Margaritifera margaritifera*, an environmental indicator and endangered species. *Science of the Total Environment*, 511, 477-488.
- Schmitz, H., Maher, W., Taylor, A. y Krikowa, F. (2015). Effects of cadmium accumulation from suspended sediments and phytoplankton on the Oyster *Saccostrea glomerata*. *Aquatic Toxicology*, 160, 22-30.
- Servicio de Biodiversidad. (29 de 11 de 2019). *Proyecto LIFE Conservación de Margaritifera auricularia en Aragón*. Obtenido de Dirección General del Medio Natural y Gestión Forestal. Departamento de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente. Gobierno de Aragón: <https://www.aragon.es/-/proyecto-life-conservacion-de-margaritifera-auricularia-en-aragon>
- Simkiss, K. (1995). The Application of Controlled Release and QSAR Technology to Sediment Toxicity. *Marine Pollution Bulletin*, 31, 28-31.
- Soler, J., Araujo, R. y Wantzen, K. M. (2018). *The Giant Freshwater Pearl Mussel (Margaritifera auricularia) Handbook. Volume 1 – Synopsis on the current scientific literature*. Tours (France): University of Tours, France, CNRS UMR CITERES, LIFE+ project 13BIO/FR/001162 "Conservation of the Giant Freshwater Pearl Mussel (Margaritifera auricularia) in Europe".
- Sousa, R., Antunes, C. y Guilhermino, L. (2008a). Ecology of the invasive Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in aquatic ecosystems: an overview. *International Journal of Limnology*, 44, 85-94.
- Sousa, R., Rufino M., Gaspar M., Antunes, C. y Guilhermino, L. (2008b). Abiotic impacts on spatial and temporal distribution of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the River Minho estuary, Portugal. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 18, 98-110.
- Sousa, R., Novais, A., Costa, R. y Strayer, D. (2014). Invasive bivalves in fresh waters: impacts from individuals to ecosystems and possible control strategies. *Hydrobiologia*, 735, 233-251.
- Sousa, R., Varandas, S., Cortes, R., Teixeira, A., Lopes-Lima, M., Machado, J. y Guilhermino, L. (2012). Massive die-offs of freshwater bivalves as resource pulses. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, 48, 105-112.
- Strayer, D. y Malcom, H. (2012). Causes of recruitment failure in freshwater mussel populations in southeastern New York. *Ecological Applications*, 22(6), 1780-1790.

- Terrado, M., Barceló, D. y Tauler, R. (2006). Identification and distribution of contamination sources in the Ebro river basin by chemometrics modelling coupled to geographical information systems. *Talanta*, 70, 691-704.
- Tomailla, J. y Iannaccone, J. (2018). Toxicidad letal y subletal del arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Parachaeirodon innesi neon tetra* (Characidae). *Revista de Toxicología* 35, 95-105.
- United States Environmental Protection Agency. (15 de octubre de 2020). *National Recommended Water Quality Criteria - Aquatic Life Criteria Table*. Obtenido de <https://www.epa.gov/wqc/national-recommended-water-quality-criteria-aquatic-life-criteria-table>
- Val, J., Chinarro, D., Pino, M. y Navarro, E. (2016). Global change impacts on river ecosystems: A high-resolution watershed study of Ebro river metabolism. *Science of the Total Environment*, 569-570, 774-783.
- Van Geest, J., Poirier, D., Sibley, P. y Solomon, K. (2010). Measuring bioaccumulation of contaminants from field-collected sediment in freshwater organisms: a critical review of laboratory methods. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(11), 2391-2410.
- Vega, R., Zamorano, J., Encina, F. y Mardones, A. (2015). Efecto del calcio sobre la toxicidad aguda de aluminio en alevines de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) expuestos en aguas de diferente pH. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 43(2): 337-343 “Proceedings of the 4th National Conference of Aquaculture, Chile”. Sandra Bravo y Rolando Vega (Guest Editors).
- Vijuesca, D. (2018). *Sensibilidad de estadios tempranos de Margaritifera auricularia (Spengler, 1793) frente a metales pesados y otros compuestos presentes en la cuenca del río Ebro*. Trabajo de Fin de Grado. Universidad de Zaragoza.
- Wang, N., Ivey, C. D., Ingersoll, C. G., Brumbaugh, W. G., Álvarez, D., Hammer, E. J., Bauer, C. R., Auspurger, T., Raimondo, S. y Barnhart, C. (2016). Acute sensitivity of a broad range of freshwater mussels to chemicals with different modes of toxic action. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9999, 1-11.
- Whaley-Martin, K., Koch, I., Moriarty, M. y Reimer, K. (2012). Arsenic Speciation in Blue Mussels (*Mytilus edulis*) Along a Highly Contaminated Arsenic Gradient. *Environmental Science y Technology*, 46, 3110-3118.
- Yu, D., Ji, C., Zhao, J. y Wu, H. (2016). Metabolic responses indicated that As (III) mainly caused disturbance in osmotic regulation in (III) and As (V) in juvenile mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Chemosphere*, 150, 194-201.

Zhang, C., Shan, B., Tang, W., Wang, C. y Zhang, L. (2019). Identifying sediment-associated toxicity in rivers affected by multiple pollutants from the contaminant bioavailability. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171, 84-91.

Zhang, L., Wei, C., Zhang, H. y Song, M. (2017). Criteria for assessing the ecological risk of nonylphenol for aquatic life in Chinese surface fresh water. *Chemosphere*, 184, 569-574.

## 9. Anexos

### I. Relación de compuestos químicos hallados

Nombre y descripción de los compuestos químicos hallados en los análisis de muestras de agua, sustrato y biota.

Nombre	n.º CAS	Fórmula molecular	Descripción	Efectos en el medio acuático <sup>1</sup>
DEET	134-62-3	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO	Repelente y pesticida	<i>Aquatic Chronic 3</i> (Tóxico para la vida acuática con efectos de larga duración)
Fludioxonil	131341-86-1	C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Fungicida	<i>Aquatic Acute 1</i> (Muy tóxico para la vida acuática) <i>Aquatic Chronic 1</i> (Muy tóxico para la vida acuática con efectos de larga duración)
Pendimetalina	40487-42-1	C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Herbicida	<i>Aquatic Acute 1</i> (Muy tóxico para la vida acuática) <i>Aquatic Chronic 1</i> (Muy tóxico para la vida acuática con efectos de larga duración)
Prosulfocarb	52888-80-9	C <sub>14</sub> H <sub>21</sub> NOS	Pesticida	<i>Aquatic Chronic 2</i> (Tóxico para la vida acuática con efectos de larga duración)
Antraquinona	84-65-1	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	Regulador de pH y tratamiento de aguas	No considerada persistente, bioacumulable ni tóxica
DDE p.p	72-55-9	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>4</sub>	Producto de la degradación del DDT (insecticida prohibido)	<i>Aquatic Acute 1</i> (Muy tóxico para la vida acuática) <i>Aquatic Chronic 1</i> (Muy tóxico para la vida acuática con efectos de larga duración)
Oxifluorfen	42874-03-3	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> ClF <sub>3</sub> NO <sub>4</sub>	Herbicida	<i>Aquatic Acute 1</i> (Muy tóxico para la vida acuática) <i>Aquatic Chronic 1</i> (Muy tóxico para la vida acuática con efectos de larga duración)
Nonilfenol	25154-52-3	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	Usado en la industria para la fabricación de tensioactivos	<i>Aquatic Acute 1</i> (Muy tóxico para la vida acuática) <i>Aquatic Chronic 1</i> (Muy tóxico para la vida acuática con efectos de larga duración)

<sup>1</sup> Según el Reglamento (CE) n.º 1272/2008 sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas.