

EVALUACIÓN DEL IMPACTO AMBIENTAL DE LA CONTAMINACIÓN QUÍMICA EN LA AVIFAUNA DE LAS TABLAS DE DAIMIEL

RAFAEL MATEO¹, CELIA LAGUNA², CLAUDIA RIVETTI³, JHON J. LÓPEZ-PEREA⁴,
CARLOS BARATA⁵, BENJAMÍ PIÑA⁶, ETHEL ELJARRAT⁷, DAMIÀ BARCELÓ⁸, JAVIER VIÑUELA⁹,
SANTOS CIRUJANO¹⁰, ÁLVARO CHICOTE¹¹, MÁXIMO FLORÍN¹²

RESUMEN

El Parque Nacional Tablas de Daimiel recibe contaminación química de diversas fuentes, que en su conjunto afectan a la ecología del humedal y a la comunidad de aves que sustenta. En este trabajo hemos estudiado las diferentes vías de entrada de contaminantes, a través de los ríos y arroyos que nutren el Parque Nacional Tablas de Daimiel, por la escorrentía de los terrenos agrícolas que lo rodean y por las propias aves que transportan tanto nutrientes como contaminantes ambientales al humedal. Las características fisicoquímicas de agua y sedimento son determinantes en la distribución espacial de las praderas de carófitos, pero los experimentos llevados a cabo nos muestran que son todavía más importantes los efectos de peces como las carpas, presentes en el Parque Nacional Tablas de Daimiel en altas densidades durante el periodo de estudio, lo que tiene un impacto en la comunidad de aves acuáticas. En cuanto a la contaminación química, mediante la comparación de muestras tomadas en la laguna de Navaseca, que recibe de forma directa el efluente de una depuradora, y en diversos puntos del Parque Nacional Tablas de Daimiel podemos identificar algunos contaminantes que pueden entrar en estos humedales con las aguas residuales tratadas. Centrándonos en las aves, hemos podido comprobar que las pollas de agua del Parque Nacional Tablas de Daimiel presentan niveles más altos de mercurio y selenio, mientras que las de Navaseca presentan niveles más altos de

¹ Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos, IREC (CSIC, UCLM, JCCM), Ronda de Toledo 12, 13005 Ciudad Real, España.

² Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos, IREC (CSIC, UCLM, JCCM), Ronda de Toledo 12, 13005 Ciudad Real, España. Centro Regional de Estudios del Agua (CREA), Edificio Politécnico, Avda. Camilo José Cela s/n, 13071 Ciudad Real, España.

³ Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua (IDAEA-CSIC), C/ Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, España.

⁴ Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos, IREC (CSIC, UCLM, JCCM), Ronda de Toledo 12, 13005 Ciudad Real, España.

⁵ Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua (IDAEA-CSIC), C/ Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, España.

⁶ Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua (IDAEA-CSIC), C/ Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, España.

⁷ Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua (IDAEA-CSIC), C/ Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, España.

⁸ Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua (IDAEA-CSIC), C/ Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, España.

⁹ Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos, IREC (CSIC, UCLM, JCCM), Ronda de Toledo 12, 13005 Ciudad Real, España.

¹⁰ Real Jardín Botánico, CSIC, Plaza de Murillo 2, 28014 Madrid, España.

¹¹ Centro Regional de Estudios del Agua (CREA), Edificio Politécnico, Avda. Camilo José Cela s/n, 13071 Ciudad Real, España.

¹² Centro Regional de Estudios del Agua (CREA), Edificio Politécnico, Avda. Camilo José Cela s/n, 13071 Ciudad Real, España.

PCBs. El estudio de biomarcadores de estrés oxidativo y de la función inmune indican que las aves de Navaseca muestran una disminución de antioxidantes y de la respuesta inmune celular, que puede estar asociada a la carga de contaminantes abióticos y bióticos que presenta ese humedal. Por otra parte, hemos podido caracterizar el riesgo para las aves silvestres del entorno del Parque Nacional Tablas de Daimiel que representa la ingestión de semilla de siembra tratada con plaguicidas.

Palabras clave: contaminación, aguas residuales, calidad del agua, macrófitos, aves acuáticas.

EVALUATION OF THE ENVIRONMENTAL IMPACT OF THE CHEMICAL POLLUTION IN THE BIRDLIFE OF LAS TABLAS DE DAIMIEL

ABSTRACT

Las Tablas de Daimiel National Park receives chemical pollution from various sources, which together affect the ecology of the wetland and bird community that supports it. In this work, we have studied routes of entrance of contaminants through the rivers and streams that feed Tablas de Daimiel National Park, by runoff from agricultural land surrounding it and the birds that carry both nutrients and environmental pollutants to the wetlands. The physicochemical characteristics of water and sediment are crucial to the spatial distribution of charophytes, but experiments carried out show that the effects of fish such as carp, present in Tablas de Daimiel National Park at high densities during the study period, are even more important and this affects the community of waterbirds in this wetland. In addition to the effect that eutrophication can have on the wetland, we have also carried out analysis of various types of chemical contaminants from industrial and urban origin that can reach Tablas de Daimiel National Park via treated wastewater. By comparing samples taken in the Navaseca pond, which directly receives poorly treated sewage effluents from Daimiel town, and at various points of Tablas de Daimiel National Park, we can identify some contaminants that can enter these wetlands with treated sewage water. This may allow us in the future to focus monitoring on certain pollutants indicative of discharges of poorly treated wastewater. Focusing on birds, we have found that moorhens from Tablas de Daimiel National Park have higher levels of mercury and selenium, while birds from Navaseca showed higher levels of PCBs. The study of biomarkers of oxidative stress and immune function indicates that Navaseca birds show a decrease of antioxidants and cellular immune responses, which may be associated with the abiotic and biotic load of contamination present in the wetland. Finally, we have characterised the risk for birds in Tablas de Daimiel National Park of eating seed treated with pesticides during sowing.

Keywords: contamination, wastewater, water quality, macrophytes, waterbirds.

INTRODUCCIÓN

Las poblaciones de aves acuáticas en el Parque Nacional de Las Tablas de Daimiel (PNTD) se encuentran expuestas a diversos agentes estresantes que tienen su origen en diferentes formas de

contaminación ambiental, que se suman a la disminución en la cantidad y calidad de los aportes hídricos debido a la sobreexplotación del acuífero por extracciones para riego, la canalización fluvial, el aumento de carga de nutrientes a través de los ríos o por escorrentía y el aumento de

la salinización por la irregularidad de las descargas (LLAMAS 1988; MARTÍNEZ-SANTOS *et al.*, 2008, SÁNCHEZ-CARRILLO & AGELER 2010). En estudios anteriores desarrollados en este humedal se ha podido ver que los vertidos de aguas residuales tratadas, en ocasiones de forma deficiente o nula, pueden afectar a la ecología del humedal e incrementar el riesgo de aparición de brotes de botulismo aviar causantes de importantes mortalidades en las aves acuáticas (VIDAL *et al.*, 2013). Por otra parte, estos humedales que reciben aguas residuales tratadas en el entorno del PNTD presentan con mayor frecuencia en sedimento, agua y heces de las aves diferentes tipos de enterobacterias patogénicas para las aves, capaces de facilitar la aparición de los brotes de botulismo mediante la muerte inicial de algunos individuos (ANZA *et al.*, 2014a), que posteriormente se propagan mediante el ciclo cadáver-larva de mosca-ave intoxicada (ANZA *et al.*, 2014b), afectando a especies amenazadas como la malvasía cabeciblanca (*Oxyura leucocephala*) y causando mortalidades de hasta el 17% de las aves de dicha especie censadas en un humedal (ANZA *et al.*, 2016). Estos brotes de botulismo ocurridos en los humedales manchegos, incluido el PNTD, son debidos al mosaico tipo C/D de *Clostridium botulinum* que predomina actualmente en Europa (ANZA *et al.*, 2014c).

En el estudio que aquí presentamos se ha abordado la contaminación química, que en parte procede también de las aguas residuales vertidas a las cuencas del río Cigüela y Guadiana. Esta contaminación, junto con la procedente de otras fuentes, como por ejemplo las difusas originadas por la agricultura, puede afectar de forma directa a la salud de las aves (p.e. contaminantes orgánicos persistentes (POPs), plaguicidas o metales pesados). Además de estos contaminantes químicos orgánicos, la salinización y el enriquecimiento de nutrientes que favorece la eutrofización del agua y sedimento pueden alterar la ecología del humedal (ÁLVAREZ-COBELAS *et al.*, 2001; GREEN *et al.*, 2017) y esto

afectar al desarrollo de macrófitos sumergidos que sustentan buena parte de la comunidad de aves del humedal (LAGUNA *et al.*, 2016).

MATERIAL Y MÉTODOS

Fuentes de contaminación del área de estudio

En este estudio se consideran tres vías de contaminación química que pueden afectar al PNTD y así de forma directa o indirecta a las aves: (1) aguas residuales de origen urbano e industrial que han sido tratadas en Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR) y que han podido tener un tratamiento más o menos eficiente en función de diversos factores; (2) escorrentía de plaguicidas y fertilizantes de los terrenos agrícolas y ganaderos del entorno del PNTD; y (3) transporte de contaminantes a través de las aves que se alimentan en zonas más contaminadas del entorno, como son las lagunas receptoras de aguas residuales tratadas (Fig. 1).

Parámetros fisicoquímicos del agua

En este trabajo hemos estudiado durante dos años (2013-2014) la calidad del agua y el sedimento de diez puntos de Las Tablas de Daimiel (ver LAGUNA *et al.*, 2016). Además, durante el verano de 2014 se recogieron muestras de agua y sedimento en seis puntos de Las Tablas de Daimiel y su entorno, incluyendo la laguna de Navaseca (LAGUNA *et al.*, en prep.).

Además de tomar medidas in situ de diversos parámetros físico-químicos del agua, en laboratorio se analizaron diversos nutrientes tanto en agua como en sedimento (ver LAGUNA *et al.*, 2016), siguiendo diversas metodologías. Se realizaron los mismos análisis para las muestras recogidas en 2013-2014 y las del verano 2014.

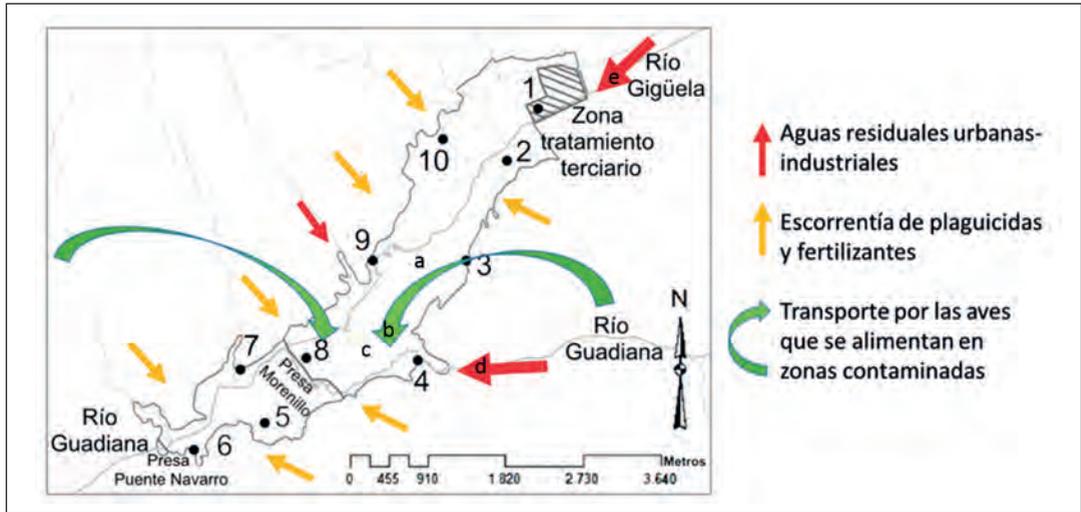


Fig. 1. El Parque Nacional de Las Tablas de Daimiel (PNTD) recibe los contaminantes de aguas residuales urbanas e industriales a través de los principales ríos y arroyos que lo inundan, pero también de una forma más difusa a través de la escorrentía de los terrenos agrícolas circundantes e incluso a través de las aves acuáticas que lo habitan. Puntos de muestreo de agua y sedimento para el estudio del crecimiento de *Chara spp.* en el PNTD y su entorno (LAGUNA et al., 2016): (1) Entrada al dispositivo de tratamiento terciario del Río Cigüela, (2) Isla de Algeciras, (3) Prado Ancho, (4) Zorreras, (5) Perinat, (6) Ricardo, (7) Cañada del Gato, (8) Isla de Morenillo, (9) Casablanca, (10) Pitos, (11) Molino de Griñón, (12) Laguna de Navaseca. Puntos para el estudio de fuentes de contaminación puntual y difusa: (a) Tablazo, (b) Garcera, (c) Isla de los Gambetas, (d) Río Guadiana y (e) Río Cigüela.

Contaminación química de origen urbano e industrial

En el periodo 2013-2014 se recogieron muestras de agua y sedimento para el análisis de nutrientes y la determinación de compuestos químicos orgánicos en los diez puntos del Parque, más otros cinco puntos del entorno (uno en el río Guadiana y cuatro en la laguna de Navaseca). En este estudio se han utilizado dos metodologías analíticas diferentes para poder abarcar contaminantes de diferente naturaleza, una basada en la cromatografía de gases (GC) y otra en la cromatografía líquida (LC) y ambas acopladas a la espectrometría de masas en tándem (MS-MS). La lista de contaminantes analizados incluye productos usados en el hogar (desinfectantes, detergentes y productos de cuidado personal), sustancias presentes en utensilios domésticos (retardantes de llama y materiales sintéticos), fármacos, sustancias de origen humano

o alimentario y contaminantes relacionados con la actividad industrial y el transporte (Tabla I).

Bioensayos para monitorizar la contaminación

Además de la detección de los contaminantes químicos mediante técnicas analíticas basadas en cromatografía y espectrometría de masas (GORGA et al., 2013), hemos tenido la posibilidad de monitorizar la carga de contaminantes mediante bioensayos de toxicidad acuática no específica (p.e. ensayos en *Daphnia magna*; BARATA & BAIRD 2000). Así por ejemplo, el test de inhibición de la ingestión post-exposición en *Daphnia* ha sido usado para detectar la presencia de forma no específica de sustancias tóxicas para organismos acuáticos que podrían tener efectos adversos en el conjunto de la cadena trófica del hu-

medal. También se han usado ensayos *in vitro* con levaduras recombinantes que indicarían de forma específica la presencia de disruptores endocrinos en el medio con actividad estrogénica y «dioxin-like» (unión al receptor Ah). Los primeros tienen

la capacidad de alterar el ciclo reproductor de peces y aves acuáticas y los segundos de inducir sistemas enzimáticos que pueden incrementar el desarrollo de neoplasias y procesos cancerígenos (NOGUEROL *et al.*, 2006; CÉSPEDES *et al.*, 2004).

Tabla I. Compuestos químicos analizados en aguas de Las Tablas de Daimiel y su entorno.

Compuesto analizado	Usos/Fuentes
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs)	Combustión/Derivados del petróleo
Retardantes de llama organofosforados	Materiales
Triazoles	Fungicidas
Triclosán	Desinfectantes
Bisphenol A	Plásticos
Parabenos	Productos de cuidado personal
Nonilfenoles	Surfactantes
Cafeína	Alimentación

Efectos de los contaminantes en la vegetación: interacción con los peces y las aves

Para evaluar el efecto de la contaminación, de los peces y de las aves en el crecimiento de praderas sumergidas de macrófitas, se usaron tres tipos de cercados: excluyendo a las aves, a las aves y los peces y a ninguno (abiertas o controles) en diez puntos del interior de Las Tablas. Al mismo tiempo se midieron los parámetros físico-químicos del agua y sedimento descritos en las secciones previas (ver LAGUNA *et al.*, 2016).

Evolución de la población de aves durante la recuperación hídrica

Entre junio de 2010 y abril de 2014 se realizaron censos mensuales desde distintos puntos fijos en la orilla del parque, seleccionados por su visibilidad relativamente alta e intentando cubrir la mayor superficie de observación posible en Las Tablas de Daimiel, con el objetivo de obtener

unos datos que permitan estimar la población de aves acuáticas que alberga el parque durante los diferentes meses del año. Además, se realizaron censos en barco por el interior del parque coordinados conjuntamente con la guardería.

Contaminantes químicos en las aves: la gallineta común como especie indicadora

En este proyecto se han tomado muestras de diferentes especies de aves, pero aquí nos vamos a centrar en la gallineta común (*Gallinula chloropus*), ya que es la que nos ha permitido tener una mayor cobertura del área de estudio y poder analizar un mayor número de contaminantes y biomarcadores. Al ser un ave con una dieta omnívora puede ser también una especie adecuada como bioindicadora, no realiza grandes movimientos, por lo que también puede reflejar la contaminación de una zona concreta y, finalmente, por su tamaño nos ha permitido trabajar con una cantidad de muestra (sangre, secreción uropigial y plumas) su-

ficiente para medir diversos parámetros de contaminación y estado fisiológico de cada individuo.

Entre los contaminantes analizados están algunos halogenados persistentes (plaguicidas organoclorados y PCBs) y los metales pesados. Los primeros han sido medidos en sangre y secreción de la glándula uropigial, mientras que los segundos han sido medidos en sangre y plumas. A este estudio de los contaminantes relacionados con el medio acuático añadimos los presentes en el entorno de Las Tablas debido al uso de plaguicidas o biocidas, como pueden ser los fungicidas usados para el tratamiento de la semilla de siembra (ver LÓPEZ-ANTIA *et al.*, 2016) o los rodenticidas anticoagulantes (ver LÓPEZ-PEREA *et al.*, 2015b). En cuanto a biomarcadores, hemos podido medir diversos parámetros relacionados con el estrés oxidativo. Entre estos se encuentran enzimas antioxidantes como glutatión peroxidasa (GPX) y superóxido dismutasa (SOD), antioxidantes endógenos como el glutatión (GSH), antioxidantes de la dieta como retinol (vitamina A), alfa-tocoferol (vitamina E) y luteína e indicadores del estado redox como el glutatión oxidado (GSSG) y peróxidos de lípidos (MDA). A esto se añaden diversos parámetros indicadores de la función inmune de las aves, tanto constitutiva (capacidad fagocítica y bactericida de la sangre y los niveles de haptoglobina en plasma) como inducida (reacción dérmica a la fitohemaglutinina (PHA)) y los niveles de hormonas sexuales en plasma. Los resultados obtenidos han sido comparados entre las aves capturadas en la laguna de Navaseca y Las Tablas de Daimiel, partiendo de la hipótesis que las primeras presentarán una mayor contaminación y por lo tanto presentarían alteraciones en los biomarcadores analizados que podrían comprometer su supervivencia y éxito reproductor. Más detalles de la metodología usada en estos análisis se pueden encontrar en LÓPEZ-ANTIA *et al.* (2015) y VALLVERDÚ-COLL *et al.* (2015). Dichas comparaciones han sido realizadas considerando también en los análisis (modelos lineales generalizados) los efectos de la estación de captura, el sexo y la edad de las gallinetas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contaminantes en el agua y el sedimento de Las Tablas de Daimiel y su entorno

De acuerdo con la Directiva Marco del Agua de la UE (DOCE 2000), el concepto de contaminación en el medio acuático trasciende del contexto legal utilizado para las concesiones de vertido actuales, que inminentemente serán reemplazadas por otras más rigurosas, y debe tener en cuenta la carga másica de los aportes contaminantes y la capacidad de autodepuración del medio receptor. En el caso concreto de Las Tablas de Daimiel se debería diferenciar entre los diferentes tipos de agentes contaminantes que pueden aparecer en episodios de contaminación. Además de los agentes bióticos, que pueden estar originados por las aguas fecales (p.e. enterobacterias; ANZA *et al.*, 2014a), las aguas residuales presentan contaminantes abióticos que podemos clasificar en dos grupos. Por una parte se encuentran los que actúan como nutrientes (formas de nitrógeno, fósforo, carbono, azufre,...) que pueden alterar la ecología del humedal, aumentando la producción de fitoplancton en general, o incluso de cianobacterias productoras de toxinas capaces de causar mortalidades en aves y peces (LÓPEZ-RODAS *et al.*, 2008) y provocando problemas de eutrofización. Por otra parte, hay una gran diversidad de contaminantes orgánicos e inorgánicos de origen urbano, industrial, agrícola o ganadero que tienen en muchos casos una tendencia a acumularse en el medio acuático, que son los que realmente conocemos como contaminación química y que cambian a medida que surgen nuevas sustancias químicas sintetizadas por el hombre (JURADO *et al.*, 2012).

Contaminación por exceso de nutrientes

Los nutrientes se encuentran en el medio de forma natural, si bien el aumento de la carga contaminante en el humedal, procedente de los vertidos directos de aguas residuales o por esco-

rentía de zonas de cultivo circundantes pueden sobrecargar el medio y modificar la dinámica de nutrientes y por múltiples factores, disminuir la riqueza de especies y alterar la ecología del humedal de una manera persistente (BREITBURG *et al.*, 1998;ÁLVAREZ-COBELAS *et al.*, 2001; GREEN *et al.*, 2017). En nuestro estudio se ha podido observar que existen diferencias en la composición del

agua y sedimento entre zonas de Las Tablas, que el dispositivo de *by-pass* creado en la entrada del río Cigüela al Parque Nacional sirve para mejorar la calidad del agua en varios parámetros y que en general durante el periodo de estudio la calidad del agua era suficientemente buena como para permitir el desarrollo de las ovas de río (*Chara spp.*) (LAGUNA *et al.*, 2016) (Fig. 2).

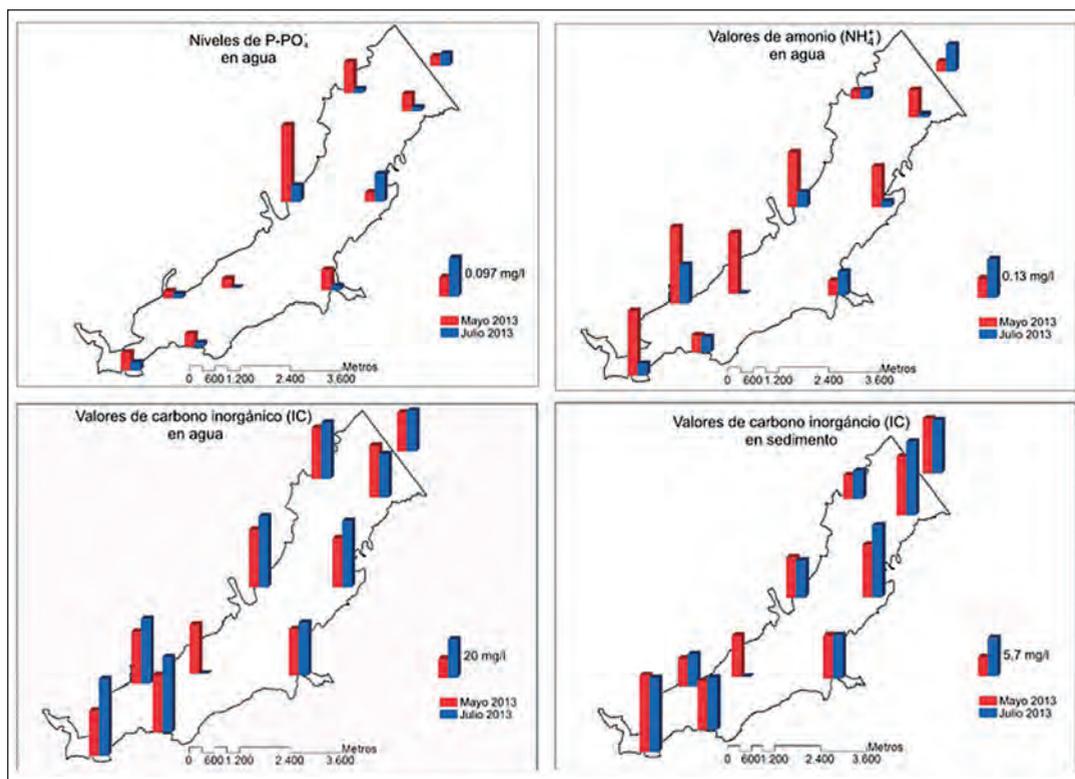


Fig. 2. Parámetros fisicoquímicos de agua y sedimento del Parque Nacional de Las Tablas de Daimiel y su entorno medidos en mayo y julio de 2013 durante el estudio del crecimiento de *Chara spp.* en cercados de exclusión de peces y aves (LAGUNA *et al.*, 2016).

Este estudio está siendo ampliado con otros dos trabajos enfocados a conocer los aportes de nutrientes y contaminantes químicos a través de fuentes puntuales y difusas en el Parque (LAGUNA *et al.*, en prep.). Por el momento, disponemos de resultados de la presencia de nutrientes en sedimento de diferentes puntos del Parque y podemos destacar

la existencia de niveles elevados de fósforo, amonio y materia orgánica en el entorno de las colonias de garzas establecidas sobre los bosquetes inundados de tarajes (Fig. 3). También podemos observar que los sedimentos del río Guadiana presentan niveles más elevados de fósforo y amonio que los del río Cigüela.

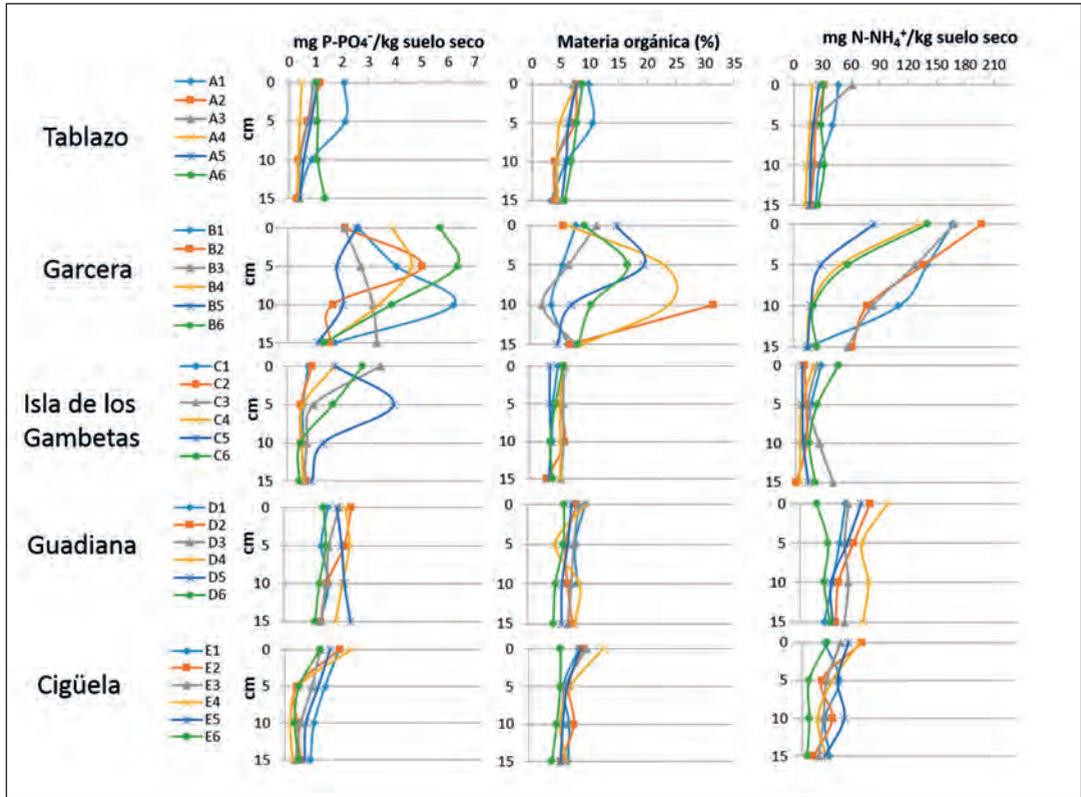


Fig. 3. Estudio de los niveles de fósforo (P-PO₄), materia orgánica y nitrógeno amoniacal (N-NH₄) a diferentes profundidades del sedimento del Parque Nacional de Las Tablas de Daimiel y su entorno (LAGUNA et al., en prep.).

Contaminación química de origen urbano e industrial

La lista de contaminantes químicos que podemos detectar en humedales como Las Tablas de Daimiel es muy extensa, y una de sus principales fuentes es el vertido de aguas residuales urbanas e industriales, aunque hayan sido tratadas de forma más o menos eficiente (JURADO et al., 2012; GORGA et al., 2013). Además de los esperables altos niveles de la mayoría de los contaminantes en las aguas de la Laguna de Navaseca, receptora del vertido de la EDAR de Daimiel, debemos resaltar la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) en varios puntos del Parque (Fig. 4). Estos niveles de PAHs podrían estar originados por los incen-

dios de la turba de Las Tablas ocurridos años atrás (MORENO et al., 2011), ya que se ha visto que pueden ser detectados en los cursos fluviales después de incendios de vegetación (VILA-ESCALÉ et al., 2007). Por otra parte, los altos niveles de PAHs detectados en la laguna de Navaseca también indican que las aguas residuales pueden ser una fuente importante de este tipo de contaminación en el PNTD. Tanto retardantes de llama organofosforados, como triazoles, alquilfenoles, parabenos o bisfenol A se encuentran en concentraciones más altas en Navaseca que en PNTD, y también observamos que el río Cigüela es también una fuente de este tipo de contaminantes en el PNTD (Fig. 4). Más detalles de estos resultados están disponibles en RIVETTI et al. (2015, 2017).

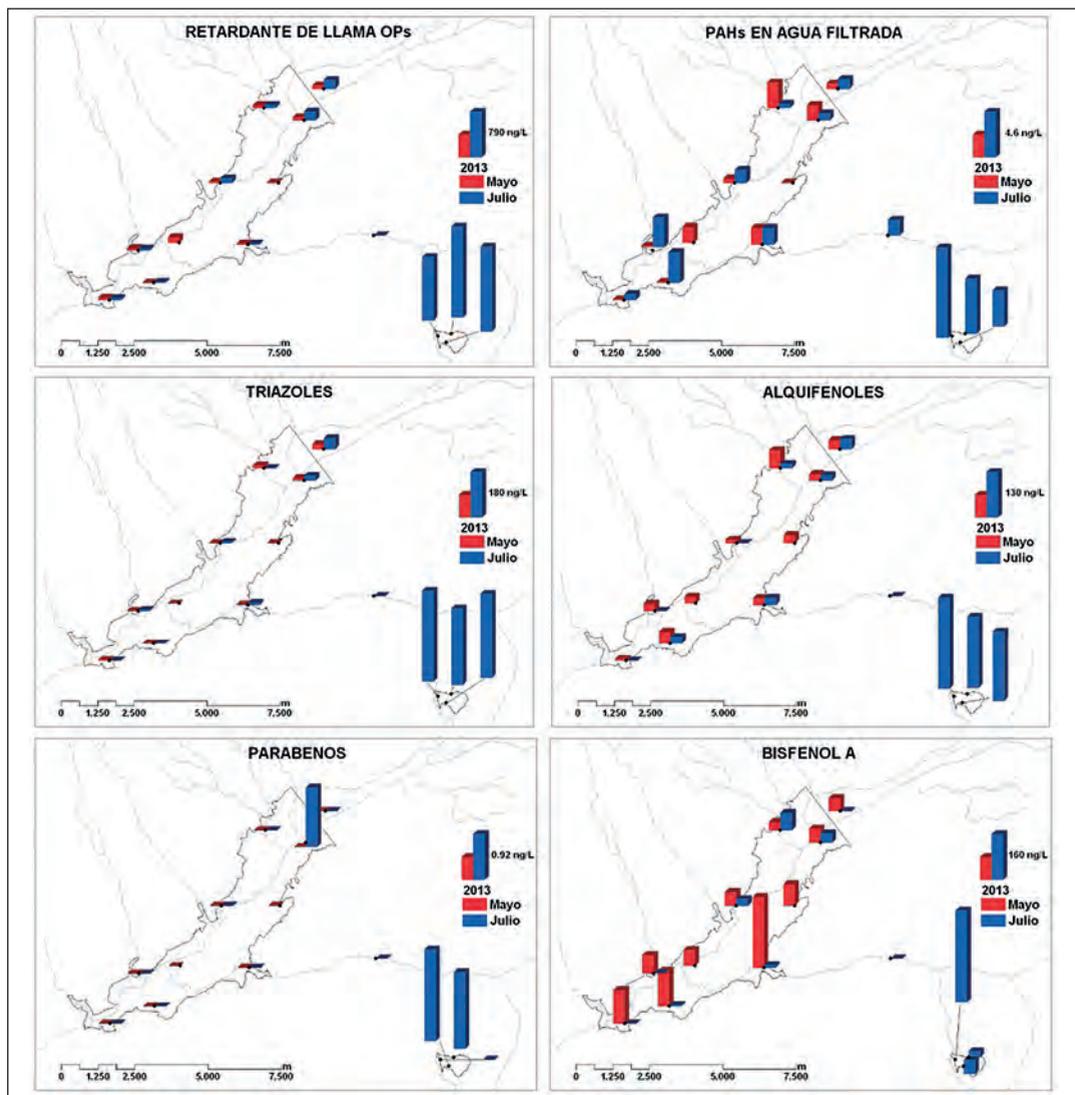


Fig. 4. Niveles de diferentes tipos de contaminantes químicos en agua del Parque Nacional de Las Tablas de Daimiel y su entorno (RIVETTI *et al.*, 2017).

Bioensayos para monitorizar la contaminación

En Las Tablas de Daimiel observamos que el test con *Daphnia* no muestra una inhibición de la alimentación importante en ninguno de los puntos de muestreo (Fig. 5). Sin embargo, el bioensayo de

la actividad «dioxin-like» de las muestras de agua por unión al receptor Ah con levaduras recombinantes indican la existencia de sustancias inductoras de este sistema enzimático del citocromo P450, como pueden ser los PAHs y compuestos orgánicos halogenados (p.e. dioxinas, furanos y bifenilos policlorados) (NOGUEROL *et al.*, 2006;

OLIVARES et al., 2013). Expresando esta activación en forma de equivalentes al benzo[a]pireno, podemos ver una contaminación más elevada en la zona cercana al Cigüela y en la zona más baja del Parque cerca de la presa de Puente Navarro (Fig. 5). Como se ha comentado antes, esta actividad «dioxin-like» puede estar relacionada con PAHs formados en los incendios de turbas (MORENO et al., 2011; VILA-ESCALÉ et al., 2007), pero la diferencia entre los niveles de PAHs medidos por análisis químico y los equivalentes de benzo[a]pireno medidos por el ensayo *in vitro* indican que deben existir otros compuestos capaces de activar el receptor Ah (ver RIVETTI et al., 2015, 2017).

Efectos de los contaminantes en la vegetación. Interacción con los peces y las aves

Unos de los efectos que se achaca a la contaminación del agua que entra en Las Tablas de Daimiel, agravado por la disminución de los aportes hídricos, es el de reducir el desarrollo de las praderas de macrófitos sumergidos, como son las ovas del género *Chara* (CIRUJANO et al., 1996; ÁLVAREZ-COBELAS et al., 2001). Esto se debería principalmente a la entrada en exceso de nutrientes que dispara el crecimiento de fitoplancton, lo que conlleva una disminución de la transparencia del agua y dificulta el crecimiento de las plantas por falta de luz, hechos que vienen agravados por la presencia de peces como las carpas, que remueven el sedimento (WEBER & BROWN 2009). Por otra parte, la propia herbivoría de las especies de peces (p.e. carpa) y aves (p.e. fochas y patos herbívoros) que habitan el PNTD podría afectar de forma significativa en el crecimiento y expansión de las praderas de *Chara spp.*, lo que tendría consecuencias en el conjunto del ecosistema de Las Tablas y en especial en las poblaciones de aves que se alimentan de ova (WEBER & BROWN 2009). En este proyecto hemos estudiado mediante un diseño experimental con cercados de exclusión de peces y/o aves el crecimiento de *Chara spp.* en

una zona y se ha podido evaluar si la limitación del crecimiento de *Chara spp.* era debida a parámetros fisicoquímicos del agua y el sedimento o a la herbivoría (y alteración del fondo) por parte de las aves o los peces.

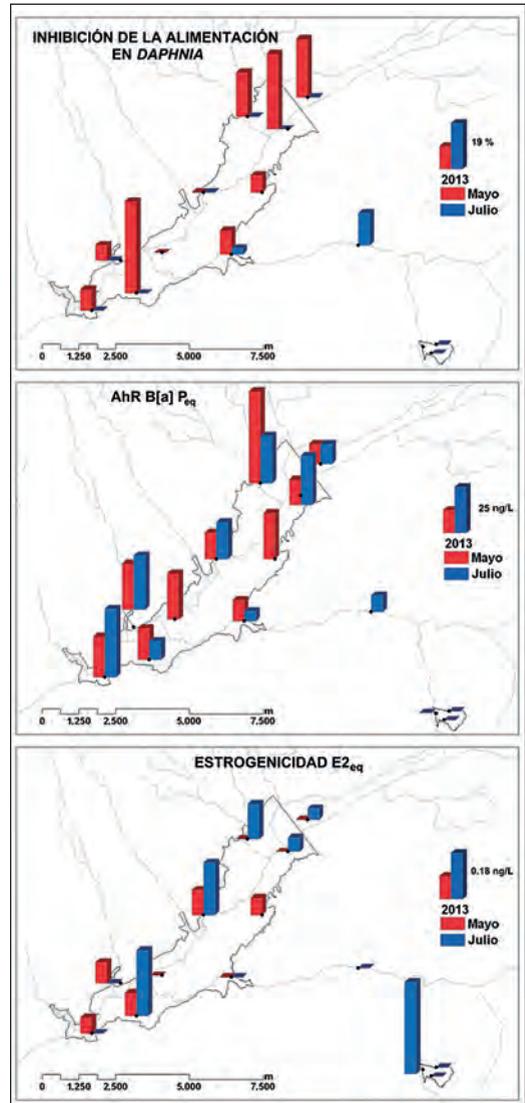


Fig. 5. Monitorización de la contaminación mediante el bioensayo con *Daphnia* (inhibición de la alimentación) y mediante bioensayos con levaduras recombinantes para estudiar el efecto sobre el receptor Ah y de estrógenos (RIVETTI et al., 2017).

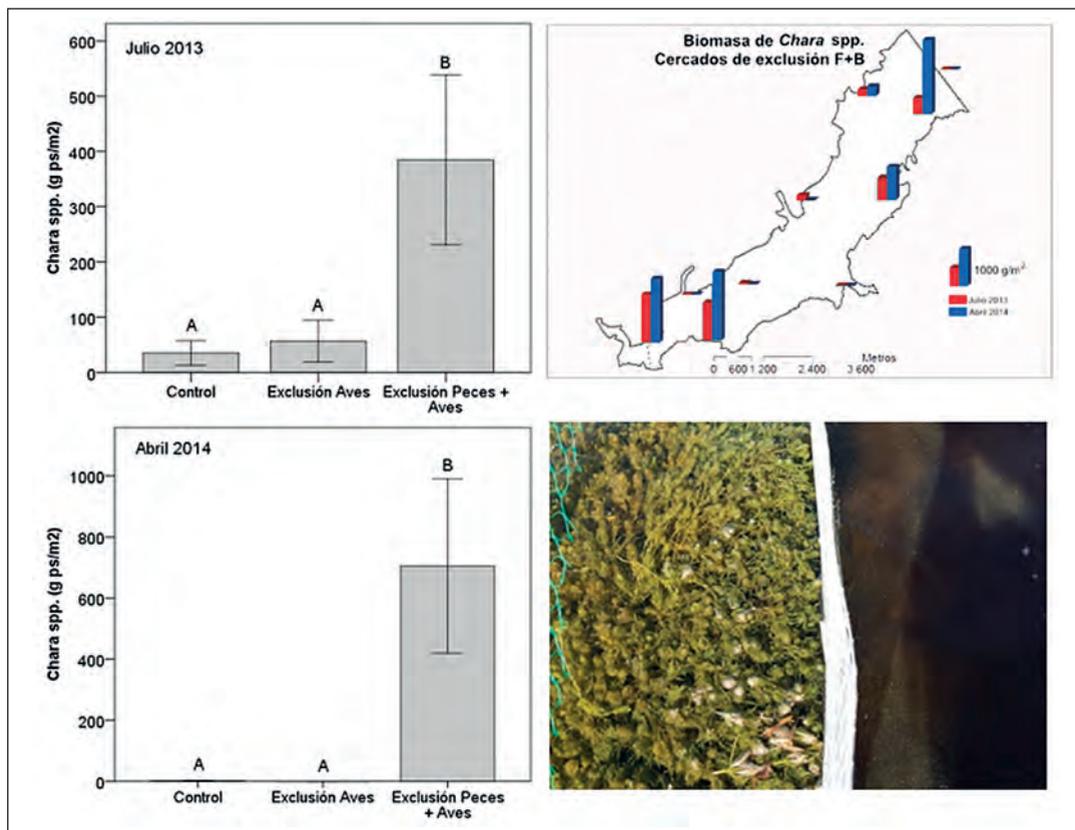


Fig. 6. Crecimiento de *Chara spp.* en los tres tipos de cercados de exclusión, en diferentes puntos de Las Tablas de Daimiel (en los cercados de exclusión de peces y aves) y fotografía del contraste entre la zona abierta (dcha.) y la excluida (izq.) (LAGUNA *et al.*, 2016).

Este estudio ha sido ya publicado por LAGUNA *et al.* (2016) y muestra que hay un efecto muy importante de la herbivoría y posterior acción sobre el fondo del humedal por parte de los peces (principalmente carpa común por la alta densidad registrada en el PNTD). La carpa ya había sido identificada como una especie capaz de producir cambios en la dinámica de los nutrientes en Las Tablas de Daimiel (ANGELER *et al.*, 2002). Aunque en nuestro estudio el cangrejo de río americano podía acceder al interior de los cercados y no hemos observado un efecto de esta especie, otros autores también identifican a esta especie introducida como alteradora del ecosistema de Las Tablas (CIRUJANO *et al.*, 2004; ANGELER *et al.*, 2001). En un segundo término se observan puntos en los

que no se ha producido crecimiento de *Chara spp.*, hecho que puede ser explicado por las características físico-químicas del agua y del sedimento. Así hemos observado que el mayor crecimiento de la ova se producía en las zonas con valores bajos de conductividad y valores altos de carbono inorgánico y nitrógeno orgánico en agua y valores bajos de fósforo orgánico e inorgánico en sedimento. Algunos autores consideran que unos valores de 1,2-2 mg/L de nitrógeno total y 0,13-0,20 mg/L de fósforo total en agua son umbrales a partir de los cuales desaparecería la vegetación sumergida (GONZALEZ-SAGRARIO *et al.*, 2005; BEKLIOGLU & TAN 2008). En Las Tablas los valores medios de nitrógeno total de mayo y julio excedieron el umbral de 2 mg/L y el valor medio

de fósforo total en mayo estuvo cerca del límite inferior del umbral de fósforo total de 0,13 mg/L y en julio estuvo por encima (LAGUNA et al., 2016).

Evolución de la población de aves durante la recuperación hídrica

Tras las intensas lluvias de finales de 2009 - principios de 2010 empezó un periodo en el que el nivel hídrico de Las Tablas se ha mantenido más o menos elevado hasta la actualidad (verano de 2016). Este resurgir después de un periodo prolongado de total sequía del Parque hizo que en el primer año de inundación se produjese un rápido aumento de las poblaciones de aves acuáticas, y en especial de los patos herbívoros como el pato colorado (*Netta rufina*) (Fig. 7), que coincidió con la mayor superficie colonizada por las praderas sumergidas de macrófitos en los últimos 30 años (CIRUJANO & ALVAREZ COBELAS 2010). Sin embargo, en los años posteriores se ha producido una disminución de estas aves y por el contrario han aumentado las piscívoras, lo que refleja este cambio de Las Tablas a un ecosistema de aguas permanentes dominados por peces como la carpa que limitan el desarrollo de las praderas de macrófitos (ver LAGUNA et al., 2016).

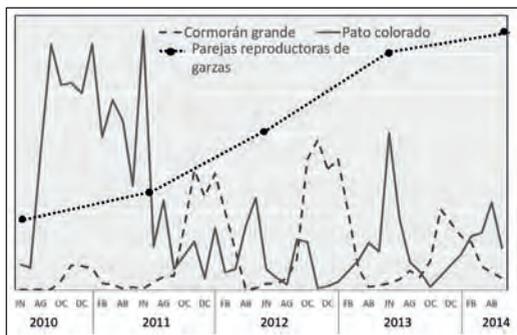


Fig. 7. Evolución de los censos de especies aves indicadoras en el Parque Nacional de Las Tablas de Daimiel durante el periodo de recuperación hídrica entre 2010 y 2014. En la gráfica se observa la subida y posterior bajada de especies herbívoras (pato colorado) y el aumento de las piscívoras (garzas y cormoranes) (LAGUNA et al., 2016).

Contaminantes químicos en las aves

Contaminantes orgánicos persistentes

Los resultados más destacables obtenidos mediante el análisis de sangre es la presencia en general de una mayor carga de POPs en las aves de la laguna de Navaseca, si bien siendo esto marginalmente significativo solo para los PCBs (Fig. 8). Este resultado es esperable teniendo en cuenta que los PCBs tienen principalmente un origen urbano o industrial y esta laguna recibe directamente el agua de la EDAR de Daimiel. Estos POPs también fueron analizados en la secreción de la glándula uropigial, pero en este caso no se observaron diferencias significativas entre zonas (ver LÓPEZ-PEREA et al., 2015a).

Metales pesados y metaloides

Entre los resultados más destacables de los análisis de metales pesados y metaloides en sangre nos encontramos con unos niveles significativamente más elevados de mercurio (Hg) y selenio (Se) en las gallinetas de Las Tablas de Daimiel (Fig. 9). Estos dos elementos suelen estar asociados en los seres vivos, ya que tiende a existir una interacción Hg-Se, aportando supuestamente el Se un efecto protector frente a la toxicidad del Hg (PATIÑO-ROPERO et al., 2016). No obstante, los niveles de Se detectado en la sangre de las gallinetas son elevados para los niveles de Hg que muestran estas aves. Esta observación merece una mayor atención ya que en otros lugares se ha visto que la puesta en marcha de regadíos en zonas con niveles altos de Se en suelos ha producido una acumulación de este elemento en los humedales, provocando efectos adversos en las aves acuáticas (OHLENDORF & HEINZ 2011). Por ejemplo, niveles similares a los aquí detectados en la sangre de las gallinetas de Las Tablas han sido conside-

rados indicadores para realizar estudios más detallados sobre la posible toxicidad del Se en las aves de una determinada zona (OHLENDORF & HEINZ 2011). Debemos resaltar que

en las aves con niveles de Hg por debajo del límite de detección también se observa una mayor concentración de Se en sangre en Las Tablas de Daimiel.

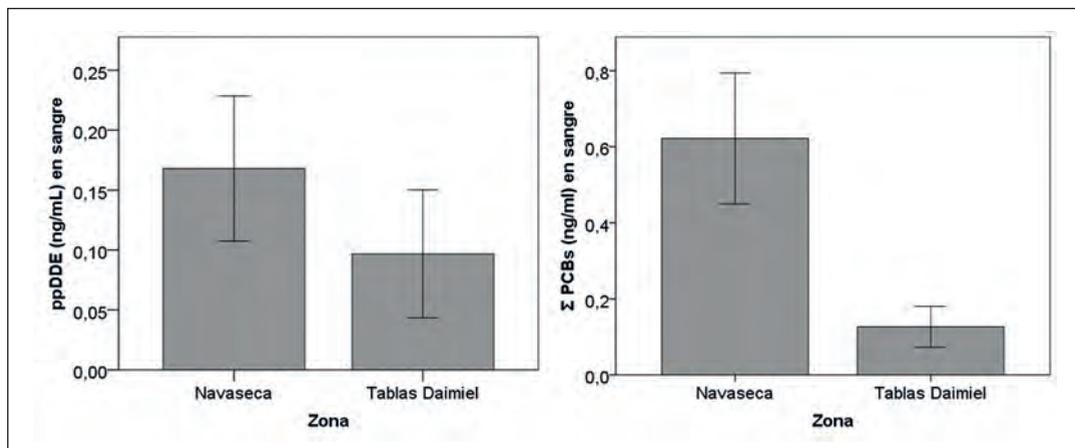


Fig. 8. Diferencias en los niveles de contaminantes clorados persistentes en sangre entre gallinetas comunes de la laguna de Navaseca y Las Tablas de Daimiel. La diferencia entre zonas es marginalmente significativa para ΣPCBs (p=0.064).

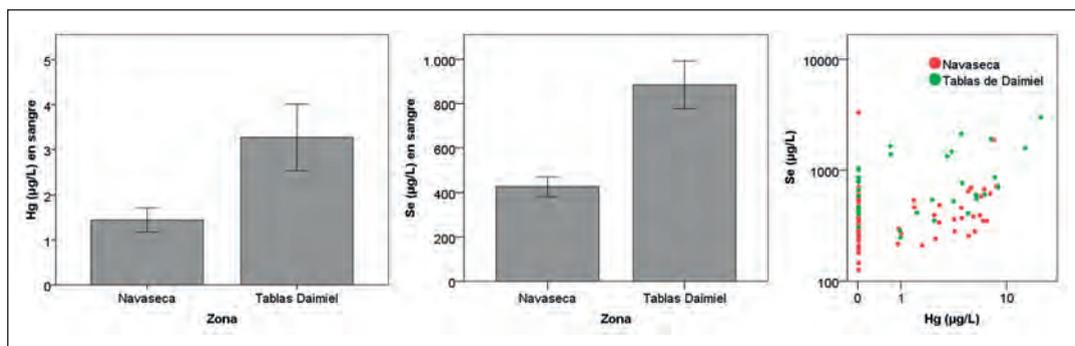


Fig. 9. Diferencias en los niveles de Hg y Se en sangre entre gallinetas comunes de la laguna de Navaseca y Las Tablas de Daimiel. La diferencia entre zonas es significativa para Hg (p=0.002), Se (p<0.001).

Plaguicidas usados en el entorno de Las Tablas

Además de los contaminantes presentes en Las Tablas, las aves acuáticas de esta zona pueden estar expuestas a plaguicidas que se usan en el entorno agrícola del Parque, ya que dadas las pequeñas di-

mensiones de este espacio natural y el precario estado de las praderas de macrófitos sumergidos (ver secciones anteriores), las aves se alimentan frecuentemente en los campos de cultivo de los alrededores. En estos lugares las aves de Las Tablas pueden resultar principalmente expuestas a los plaguicidas usados en la semilla de siembra (usada

como alimento por patos y otras aves granívoras). Hemos podido constatar que tanto patos como ánsares de Las Tablas se alimentan en los campos de cereal recién sembrados en otoño, pudiendo resultar expuestos a diversos fungicidas frecuentemente utilizados en semilla de cereal en España (LÓPEZ-ANTIA et al., 2016). Por otra parte, los depredadores pueden resultar expuestos a rodenticidas anticoagulantes de segunda generación, ya que son compuestos bioacumulables en el hígado de los animales y biomagnificables de la presa (el roedor) a sus depredadores. No obstante, los estudios realizados hasta el momento indican que en Castilla-La Mancha la prevalencia de animales con residuos de anticoagulantes de segunda generación en su hígado es menor (SÁNCHEZ-BARBUDO et al., 2012) que en otras zonas en las que hay una mayor densidad humana (LÓPEZ-PEREA et al., 2015b) o en las que ha habido tratamientos a gran escala frente a cierta plagas de roedores (SÁNCHEZ-BARBUDO et al., 2012).

Biomarcadores de estrés oxidativo

En las gallinetas de Navaseca se observa una mayor actividad de la GPX y menor de la SOD en comparación con las de Las Tablas de Daimiel. En cuanto a los antioxidantes presentes en plasma, se observa una menor concentración de los tres analizados (retinol, alfa-tocoferol y luteína) en las gallinetas de Navaseca. Sin embargo, las aves de esta laguna han sido las que menor nivel de peroxidación de lípidos (MDA) mostraban en sangre. Estudiando en su conjunto estos resultados, observamos una disminución en antioxidantes exógenos y SOD en las aves de Navaseca, a priori más expuestas a la contaminación. En respuesta a esto las aves de Navaseca presentarían una mayor actividad de GPX y en su conjunto la acción de todos estos antioxidantes (inducción de GPX y consumo de los antioxidantes exógenos) harían que la peroxidación de lípidos en sangre sea menor en Navaseca que en Las Tablas. Estos biomarcado-

res de estrés oxidativo pueden verse alterados tanto por la exposición a los POPs como a los metales pesados, pero también por toxinas frecuentes en humedales, como son las microcistinas (PAŠKOVÁ et al., 2008). Sin embargo el análisis de muestras de Las Tablas tomadas en este proyecto no han mostrado la presencia de microcistinas (ver método en RIVETTI et al., 2015).

Efectos en la función inmune

Entre los marcadores de función inmune estudiados encontramos unos niveles mayores de haptoglobina, una proteína de fase aguda que puede estar elevada durante procesos inflamatorios e infecciosos y que tiene acción antimicrobiana (VERMEULEN et al., 2016). También las aves de Navaseca presentaron una tendencia a tener una mayor actividad bactericida (test de inhibición de crecimiento de *E. coli*), que también podría ser interpretado como una respuesta a un medio con una mayor carga de patógenos y que puede estar relacionado con los mayores niveles de haptoglobina observados. Sin embargo, aunque de forma no significativa, las aves de Navaseca presentaron una ligeramente menor respuesta celular a la PHA (Fig. 11).

Hormonas sexuales

El análisis de esteroides en plasma muestra unos menores niveles de estradiol (y la misma tendencia para la testosterona) en las aves de Navaseca. Además se observa que en las aves de esa zona son menos evidentes las diferencias debidas al sexo en estos niveles hormonales.

Contaminantes en las aves: consideraciones generales

Los resultados obtenidos permiten observar diferencias en la exposición a diversos tipos

de contaminantes entre una zona representativa de la entrada de aguas residuales al humedal y el conjunto del Parque Nacional. Las aves en estos humedales abastecidos con aguas residuales tratadas pueden tener niveles más elevados de contaminantes de origen urbano e industrial (PCBs y ciertos metales pesados) y un mayor consumo de antioxidantes circulantes para afrontar mejor el estrés oxidativo causado por la contaminación biótica y abiótica presente en estos vertidos. Los

mayores niveles en marcadores de inmunidad constitutiva indicarían que existe un nivel de defensa basal mayor en estos humedales contaminados, si bien la posibilidad de generar una buena respuesta inducida puede ser menor. Por último, de forma directa por el efecto de los contaminantes o bien por el peor estado sanitario en su conjunto, las aves en las zonas que reciben las aguas residuales pueden mostrar unos menores niveles de hormonas sexuales.

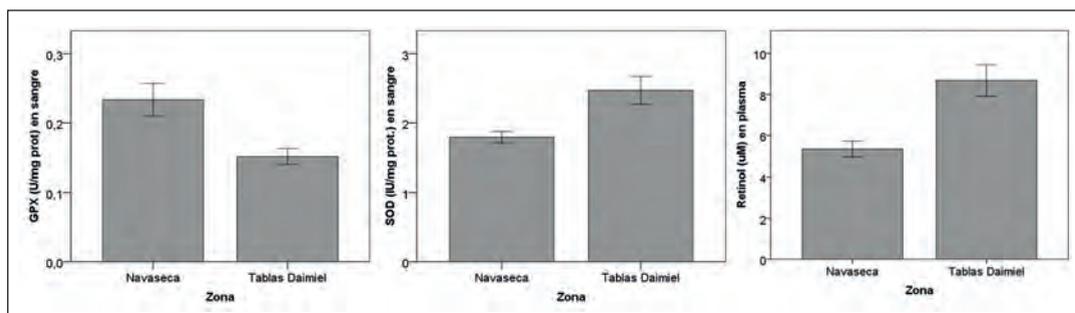


Fig. 10. Diferencias en los niveles de biomarcadores de estrés oxidativo en sangre y plasma entre gallinetas comunes de la laguna de Navaseca (n=89) y Las Tablas de Daimiel (n=36). La diferencia entre zonas es significativa para GPX ($p=0.007$), SOD ($p=0.001$) y retinol ($p<0.001$).

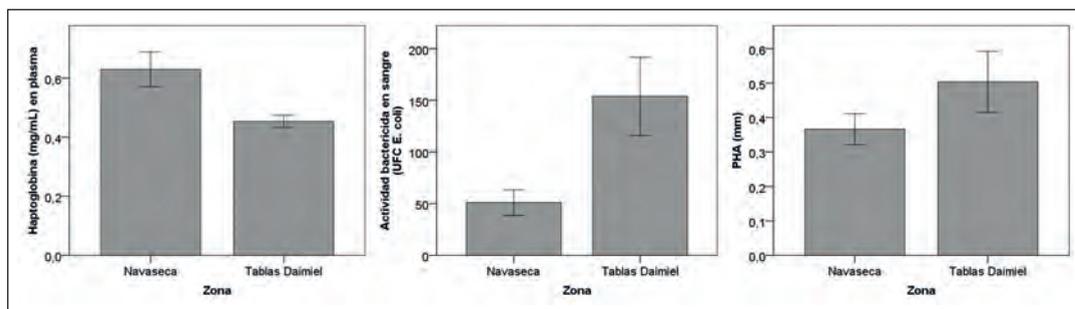


Fig. 11. Diferencias en marcadores de función inmune entre gallinetas comunes de la laguna de Navaseca y Las Tablas de Daimiel. La diferencia entre zonas es significativa para haptoglobina ($p=0.023$).

Gestión de la contaminación química con una perspectiva holística

La contaminación es bien conocida como una de las mayores amenazas para la conservación

de los humedales, incluido el Parque Nacional de Las Tablas de Daimiel (ÁLVAREZ-COBELAS & CIRUJANO 1996; SÁNCHEZ-CARRILLO & ANGELER 2010). Como es habitual en los humedales, las fuentes de contaminación (aguas

residuales y escorrentía de tierras agrícolas) son comunes a múltiples tipos de contaminantes. Esto hace que con frecuencia la «contaminación» vertida en los ecosistemas acuáticos sea una mezcla de sustancias, cada una de ellas con sus capacidades propias para alterar la vida, pero además actuando en conjunto. Si nos centramos en las aguas residuales tratadas procedentes de las EDAR (Fig. 13a) podemos encontrar contaminantes bióticos, como patógenos que capaces de causar infecciones en aves acuáticas que sirven de detonante de mortalidades mayores causadas por botulismo (Fig. 13b). Estos vertidos de aguas residuales tratadas también favorecen la eutrofización y la aparición de condiciones anaerobias en el sedimento idóneas para el crecimiento de *Clostridium botulinum* (Fig. 13c). A esto añadimos que tanto las aguas residuales como la escorrentía de tierras agrícolas (Fig. 13d) generan una sobrecarga de nutrientes (P, N) en el humedal que terminan por alterar el ecosis-

tema afectando a las praderas de macrófitos sumergidos (Fig. 13e), hecho agravado por la presión de especies de peces invasores herbívoros como las carpas (Fig. 13f). Esto termina por reducir la disponibilidad de alimento y refugio para los organismos acuáticos y las aves. Las especies de aves granívoras y herbívoras se ven más obligadas a salir a alimentarse a los campos agrícolas del entorno del PNTD, en los que pueden resultar más expuestos a los plaguicidas usados en los cultivos (Fig. 13g). Por otra parte, la proliferación de peces, en su mayoría de especies exóticas, favorecen el asentamiento de grandes colonias de ardidos, que a su vez suponen una fuente adicional de nutrientes y contaminantes en la zona mediante sus deyecciones (Fig. 13h). El resultado es la transformación de la llanura de inundación fluctuante en un medio más estable dominado por los peces y en el que aves herbívoras como el pato colorado tiene pocas posibilidades de éxito (Fig. 13i).

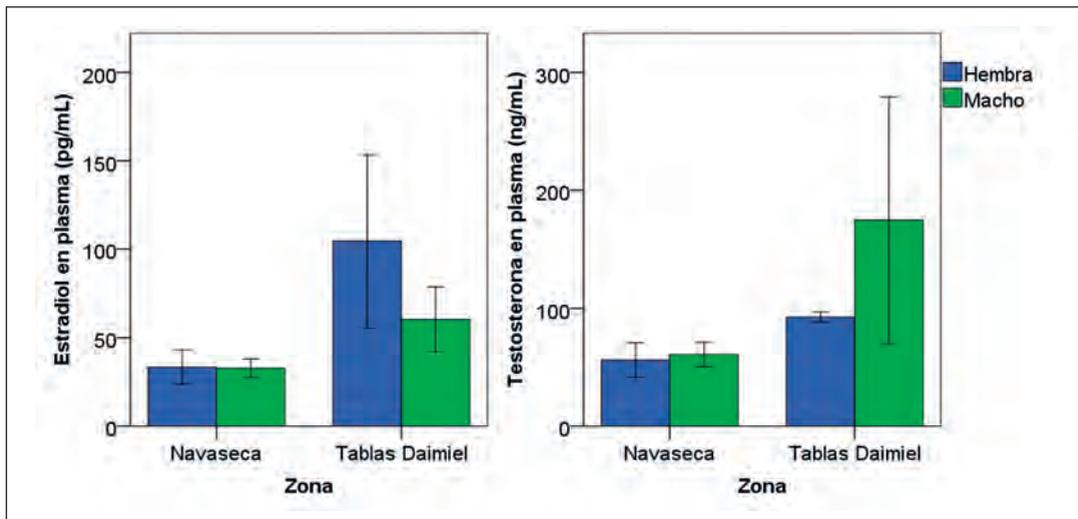


Fig. 12. Diferencias en hormonas sexuales entre gallinetas comunes de la laguna de Navaseca (n=69) y Las Tablas de Daimiel (n=17). La diferencia entre zonas es significativa para estradiol ($p < 0.001$).



Fig. 13. Diferentes factores implicados en la contaminación del Parque Nacional de Las Tablas de Daimiel y que pueden incidir en las poblaciones de aves acuáticas (ver explicación en el texto).

Si vamos analizando cada uno de los puntos tratados anteriormente, veremos que varios de ellos se podrían corregir con un mejor tratamiento de las aguas residuales, evitando cualquier entrada puntual debido a sobrecargas de las depuradoras. Para ello sería necesario construir los tanques de tormentas necesarios para evitar estas sobrecargas y ampliar las instalaciones de las EDAR donde sea necesario. En segundo lugar, zonas tampón como la del tratamiento terciario a la entrada del Cigüela en el Parque o la creación de cinturones de vegetación autóctona alrededor del Parque son también buenas herramientas para reducir la entrada de nutrientes y contaminantes en Las Tablas. No obstante, todo esto sería insuficiente sin una gestión de la sobrecarga de peces invasores en el humedal. La extracción de especies de peces exóticas

y el control de sus poblaciones puede ser una solución parcial a largo plazo, siempre que sea intensa y sostenida, y esto es difícil sin unos recursos económicos suficientes. Una posibilidad para llevar esto a cabo en tiempos de crisis económica sería la creación de un producto gastronómico relacionado con los peces de Las Tablas que permitan la gestión de estas poblaciones de forma autosuficiente. Actualmente esto tendría un difícil encaje con la legislación vigente sobre especies invasoras, que no permite su aprovechamiento económico. De momento, los análisis realizados en el IREC muestran unos bajos niveles de contaminantes orgánicos persistentes y Hg en los peces de Las Tablas (FERNÁNDEZ-TRUJILLO, 2016), por lo que pueden ser aptos para su consumo. Por otra parte, se podrían adoptar medidas para reducir la entrada y favorecer la salida

de los peces en Las Tablas mediante dispositivos de barrera empleados ya en otros humedales del mundo (STUART et al., 2006). El control de la sobreabundancia de carpa es posiblemente uno de los mayores problemas de conservación con los que se encuentra el parque a mediados de la década de 2010 y para empezar a abordarlo con éxito, una vez establecidas las barreras adecuadas en los cauces que vierten al Parque, la solución que marcaría el punto de partida sería la desecación, bien de forma natural en un ciclo de sequía o bien forzando el vaciado a través de la presa de Puente Navarro. En cualquier caso, al igual que el estudio del problema, la solución debe tener un enfoque holístico, para poder revertir la situación de pérdida de biodiversidad en la que se encuentran Las Tablas.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer la colaboración a otros investigadores y técnicos que han colaborado en este proyecto: Rosa C. Rodríguez Martín-Doimeadios, María Jiménez, Jordi Feliu, Ana López-Antia, Manuel E. Ortiz-Santaliestra, Pablo R. Camarero. También agradecemos toda la colaboración y conocimiento aportado por los técnicos y guardas del Parque Nacional de Las Tablas de Daimiel para poder llevar a cabo este trabajo. Este proyecto ha sido financiado por el Organismo Autónomo de Parques Nacionales (755/2012). El contrato de la investigadora Celia Laguna se financió por la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (ref. PEI-2014-005-P). Jhon J. López-Perea disfruta de una beca FPU (AP-2012-04966) del Ministerio de Educación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁLVAREZ-COBELAS, M. y CIRUJANO, S. (1996): Las Tablas de Daimiel. Ecología Acuática y Sociedad. Organismo Autónomo de Parques Nacionales, Madrid. 371 pp.
- ÁLVAREZ-COBELAS, M.; CIRUJANO, S. y SÁNCHEZ-CARRILLO, S. (2001): Hydrological and botanical man-made changes in the Spanish wetland of Las Tablas de Daimiel. *Biological Conservation* 97, 89-98.
- ANGELER, D. G.; SÁNCHEZ-CARRILLO, S.; GARCÍA, G. y ALVAREZ-COBELAS, M. (2001): The influence of *Procambarus clarkii* (Cambaridae, Decapoda) on water quality and sediment characteristics in a Spanish floodplain wetland. *Hydrobiologia* 464: 89-98.
- ANGELER, D. G.; ÁLVAREZ-COBELAS, M.; SÁNCHEZ-CARRILLO, S. y RODRIGO, M.A. (2002): Assessment of exotic fish impacts on water quality and zooplankton in a degraded semi-arid floodplain wetland. *Aquatic Sciences* 64(1): 76-86.
- ANZA, I.; SKARIN, H.; VIDAL, D.; LINDBERG, A.; BÅVERUD, V. y MATEO, R. (2014c): The same clade of *Clostridium botulinum* strains is causing avian botulism in southern and northern Europe. *Anaerobe* 26: 20-23.
- ANZA, I.; VIDAL, D.; LAGUNA, C.; DÍAZ-SÁNCHEZ, S.; SÁNCHEZ, S.; CHICOTE, A.; FLORÍN, M. y MATEO, R. (2014a): Eutrophication and bacterial pathogens as risk factors for avian botulism outbreaks in wetlands receiving effluents from urban wastewater treatment plants. *Applied and Environmental Microbiology* 80: 4251-4259.
- ANZA, I.; VIDAL, D. y MATEO, R. (2014b): New insight in the epidemiology of avian botulism outbreaks: necrophagous flies as vectors of *C. botulinum* type C/D. *Environmental Microbiology Reports* 6: 738-743.
- ANZA, I.; VIDAL, D.; FELIU, J.; CRESPO, E. y MATEO, R. (2016): Differences in the vulnerability of waterbird species to botulism outbreaks in Mediterranean wetlands: an assessment of ecological and physiological factors. *Applied and Environmental Microbiology* 82: 3092-3099.
- BARATA, C. y BAIRD, D. J. (2000): Determining the ecotoxicological mode of action of chemicals from measurements made on individuals: Results from instar-based tests with *Daphnia magna* Straus. *Aquatic Toxicology* 48: 195-209.
- BEKLOGLU, M. y TAN, C. O. (2008): Restoration of a shallow Mediterranean lake by biomanipulation complicated by drought. *Fundamental and Applied Limnology* 171: 105-118.
- BREITBURG, D. L.; BAXTER, J. W.; HATFIELD, C.; HOWARTH, R. W.; JONES, C. G.; LOVETT, G. M. y WIGAND, C. (1998): Understanding effects of multiple stressors: ideas and challenges. En: M. L. Pace & M. Groffman (eds.) *Successes, limitations and frontiers in ecosystem science*. Pp 416-431. Springer Verlag, New York.

- CÉSPEDES, R.; PETROVIC, M.; RALDÚA, D.; SAURA, Ú.; PIÑA, B.; LACORTE, S.; VIANA, P. y BARCELÓ, D. (2004): Integrated procedure for determination of endocrine-disrupting activity in surface waters and sediments by use of the biological technique recombinant yeast assay and chemical analysis by LC-ESI-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 378: 697-708.
- CIRUJANO, S.; CASADO, C.; BERNUÉS, M. y CAMARGO, J.A. (1996): Ecological study of Las Tablas de Daimiel National Park (Ciudad Real, Central Spain): Differences in water physico-chemistry and vegetation between 1974 and 1989. *Biological Conservation* 75: 211-215.
- CIRUJANO, S.; CAMARGO, J.A. y GÓMEZ-CORDOBÉS, C. (2004): Feeding preferences of the red swamp cray-fish *Procambarus clarkii* (Girard) on living macrophytes in a Spanish wetland. *Journal of Freshwater Ecology* 19:219-226.
- CIRUJANO, S. y ALVAREZ COBELAS, M. (Coords.) (2010): Asesoramiento ambiental a la dirección del Parque y diseño de actuaciones para la recuperación ambiental gradual de Las Tablas de Daimiel (2008-2010). Organismo Autónomo Parques Nacionales, Madrid. 323 pp.
- DOCE. (2000): Directiva 2000/6/CE del parlamento Europeo y del Consejo por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas.
- FERNÁNDEZ-TRUJILLO, S. (2016): Monitorización de niveles de metales pesados y compuestos organoclorados en peces de Las Tablas de Daimiel: evaluación para sus consumidores. Trabajo de Fin de Máster. Máster Universitario en Investigación Básica y Aplicada en Recursos Cinegéticos. Universidad de Castilla-La Mancha, Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos, Ciudad Real.
- GONZALEZ-SAGRARIO, M.A.; JEPPESEN, E.; GOMA, J.; SØNDERGAARD, M.; JENSEN, J. P.; LAURIDSEN, T. y LANDKILDEHUS, F. (2005): Does high nitrogen loading prevent clear-water conditions in shallow lakes at moderately high phosphorus concentrations? *Freshwater Biology* 50: 27-41.
- GORGA, M.; PETROVIC, M. y BARCELÓ D. (2013): Multi-residue analytical method for the determination of endocrine disruptors and related compounds in river and waste water using dual column liquid chromatography switching system coupled to mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1295: 57-66.
- GREEN, A.; ALCORLO, P.; PEETERS, E.; MORRIS, E.; ESPINAR, J. L.; BRAVO, M.A.; BUSTAMANTE, J.; DÍAZ-DELGADO, R.; KOELMANS, A.; MATEO, R.; MOOIJ, W.; RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, M.; VAN NES, E. y SCHEFFER, M.: Creating a safe operating space for wetlands in a changing climate. *Frontiers in Ecology and the Environment* 15: 99-107.
- JURADO, A.; VÁZQUEZ-SUÑÉ, E.; CARRERA, J.; LÓPEZ DE ALDA, M.; PUJADES, E. y BARCELÓ, D. (2012): Emerging organic contaminants in groundwater in Spain: a review of sources, recent occurrence and fate in a European context. *Science of Total Environment*. 440:82-94.
- LAGUNA, C.; LÓPEZ-PEREA, J.; VIÑUELA, J.; FLORÍN, M.; FELIU, J.; CHICOTE, A.; CIRUJANO, S. y MATEO, R. (2016): Effects of invasive fish and quality of water and sediment on macrophytes biomass, and its consequences on the waterbird community of a Mediterranean floodplain. *Science of the Total Environment* 551-552: 513-521.
- LLAMAS, M. R. (1988): Conflicts between wetland conservation and groundwater exploitation: Two case histories in Spain. *Environmental Geology and Water Sciences* 11(3): 241-251.
- LOPEZ-ANTIA, A.; ORTIZ-SANTALIESTRA, M. E.; CAMARERO, P. R.; MOUGEOT, F. y MATEO, R. (2015): Assessing the risk of fipronil-treated seed ingestion and associated adverse effects in the red-legged partridge. *Environmental Science and Technology* 49: 13649-13657.
- LOPEZ-ANTIA, A.; FELIU, J.; CAMARERO, P. R.; ORTIZ-SANTALIESTRA, M. E. y MATEO, R. (2016): Risk assessment of pesticide seed treatment for farmland birds using refined field data. *Journal of Applied Ecology* 53: 1373-1381.
- LÓPEZ-PEREA, J. J.; FELIU, J.; CAMARERO, P. R. y MATEO, R. (2015a): Wetlands receiving effluents of wastewater treatment plants: an ecological trap for waterbirds. SETAC Europe 25th Annual Meeting. Barcelona, España.
- LÓPEZ-PEREA, J. J.; CAMARERO, P. R.; MOLINA-LÓPEZ, R. A.; PARPAL, L.; OBÓN, E.; SOLÁ, J. y MATEO, R. (2015b): Interspecific and geographical differences in anticoagulant rodenticide residues of predatory wildlife from the Mediterranean region of Spain. *Science of the Total Environment* 511: 259-267.
- LOPEZ-RODAS, V.; MANEIRO, E.; LANZAROT, M. P.; PERDIGONES, N. y COSTAS, E. (2008): Mass wildlife mortality due to cyanobacteria in the Doñana National Park, Spain. *Veterinary Record* 162(10):317-8.
- MARTÍNEZ-SANTOS, P.; DE STEFANO, L.; LLAMAS, M. R. y MARTÍNEZ-ALFARO, P. E. (2008): Wetland restoration in the Mancha occidental aquifer, Spain: A critical perspective on water, agricultural, and environmental policies. *Restoration Ecology* 16(3): 511-521.

- MORENO, L.; JIMÉNEZ, M. E.; AGUILERA, H.; JIMÉNEZ, P. y DE LA LOSA, A. (2011): The 2009 smouldering peat fire in Las Tablas de Daimiel National Park (Spain). *Fire Technology* 47: 519-538.
- NOGUEROL, T. N.; BORONAT, S.; CASADO, M.; RALDÚA, D.; BARCELÓ, D. y PIÑA, B. (2006): Evaluating the interactions of vertebrate receptors with persistent pollutants and antifouling pesticides using recombinant yeast assays. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 385: 1012-1019.
- OHLENDORF, H. M. y HEINZ, G. H. (2011): Selenium in birds. En W.N. Beyer y J.P. Meador. *Environmental Contaminants in Biota. Interpreting Tissue Concentrations*, CRC Press, Boca Raton FL, pp. 669-701.
- OLIVARES, A.; VAN DROOGE, B. L.; CASADO, M.; PRATS, E.; SERRA, M.; VAN DER VEN, L. T.; KAMSTRA, J. H.; HAMERS, T.; HERMSEN, S.; GRIMALT, J. O. y PIÑA, B. (2013): Developmental effects of aerosols and coal burning particles in zebrafish embryos. *Environmental Pollution* 178: 72-79.
- PASKOVÁ, V.; ADAMOVSÝ, O.; PIKULA, J.; SKOCOVSÁ, B.; BAND'OUCHOVÁ, H.; HORÁKOVÁ, J.; BABICA, P.; MARSÁLEK, B. y HILSCHEVOVÁ, K. (2008): Detoxification and oxidative stress responses along with microcystins accumulation in Japanese quail exposed to cyanobacterial biomass. *Science of Total Environment* 398: 34-47.
- PATIÑO ROPERO, M. J.; RODRÍGUEZ FARIÑAS, N.; MATEO, R.; BERZAS NEVADO, J. J. y RODRÍGUEZ MARTÍN-DOIMEADIOS, R. C. (2016): Mercury species accumulation and trophic transfer in biological systems using the Almadén mining district (Ciudad Real, Spain) as a case of study. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 6074-6081.
- RIVETTI, C.; LÓPEZ PEREA, J. J.; MARTÍNEZ, J.; GORGA, M.; ELJARRAT, E.; MATEO, R.; PINA, B. y BARATA, C. (2015): Environmental impact assessment of chemical pollution in a Spanish natural reserve: a study of water quality. SETAC Europe 25th Annual Meeting. Barcelona, España.
- RIVETTI, C.; LÓPEZ-PEREA, J. J.; LAGUNA, C.; PIÑA, B.; MATEO, R.; ELJARRAT, E.; BARCELÓ, D. y BARATA, C. (2017): Integrated environmental risk assessment of chemical pollution in a Mediterranean floodplain by combining chemical and biological methods. *Science of the Total Environment* 583: 248-256.
- SÁNCHEZ-BARBUDO, I. S.; CAMARERO, P. R. y MATEO, R. (2012): Primary and secondary poisoning by anticoagulant rodenticides of non-target animals in Spain. *Science of the Total Environment* 420: 280-288.
- SÁNCHEZ-CARRILLO, S. y ANGELER, D. G. (eds.) (2010): Ecology of Threatened Semi-Arid Wetlands. Long-Term Research in Las Tablas de Daimiel. Ed. Springer. 292 pp.
- STUART, I. G.; WILLIAMS, A.; MCKENZIE, J. y HOLT, T. (2006): Managing a Migratory Pest Species: A Selective Trap for Common Carp, *North American Journal of Fisheries Management*, 26: 888-893.
- VALLVERDÚ-COLL, N.; ORTIZ-SANTALIESTRA, M. E.; MOUGEOT, F.; VIDAL, D. y MATEO, R. (2015): Sublethal Pb exposure produces season-dependent effects on immune response, oxidative balance and investment in carotenoid-based coloration in red-legged partridges. *Environmental Science and Technology* 49: 3839-3850.
- VERMEULEN, A.; EENS, M.; ZAID, E. y MÜLLER, W. (2016): Baseline innate immunity does not affect the response to an immune challenge in female great tits (*Parus major*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 70: 585-592.
- VIDAL, D.; ANZA, I.; TAGGART, M.A.; PÉREZ-RAMÍREZ, E.; CRESPO, E.; HOFLE, U. y MATEO, R. (2013): Environmental factors influencing the prevalence of *Clostridium botulinum* type C/D mosaic strain in nonpermanent Mediterranean wetlands. *Applied and Environmental Microbiology* 79: 4264-4271.
- VILA-ESCALÉ, M.; VEGAS-VILARRÚBIA, T. y PRAT, N. (2007): Release of polycyclic aromatic compounds into a Mediterranean creek (Catalonia, NE Spain) after a forest fire. *Water Research* 41: 2171-2179.
- WEBER, M. J. y BROWN, M. L. (2009): Effects of common carp on aquatic ecosystems 80 years after «Carp as a dominant»: ecological insights for fisheries management. *Reviews in Fisheries Science* 17: 524-537.