



# UNIVERSIDAD DE MURCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS SOCIOSANITARIAS

TESIS DOCTORAL

EVALUACIÓN DE EFECTOS PROVOCADOS POR LA EXPOSICIÓN A  
PLOMO, CADMIO, COBRE Y SUS MEZCLAS (BINARIAS Y TERNARIA)  
EN MEJILLÓN SILVESTRE (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*)

José Antonio García Navarro

2015



# **TESIS DOCTORAL**

**EVALUACIÓN DE EFECTOS PROVOCADOS POR LA EXPOSICIÓN A  
PLOMO, CADMIO, COBRE Y SUS MEZCLAS (BINARIAS Y TERNARIA)  
EN MEJILLÓN SILVESTRE (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*)**

Memoria que presenta el licenciado en Veterinaria

**D. José Antonio García Navarro**

para optar al grado de Doctor por la Universidad de Murcia

Noviembre de 2015

Director: **Dr. Diego Romero García**

Área de Toxicología

Departamento de Ciencias Sociosanitarias

Universidad de Murcia



## DEDICATORIA

*A ELENA, MI MUJER,  
TODO EMPEZÓ A TENER SENTIDO CUANDO APARECISTE EN MI VIDA,  
SOY SINCERAMENTE TUYO;*

*A MIS HIJOS: ADRIÁN, LUCÍA Y CARMEN,  
CRIATURAS DOLCÍSSIMAS,... DISFRUTAD LA VIDA!*

*A PAPÁ (ADRIÁN, "EL ORIHUELANO"), Y MAMÁ (JOSEFA "LA ESTANQUERA"),  
QUE ORGULLOSO ESTOY DE VOSOTROS*

*A MIS HERMANOS, ADRIÁN Y TRINO,  
SIEMPRE SIGO VUESTROS CONSEJOS, MIS ÍDOLOS*

*A JUAN ROSIQUE (PAPA JUAN) Y JUANA (MAMA NANI),  
GRACIAS POR VUESTRO CARIÑO*

Cuando emprendas tu viaje a Itaca  
pide que el camino sea largo,  
lleno de aventuras, lleno de experiencias.  
No temas a los lestrigones ni a los cíclopes  
ni al colérico Poseidón,  
seres tales jamás hallarás en tu camino,  
si tu pensar es elevado, si selecta  
es la emoción que toca tu espíritu y tu  
cuerpo.  
Ni a los lestrigones ni a los cíclopes  
ni al salvaje Poseidón encontrarás,  
si no los llevas dentro de tu alma,  
si no los yergue tu alma ante ti.

Pide que el camino sea largo.  
Que muchas sean las mañanas de verano  
en que llegues -¡con qué placer y alegría!-  
a puertos nunca vistos antes.  
Detente en los emporios de Fenicia  
y hazte con hermosas mercancías,  
nácar y coral, ámbar y ébano  
y toda suerte de perfumes sensuales,  
cuantos más abundantes perfumes sensuales  
puedas.

Ve a muchas ciudades egipcias  
a aprender, a aprender de sus sabios.

Ten siempre a Itaca en tu mente.  
Llegar allí es tu destino.  
Mas no apresures nunca el viaje.  
Mejor que dure muchos años  
y atracar, viejo ya, en la isla,  
enriquecido de cuanto ganaste en el camino  
sin aguantar a que Itaca te enriquezca.

Itaca te brindó tan hermoso viaje.  
Sin ella no habrías emprendido el camino.  
Pero no tiene ya nada que darte.

Aunque la halles pobre, Itaca no te ha  
engañado.  
Así, sabio como te has vuelto, con tanta  
experiencia,  
entenderás ya qué significan las Itacas.

**C. P. CAVAFIS**

Dos frases me han acompañado en esta etapa de mi vida:

- Elena:... *Hoy, ¿Cuándo vienes?*

-Diego:...*Seguimos...*

## AGRADECIMIENTOS

*Gracias a los que siempre han confiado en mí.*

*El primero tú, Diego, compañero de carrera y amigo, y ahora Director de esta Tesis. Gracias por la ilusión y el aprecio que siempre has mostrado. Este trabajo no existiría de no existir Diego.*

*Gracias "al tío" (Don Manuel Sierras), por decidir mi futuro profesional en la veterinaria*

*Gracias a los socios del Centro de Salud Pública de Orihuela, Vicente, Jose Pedro, Juan Carlos, Paquí y Ester, por la fuerza y el ánimo que siempre me habéis transmitido.*

*Al Instituto Español de Oceanografía (IEO) por su disponibilidad en todo momento para la obtención de los recursos sin los cuales esta tesis no habría sido posible.*

*Al personal del Centro Oceanográfico de Murcia, la Dra. Marina Albentosa, el Dr. Juan Antonio Campillo y la licenciada Carmen González, por sus consejos y apoyo constante. A Francisco Gómez por su amabilidad cada vez que nos ha hecho falta material.*

*Al Servicio de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Murcia y a su personal (Pepe, Toñi y Juana) por sus consejos en el uso de los equipos.*

*Al Servicio de Ionómica del CEBAS-CSIC, especialmente a Francisco San Nicolás, por el procesado de las muestras en el análisis de metales.*

*Al Departamento de Ciencias Sociosanitarias y a la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia por proporcionar la infraestructura necesaria para el desarrollo de este trabajo. A José Antonio González, técnico de laboratorio de este departamento por su ayuda en la preparación de muestras.*





# ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	7
II.1. La contaminación en mares y océanos .....	9
II.2. La contaminación marina por metales.....	14
II.3. Metales pesados.....	17
II.3.1. Plomo.....	18
II.3.2. Cadmio .....	23
II.3.3. Cobre .....	28
II.4. Vigilancia ambiental.....	32
II.4.1. Programas oficiales.....	32
II.4.2. Biomonitorización de la contaminación .....	35
II.4.3. Bioindicadores: características generales .....	36
II.4.4. Mytilus spp. como especie centinela .....	38
II.5. Mejillones: biología, anatomía y fisiología .....	40
II.6. Biomarcadores en la evaluación de efectos biológicos .....	51
II.7. Bioensayos como método de investigación.....	56
II.7.1. Contaminantes en medio marino .....	57
II.7.2. Metales pesados en especies marinas .....	60
II.7.3. Metales pesados en Mytilus spp. ....	69
III. MATERIAL Y MÉTODOS .....	75
III.1. Muestreo y aclimatación .....	77
III.2. Selección de ejemplares .....	79
III.3. Exposición a Pb, Cd, Cu y sus mezclas.....	80
III.4. Comportamiento alimentario.....	81
III.5. Parámetros biométricos.....	82
III.6. Actividad fenoloxidasa.....	83
III.7. Determinación de elementos inorgánicos.....	84
III.8. Análisis estadístico.....	86
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	89
IV.1. Idoneidad del modelo experimental .....	91
IV.2. Comportamiento alimentario .....	101

IV.2.1. Aclaramiento.....	101
IV.2.1.1. Aclaramiento en 30 minutos.....	101
IV.2.1.2. Aclaramiento en 24 horas.....	112
IV.2.2. Materia orgánica consumida.....	119
IV.3. Estudio biométrico.....	128
IV.3.1. Efectos sobre el peso de los tejidos.....	133
IV.3.1.1. Efecto directo.....	133
IV.3.1.2. Efecto interactivo.....	136
IV.3.2. Efectos sobre los índices de cada tejido (glándula, branquia y resto).....	139
IV.3.2.1. Efecto directo.....	139
IV.3.2.2. Efecto interactivo.....	140
IV.3.3. Efectos sobre los índices de condición total.....	141
IV.3.3.1. Efecto directo.....	141
IV.3.3.2. Efecto interactivo.....	144
IV.4. Actividad fenoloxidasa.....	144
IV.5. Acumulación y distribución tisular de Pb, Cd y Cu.....	151
IV.5.1. Grupos control.....	151
IV.5.2. Pb en grupos de exposición.....	155
IV.5.2.1. Total de tejidos blandos.....	155
IV.5.2.2. Glándula digestiva, branquia y resto de tejidos.....	157
IV.5.3. Cd en grupos de exposición.....	164
IV.5.3.1. Total de tejidos blandos.....	164
IV.5.3.2. Glándula digestiva, branquia y resto de tejidos.....	167
IV.5.4. Cu en grupos de exposición.....	170
IV.5.4.1. Total de tejidos blandos.....	170
IV.5.4.2. Glándula digestiva, branquia y resto de tejidos.....	172
IV.6. Efectos sobre la concentración y distribución de elementos traza mayoritarios (ETM) y minoritarios (ETm).....	177
IV.6.1. Concentración y distribución de ETM.....	178
IV.6.1.1. Grupos control.....	178
IV.6.1.2. Grupos de exposición.....	188
IV.6.2. Concentración y distribución de ETm.....	201
IV.6.2.1. Grupos control.....	201
IV.6.2.2. Grupos de exposición.....	212
IV.7. Metales pesados, ETM y ETm en heces.....	233

V. CONCLUSIONES .....	241
BIBLIOGRAFÍA.....	245
ANEXO .....	323
RESUMEN / SUMMARY .....	399



## ÍNDICE DE TABLAS

### Revisión Bibliográfica

<b>Tabla 1.</b> Estudios experimentales sobre efectos de los metales pesados en moluscos bivalvos. ....	63
<b>Tabla 2.</b> Estudios experimentales sobre mezclas de metales en diferentes especies marinas. ....	66
<b>Tabla 3.</b> Estudios experimentales sobre efectos de los metales pesados en mejillones de agua salobre. ..	69
<b>Tabla 4.</b> Estudios experimentales sobre efectos de los metales pesados en moluscos bivalvos del género Perna. ....	70
<b>Tabla 5.</b> Estudios experimentales sobre efectos de los metales pesados en la especie <i>Mytilus edulis</i> . ....	71
<b>Tabla 6.</b> Estudios experimentales sobre efectos de los metales pesados en la especie <i>Mytilus galloprovincialis</i> . ....	72
<b>Tabla 7.</b> Estudios experimentales sobre efectos de los metales pesados en otras especies de la familia Mytilidae. ....	73

### Material y Métodos

<b>Tabla 8.</b> Composición del medio Walne y vitaminas utilizadas para la alimentación del fitoplancton ( <i>Isochrysis galbana</i> , clon t-ISO). ....	78
<b>Tabla 9.</b> Datos biométricos de la concha y volumen de los individuos utilizados en las dos fases experimentales (L, H, W, L/H, L/W y H/W en mm; Volumen en ml). ....	80
<b>Tabla 10.</b> Concentración de los metales pesados utilizados en.....	80
<b>Tabla 11.</b> Condiciones ambientales para cada fase experimental. ....	81
<b>Tabla 12.</b> Porcentaje de humedad en tejidos de mejillón. ....	83
<b>Tabla 13.</b> Longitudes de onda (nm) para cada elemento objeto de estudio. ....	85

### Resultados y Discusión

<b>Tabla 14.</b> Bioensayos sobre <i>M. galloprovincialis</i> : concentraciones de metales y tiempos de exposición. (*)= larvas; (**) = mg L <sup>-1</sup> ; (***) = μM; (****) = nM; resto = μg L <sup>-1</sup> . ....	95
<b>Tabla 15.</b> Bioensayos sobre otras especies de mejillones ( <i>Mytilus</i> spp): concentraciones de metales y tiempos de exposición. (*)=larvas; (**) = meses; (***) = mg L <sup>-1</sup> ; (****) = μM; resto = μg L <sup>-1</sup> y días.....	96
<b>Tabla 16.</b> Bioensayos sobre otras especies de mejillones ( <i>Perna</i> spp): concentraciones de metales y tiempos de exposición. (*) = mg L <sup>-1</sup> ; (**) = ng L <sup>-1</sup> ; (***) = μmol L <sup>-1</sup> ; resto = μg L <sup>-1</sup> . ....	97
<b>Tabla 17.</b> Porcentaje de consumo de alimento en tiempo controlado (30 minutos), para cada día y por cada tratamiento. FE1=fase experimental 1; FE2=fase experimental 2; NE=datos no evaluados; p= comparación de cada tratamiento con su grupo control (U de Mann-Whitney). ....	103

<b>Tabla 18.</b> Datos relativizados del porcentaje de consumo de alimento en tiempo controlado (30 minutos), para cada día y por cada tratamiento. FE1=fase experimental 1; FE2=fase experimental 2; NE=datos no evaluados.....	108
<b>Tabla 19.</b> Evaluación del efecto interactivo (ADT=aditivo, SNG=sinérgico; ATG=antagónico) sobre el consumo de alimento en tiempo controlado (30 minutos); $p=t$ -Student; <b>A</b> =por días, <b>B</b> =media de los 7 días.....	111
<b>Tabla 20.</b> Porcentaje de consumo de alimento en 24 horas, para cada día y por cada tratamiento. FE1=fase experimental 1; FE2=fase experimental 2; NE=datos no evaluados; $p$ =comparación de cada tratamiento con su grupo control ( $t$ -Student).....	113
<b>Tabla 21.</b> Datos relativizados del porcentaje de consumo de alimento en 24 horas, para cada día y por cada tratamiento. FE1=fase experimental 1; FE2=fase experimental 2; NE=datos no evaluados.....	115
<b>Tabla 22.</b> Evaluación del efecto interactivo (ADT=aditivo, SNG=sinérgico; ATG=antagónico) sobre el consumo de alimento en 24 horas; $p=t$ -Student; <b>A</b> =por días, <b>B</b> =media de los 7 días.....	118
<b>Tabla 23.</b> Ingesta de materia orgánica (mg) por individuo y día, para cada tratamiento. F1=fase experimental 1; F2=fase Experimental 2; NE=datos no evaluados; $p$ =comparación de cada tratamiento con su control ( $t$ - Student).....	121
<b>Tabla 24.</b> Materia orgánica total (mg) consumida por individuo para cada tratamiento. FE1=fase Experimental 1; FE2=fase experimental 2; $p$ =comparación de cada tratamiento con su control ( $t$ -Student o *U de Mann Whitney).....	122
<b>Tabla 25.</b> Datos relativizados de la ingesta media de materia orgánica por individuo y día, para cada tratamiento. F1=fase experimental 1; F2=fase Experimental 2; NE=datos no evaluados. ....	123
<b>Tabla 26.</b> Datos relativizados del total de materia orgánica consumida por individuo, para cada tratamiento.....	124
<b>Tabla 27.</b> Evaluación del efecto interactivo (ADT=aditivo, SNG=sinérgico; ATG=antagónico) sobre el consumo de alimento; $p= t$ -Student; <b>A</b> =por días, <b>B</b> = media de los 7 días.....	126
<b>Tabla 28.</b> Evaluación de efecto interactivo (aditivo, sinérgico o antagónico) sobre el consumo total de alimento (datos relativizados con respecto al grupo control), $p=t$ -Student o *U-Mann Whitney.....	127
<b>Tabla 29.</b> Índices de condición utilizados en estudios sobre efectos de los contaminantes en moluscos bivalvos. TB=tejidos blandos; GD=glándula digestiva; B=branquia; GO=gónada; RE=tejidos blandos (excluido GD, B y GO); VV=valvas; L=longitud; A=anchura; H=altura; AS=área de superficie; V=volumen.....	129
<b>Tabla 30.</b> Medidas biométricas de los mejillones utilizados en la fase experimental 1, para cada tratamiento y una vez finalizado el tiempo de exposición. Pesos (g): V=valvas, GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. Índices biológicos: IHS=hepatosomático, IB=branquial, IR=resto de tejidos blandos, IC=condición, ICval=condición con valvas, ICvol=condición volumétrico. $p$ =comparación de cada tratamiento con su control ( $t$ -Student o *U de Mann-Whitney). ..	130
<b>Tabla 31.</b> Medidas biométricas de los mejillones utilizados en la fase experimental 2, para cada tratamiento y una vez finalizado el tiempo de exposición. Pesos (g): V=valvas, GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. Índices biológicos: IHS=hepatosomático, IB=branquial, IR=resto de tejidos blandos, IC=condición, ICval=condición con valvas, ICvol=condición volumétrico. $p$ =comparación de cada tratamiento con su control ( $t$ -Student o *U de Mann-Whitney). ..	131

<b>Tabla 32.</b> Medidas biométricas de los mejillones para cada tratamiento, relativizadas con respecto a su control. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos, IHS=índice hepatosomático, IB=índice branquial, IR=índice de resto de tejidos blandos, IC=índice de condición, ICval=índice de condición con valvas, ICvol=índice de condición volumétrico.....	135
<b>Tabla 33.</b> Evaluación de efecto interactivo (ADT=aditivo, SNG=sinérgico; ATG=antagónico) sobre las medidas biométricas. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos, IHS=índice hepatosomático, IB=índice branquial, IR= índice de resto de tejidos blandos, ICval=índice de condición con valvas, ICvol=índice de condición volumétrico, IC=índice de condición. $p$ =t-Student o *U de Mann Whitney.....	138
<b>Tabla 34. A.</b> Actividad fenoloxidasa (UA mg proteína <sup>-1</sup> ) en hemolinfa de los mejillones para cada tratamiento. $p$ =comparación de cada tratamiento con su grupo control (U de Mann-Whitney). <b>B.</b> Datos relativizados de la actividad fenoloxidasa para cada tratamiento. ....	148
<b>Tabla 35.</b> Actividad fenoloxidasa en bioensayos y en estudios de monitorización sobre diferentes especies marinas.*=estudios de monitorización; resto=bioensayos; (**)=horas; resto de tiempo=días; (***)=situaciones de stress.....	149
<b>Tabla 36.</b> Evaluación del efecto interactivo (ADT=aditivo, SNG=sinérgico; ATG=antagónico) sobre la actividad fenoloxidasa. $p$ =ANOVA. El efecto ANT (Pb+Cu) es considerado sobre la base de inhibición de la actividad PO. ....	150
<b>Tabla 37.</b> Concentración de Pb, Cd y Cu (mg kg <sup>-1</sup> ) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos, $p$ =comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney). ....	152
<b>Tabla 38.</b> Concentración de Pb, Cd y Cu (mg kg <sup>-1</sup> ) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos, $p$ =comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney). ....	153
<b>Tabla 39.</b> Concentración de Pb, Cd y Cu (mg kg <sup>-1</sup> , peso seco) descritos en estudios de monitorización en <i>Mytilus galloprovincialis</i> . (*)=mediana; NA=no analizado; resto de datos=medias y rangos. ....	154
<b>Tabla 40.</b> Concentración de Pb (mg Kg <sup>-1</sup> , peso seco) descritos en tejidos blandos de diferentes especies de moluscos de la familia Mytilidae (bioensayos). GD=glándula digestiva, BR=branquia; (*)=peso húmedo. ....	156
<b>Tabla 41.</b> Orden de mayor a menor concentración de Pb, Cd y Cu en los diferentes tejidos analizados (GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos) para los distintos tratamientos. $p$ =comparación de concentración entre GD y BR (t-Student o * U Mann-Whitney). ....	158
<b>Tabla 42.</b> Porcentaje de Pb, Cd y Cu en cada tejido tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, $p$ =comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney). ....	161
<b>Tabla 43.</b> Porcentaje de Pb, Cd y Cu en cada tejido tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, $p$ =comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney). ....	162
<b>Tabla 44.</b> Concentración de Cd (mg Kg <sup>-1</sup> , peso seco) descritos en tejidos blandos de diferentes especies de moluscos de la familia Mytilidae (bioensayos). GD= glándula digestiva, BR=branquia, MN=manto, resto de datos=total de tejidos blandos; (*)=peso húmedo, NA=no analizado.....	165

<b>Tabla 45.</b> Concentración de Cu (mg Kg <sup>-1</sup> , peso seco) descritos en tejidos blandos de diferentes especies de moluscos bivalvos (bioensayos). GD=glándula digestiva, BR=branquia, MN=manto, resto de datos=total de tejidos blandos. ....	171
<b>Tabla 46.</b> Concentración de elementos traza mayoritarios (mg Kg <sup>-1</sup> , peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. <i>p</i> =comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney).....	179
<b>Tabla 47.</b> Concentración de elementos traza mayoritarios (mg Kg <sup>-1</sup> , peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. <i>p</i> =comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney).....	181
<b>Tabla 48.</b> Concentración de elementos traza mayoritarios (g 100 g <sup>-1</sup> , peso seco) descritos en tejidos blandos de <i>Mytilus galloprovincialis</i> en estudios de monitorización. NA=no analizado. ....	183
<b>Tabla 49.</b> Porcentaje de elementos traza mayoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. <i>p</i> =comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney). ....	185
<b>Tabla 50.</b> Porcentaje de elementos traza mayoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. <i>p</i> =comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student). ....	186
<b>Tabla 51.</b> Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg <sup>-1</sup> , peso húmedo) en tejidos de mejillón. Grupo control, fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; NE= datos no estimados. ....	202
<b>Tabla 52.</b> Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg <sup>-1</sup> peso húmedo) en tejidos de mejillón. Grupo control, fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados.....	203
<b>Tabla 53.</b> Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg <sup>-1</sup> , peso seco) descritos en tejidos blandos de <i>Mytilus galloprovincialis</i> . (*)=ng g <sup>-1</sup> . ....	206
<b>Tabla 54.</b> Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido. Grupo control, fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.....	209
<b>Tabla 55.</b> Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido. Grupo control, fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.....	210
<b>Tabla 56.</b> Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg <sup>-1</sup> , peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Pb. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. ND=datos no detectados; NE= datos no estimados; <i>p</i> =comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney).....	213
<b>Tabla 57.</b> Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg <sup>-1</sup> , peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; <i>p</i> =comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney).....	214
<b>Tabla 58.</b> Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg <sup>-1</sup> , peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Pb+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados <i>p</i> =comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney).....	215



<b>Tabla 59.</b> Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg <sup>-1</sup> , peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Cd. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados <i>p</i> =comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney).....	216
<b>Tabla 60.</b> Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg <sup>-1</sup> , peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Cd+Pb. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; <i>p</i> =comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney).....	217
<b>Tabla 61.</b> Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg <sup>-1</sup> , peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Cd+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; <i>p</i> =comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney).....	218
<b>Tabla 62.</b> Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg <sup>-1</sup> , peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Cd+Pb+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; <i>p</i> =comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o *U de Mann-Whitney).....	219
<b>Tabla 63.</b> Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Pb. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. <i>p</i> =comparación con su grupo control (t-Student).....	220
<b>Tabla 64.</b> Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. <i>p</i> =comparación con su grupo control (t-Student).....	221
<b>Tabla 65.</b> Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Pb+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. <i>p</i> =comparación con su grupo control (t-Student).....	222
<b>Tabla 66.</b> Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Cd. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. <i>p</i> =comparación con su grupo control (t-Student).....	223
<b>Tabla 67.</b> Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Cd+Pb. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. <i>p</i> =comparación con su grupo control (t-Student).....	224
<b>Tabla 68.</b> Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Cd+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. <i>p</i> =comparación con su grupo control (t-Student).....	225
<b>Tabla 69.</b> Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Cd+Pb+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. <i>p</i> =comparación con su grupo control (t-Student).....	226
<b>Tabla 70.</b> Orden de mayor a menor concentración de elementos traza minoritarios en los diferentes tejidos analizados (GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE= resto), para los distintos tratamientos.....	227
<b>Tabla 71.</b> Concentración de Pb, Cd y Cu (mg kg <sup>-1</sup> ) en heces de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. FE1=fase experimental 1, FE2=fase experimental 2. <i>p</i> = comparación de cada tratamiento con su grupo control (U de Mann-Whitney). .....	235

**Tabla 72.** Concentración de elementos traza mayoritarios ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) en heces de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. FE1=fase experimental 1, FE2= fase experimental 2.  $p$ = comparación de cada tratamiento con su grupo control (U de Mann Whitney).....237

**Tabla 73.** Concentración de elementos traza minoritarios ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) en heces de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. FE1=fase experimental 1, FE2=fase experimental 2; ND=datos no detectados;  $p$ = comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U Mann Whitney).  
.....238

## ÍNDICE DE FIGURAS

### Revisión bibliográfica

**Figura 1.** Disección de mejillón silvestre (*Mytilus galloprovincialis*). Aspectos macroscópicos de su anatomía. **A**=aspecto general, bisco, glándula digestiva (GD), bolsa de Polichinela (BP) y músculo aductor posterior (MAP); **B**=detalle de manto (MN), branquia (BR) y gónada (GO); **C**=pie y músculo retractor del pie (MRP); **D**=boca y palpos labiales (PL). ..... 49

### Material y Métodos

**Figura 2.** Curva patrón para la equivalencia ente absorbancia y nº de células. .... 79

### Resultados y Discusión

**Figura 3.** Tanques control (**a**) y expuestos a Pb (**b**), Cu (**c**) y Pb+Cu (**d**) tras 24 horas de tratamiento. Aspecto transparente del agua en todos los tanques. .... 99

**Figura 4.** Tasa de aclaramiento a los 30 minutos (TA<sub>30</sub>) tras la administración de fitoplancton, para cada día de exposición. Fase experimental 1. Cada punto es la media de los tres tanques. .... 105

**Figura 5.** Tasa de aclaramiento a los 30 minutos (TA<sub>30</sub>) tras la administración de fitoplancton, para cada día de exposición. Fase experimental 2. Cada punto es la media de los tres tanques. .... 105

**Figura 6.** Valor de la TA<sub>30</sub> relativizado con respecto a los grupos control, para cada día de exposición. Comparación entre grupos de exposición. .... 109

**Figura 7.** Valor medio de la TA<sub>30</sub> para los 7 días de exposición (datos relativizados con respecto a los grupos control). Comparación entre grupos de exposición. Las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (test Dunn). .... 109

**Figura 8.** Tasa de aclaramiento cada 24 horas (TA<sub>24</sub>). Fase experimental 1. Cada punto es la media de los tres tanques. .... 114

**Figura 9.** Tasa de aclaramiento cada 24 horas (TA<sub>24</sub>). Fase experimental 2. Cada punto es la media de los tres tanques. .... 114

**Figura 10.** Valor de la TA<sub>24</sub> relativizado con respecto a los grupos control, para cada día de exposición. Comparación entre grupos de exposición. .... 116

**Figura 11.** Valor medio de la TA<sub>24</sub> para los 7 días de exposición (datos relativizados con respecto a los grupos control). Comparación entre grupos de exposición. Las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (test Dunn). .... 117

**Figura 12.** Ingesta de materia orgánica (mg) por individuo y día para cada tratamiento. Fase experimental 1. Cada día es la media de los tres tanques. .... 122

**Figura 13.** Ingesta de materia orgánica (mg) por individuo y día para cada tratamiento. Fase experimental 2. Cada día es la media de los tres tanques. .... 122

**Figura 14.** Ingesta de materia orgánica relativizado con respecto a los grupos control, para cada día de exposición. Comparación entre grupos de exposición. .... 124

<b>Figura 15.</b> Valor medio de la ingestión de materia orgánica para los 7 días de exposición (datos relativizados con respecto a los grupos control). Comparación entre grupos de exposición. Las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (test de Dunn). .....	125
<b>Figura 16.</b> Estado reproductor de los mejillones durante las fases experimentales. Aspecto de la gónada posterior al desove. ....	132
<b>Figura 17.</b> Pesos de los tejidos relativizados con respecto a los grupos control. Comparación entre grupos de exposición. Para cada tejido, las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (ANOVA). GD=glándula digestiva, BR=branquias, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. ....	134
<b>Figura 18.</b> Índices de condición tisulares relativizados con respecto a los grupos control. Comparación entre grupos de exposición. Para cada índice, las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (Kruskal-Wallis). IHS=índice hepatosomático, IB=índice branquial, IR=índice de resto de tejidos blandos. ....	140
<b>Figura 19.</b> Índices de condición total relativizados con respecto a los grupos control. Comparación entre grupos de exposición. Para cada índice, las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (ANOVA). ICval=índice de condición de las valvas, ICvol=índice de condición volumétrico, IC=índice de condición. ....	143
<b>Figura 20.</b> Actividad fenoloxidasa relativizada con respecto a los grupos control. Comparación entre grupos de exposición. Las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (Kruskal Wallis). ....	150
<b>Figura 21.</b> Concentración de Pb, Cd y Cu ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón (grupos control). GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. ....	154
<b>Figura 22.</b> Concentración de Pb ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para los grupos de exposición a base de Pb. Para cada tejido, las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos (Test de Dunn). ....	155
<b>Figura 23.</b> Porcentaje de Pb en los diferentes compartimentos analizados para los grupos de exposición a base de Pb. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	163
<b>Figura 24.</b> Concentración de Cd ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para los grupos de exposición a base de Cd. Para cada tejido, las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos (Test de Dunn). ....	164
<b>Figura 25.</b> Porcentaje de Cd en los diferentes compartimentos analizados para los grupos de exposición a base de Cd. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	169
<b>Figura 26.</b> Concentración de Cu ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. Para cada tejido, las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos (Test de Dunn). ....	173
<b>Figura 27.</b> Porcentaje de Cu en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	176

<b>Figura 28.</b> Comparación de la distribución tisular de Cu entre <i>Anodonta anatina</i> (Nugroho y Frank, 2011) y <i>Mytilus galloprovincialis</i> (nuestro estudio). GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	176
<b>Figura 29.</b> Concentración de elementos traza mayoritarios (mg Kg <sup>-1</sup> , peso fresco) en el total de tejidos blandos de mejillón (grupos control). FE1=fase experimental, FE2=fase experimental 2. ....	178
<b>Figura 30.</b> Concentración de elementos traza mayoritarios (mg Kg <sup>-1</sup> , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón (grupos control). Los subíndices hacen referencia a cada fase experimental (1 y 2). GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	187
<b>Figura 31.</b> Porcentaje de elementos traza mayoritarios en los diferentes compartimentos analizados de los grupos control. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	187
<b>Figura 32.</b> Concentración de Ca (mg Kg <sup>-1</sup> , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. ....	190
<b>Figura 33.</b> Porcentaje de Ca en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	190
<b>Figura 34.</b> Concentración de Mg (mg Kg <sup>-1</sup> , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. ....	192
<b>Figura 35.</b> Porcentaje de Mg en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	192
<b>Figura 36.</b> Concentración de Na y K (mg Kg <sup>-1</sup> , peso fresco) en el total de tejidos blandos de mejillón, para todos los grupos de exposición. ....	194
<b>Figura 37.</b> Concentración de Na (mg Kg <sup>-1</sup> , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	195
<b>Figura 38.</b> Concentración de K (mg Kg <sup>-1</sup> , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	195
<b>Figura 39.</b> Porcentaje de Na en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	196
<b>Figura 40.</b> Porcentaje de K en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	196
<b>Figura 41.</b> Concentración de P (mg Kg <sup>-1</sup> , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. ....	198
<b>Figura 42.</b> Concentración de S (mg Kg <sup>-1</sup> , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. ....	199
<b>Figura 43.</b> Porcentaje de P en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	199
<b>Figura 44.</b> Porcentaje de S en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....	200

- Figura 45.** Porcentaje de los elementos traza minoritarios en el grupo control de la fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....211
- Figura 46.** Porcentaje de los elementos traza minoritarios en el grupo control de la fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....211
- Figura 47.** Porcentaje de B en los diferentes compartimentos analizados. Grupo control y grupo expuesto a Cd+Pb+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....228
- Figura 48.** Porcentaje de Cr en los diferentes compartimentos analizados para los grupos de exposición a base de Cd. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. ....229

# I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

---





La contaminación ambiental representa una de las grandes preocupaciones de nuestra sociedad, siendo objeto de numerosos estudios en las últimas décadas, tanto experimentales como de campo. Para ello, diferentes escenarios se analizan de forma directa (biomonitorización) o se reproducen en el laboratorio (bioensayos) con el objetivo de estudiar las formas de evolución de los contaminantes en la biota, el tipo efectos (directos, indirectos, a corto, medio o largo plazo), las repercusiones sobre la salud de los individuos a múltiples niveles (molecular, celular, bioquímico, reproductor, etc.), así como las consecuencias sobre los ecosistemas.

Como ecosistemas, los océanos desempeñan un papel esencial en el mantenimiento de la vida en nuestro planeta. Mares y océanos representan el 70% de la superficie terrestre, abarcando millones de km<sup>2</sup>. En ellos se desarrolla una gran actividad y a lo largo de los años, han evolucionado numerosas especies animales y vegetales. Así pues, los ecosistemas marinos sustentan numerosos recursos biológicos, influyen en el régimen climático del planeta y son fuente de riqueza. Sin embargo los ecosistemas marinos están fuertemente amenazados. La contaminación, junto con el calentamiento global, la sobreexplotación de los recursos, la introducción de especies exóticas invasoras, la pesca ilegal y las prácticas pesqueras destructivas, es una buena prueba de las consecuencias de numerosas actividades antropogénicas. Continuamente, numerosos compuestos químicos llegan al mar provenientes de múltiples actividades humanas (agrícola, industrial, minera) (Khangarot y Rathore, 2003; Banks *et al.*, 2005). El gran crecimiento demográfico en las zonas urbanas, junto a un exacerbado desarrollo industrial y al uso de unas prácticas agrícolas cada vez más “agresivas”, provocan que ciertos productos químicos (plaguicidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, compuestos policlorados y metales pesados) sean diariamente vertidos a los mares (Araúz *et al.*, 2009), lo cual puede ocasionar graves problemas en la salud de los ecosistemas y de las poblaciones que se nutren de los mismos.

En las últimas décadas ha aumentado la preocupación social por la contaminación ocasionada por metales pesados (Chandran *et al.*, 2005; Jing *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2009a; Li *et al.*, 2012). Estos metales se encuentran ampliamente distribuidos en todos los ecosistemas, forman parte de los elementos constituyentes del agua de mar y se originan por los procesos de vulcanización, hidrotermalismo, erosión de rocas u otras fuentes de tipo antropogénicas que durante el ciclo biogeoquímico se interrelacionan con el

ambiente (Gutiérrez-Hamer *et al.*, 1999). Si bien la mayoría de los componentes orgánicos pueden ser descompuestos mediante ciertas actividades biológicas, los compuestos inorgánicos y en particular los metales pesados son depositados continuamente en el lecho marino. Al ser química y biológicamente poco o nada degradables, aumenta la posibilidad de ser incorporados y acumulados por los organismos marinos, generar daños a nivel molecular, celular y tisular en la biota marina (por su alta capacidad para combinarse con biomoléculas) y causar abruptas modificaciones en los ecosistemas, poniendo en peligro cualquier forma de vida y el equilibrio de los mismos, aun siendo su presencia a bajas concentraciones.

Plomo y cadmio son considerados dos de los metales pesados más tóxicos y peligrosos (Díaz Mayans *et al.*, 1993). El Pb está ampliamente distribuido en la naturaleza, penetrando en ecosistemas marinos a través de la deposición atmosférica, aunque en los últimos años han disminuido las emisiones en países desarrollados debido al uso de gasolinas no plomadas y a la eliminación casi total de las soldaduras de Pb en los envases metálicos (EEA, 1999). El Cd, si bien es poco abundante en la naturaleza, sus emisiones al medio acuático ha aumentado en los últimos años, debido a su mayor producción comercial y al aumento de sus aplicaciones (EEA, 1999). Ambos elementos pueden ocasionar numerosos efectos adversos, así como alterar los niveles de otros elementos, ya que intervienen en procesos de competición de los sitios activos de moléculas que poseen importancia biológica.

Si bien muchos metales pesados son tóxicos para los organismos acuáticos, los metales esenciales pueden volverse tóxicos cuando sobrepasan cierto umbral de acumulación. El cobre es un micronutriente esencial implicado en el metabolismo de carbohidratos y en el funcionamiento de enzimas (entre otras funciones). Su entrada en el medio marino por fuentes antropogénicas sigue siendo elevada (EEA, 1999), y altas concentraciones de este elemento pueden resultar tóxicas (White y Rainbow, 1985; Viarengo, 1989; Arnold, *et al.*, 2010; Li, *et al.*, 2012).

El estudio de los metales pesados en la biota marina lleva realizándose desde hace décadas. Así, en los años 60 y tras ponerse de relieve el grave problema que estos elementos podían suponer para la salud humana, se decidió poner en marcha un programa internacional de lucha contra la contaminación del litoral, patrocinado y asesorado por la

Organización Mundial de la Salud. En base a esto, los programas de vigilancia ambiental están considerados como una de las mejores herramientas para conocer y regular los niveles de contaminantes químicos en el medio marino. En ellos se utiliza un gran número de organismos "centinela" y "bioindicadores", para detectar la variación temporal y espacial de los contaminantes químicos y contribuir así al conocimiento de las tendencias de evolución de la contaminación marina (Carro *et al.*, 2004). Diferentes organismos, tanto animales (mejillones, almejas, ostras, caracoles, peces, etc.) como vegetales (algas y pastos marinos), han sido propuestos como bioindicadores, y entre ellos se han utilizado a menudo los moluscos bivalvos. En particular, los mejillones (Familia Mytilidae) son los organismos marinos que más se utilizan (Adami *et al.*, 2002; St-Jean *et al.*, 2003). Sin duda, su fácil muestreo, el sedentarismo, la resistencia al estrés y el estilo de vida sésil avalan este hecho (Tenabe, 2000; O'Connor, 2002; Ozlem y Gorkem, 2004; Cardellicchio *et al.*, 2008). Se trata también de especies abundantes y ampliamente distribuidas, de las cuales se dispone información en otras zonas geográficas, lo cual permite realizar comparaciones y fijar tasas de contaminación con relación a otras zonas del mundo (Ibáñez, 1986). Finalmente, los mejillones no sólo sirven como bioindicadores, ya que también sirven para estudiar problemas relacionados con la salud pública, pues cultivados o silvestres, se consumen habitualmente en amplias zonas del planeta.

En estudios de campo, la bioacumulación y la respuesta biológica de los organismos bioindicadores ofrecen una importante información que refleja de forma integrada el impacto de la contaminación ambiental. El comportamiento y respuesta de estos organismos indicadores también se reproduce en el laboratorio en condiciones experimentales controladas, con el objetivo de ser valorados para la gestión del medio marino a través de los programas de biomonitorización. Pero lo habitual en estos estudios experimentales es la evaluación de la respuesta con compuestos o elementos químicos de forma individual. De hecho, la mayoría de las normas ambientales que legislan la protección de los ecosistemas marinos están basadas en la regulación individual de sustancias químicas (Decisión nº 2455/2001/CE del Parlamento Europeo y del Consejo; Directiva 2006/11/CE del Parlamento Europeo y del Consejo; RD 60/2011). Sin embargo la realidad es otra, ya que la forma de presentación de los compuestos químicos es en forma de mezclas, a menudo complejas. En este sentido, los estudios científicos se relacionan con las presentaciones individuales, y pocos aunque en continuo aumento, son los dedicados a las mezclas, con las que se producen múltiples interacciones entre los

constituyentes (aditiva, sinérgica y antagónica) (Gaete y Chávez 2008; Dondero *et al.*, 2011).

Es cierto que el número de posibles combinaciones de productos químicos es innumerable, y que las pruebas *in vivo* de estas mezclas es inalcanzable desde un punto de vista ético, económico o pragmático (Cassee *et al.*, 1988). No obstante es necesaria la combinación de estudios científicos que puedan ayudar a prevenir y actuar ante desastres ecológicos (derrames de materiales peligrosos), ofrecer respuestas que ayuden a reducir los daños a las personas, el medio ambiente y la economía, y en definitiva, a restaurar el hábitat natural (National Oceanic and Atmospheric Administration, 2014).

Por todo ello, el objetivo general de esta tesis es la evaluación de efectos de dos metales pesados considerados como no esenciales y altamente tóxicos (Pb y Cd), de un micronutriente esencial (Cu) de relevancia toxicológica por los altos niveles presentes en el medio marino, de sus mezclas binarias (Pb+Cd, Pb+Cu, Cd+Cu) y de su mezcla ternaria (Pb+Cd+Cu), utilizando para ello el mejillón silvestre (*Mytilus galloprovincialis*) como especie representativa de los estudios de contaminación marina en las estrategias nacionales. Para ello se marcaron como objetivos específicos la evaluación y comparación de respuestas de los mejillones ante la presencia de estos metales mediante marcadores de efecto (comportamiento alimentario, biometría, respuesta inmunitaria e interferencia con otros elementos inorgánicos esenciales) y de exposición (bioacumulación), valorando en su caso, los posibles efectos aditivos, sinérgicos o antagónicos.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

---



## II.1. La contaminación en mares y océanos

El problema de la contaminación es complejo, ya que su forma de presentación sigue siendo muy variada. Sus principales consecuencias biológicas derivan de sus devastadores efectos sobre la vida, siendo en muchos casos, impredecibles (Fernández, 2012a). Además durante años, la acción del ser humano ha modificado considerablemente todos los eslabones de la cadena biológica, y por tanto, la vida del planeta. Por ello, la calidad del medio ambiente preocupa desde hace décadas a sociedades e investigadores. Los numerosos vertidos emitidos durante años a la atmósfera, tierra y océanos procedentes de actividades industriales se suman a los que la propia naturaleza emite derivada de procesos naturales, como son las erupciones volcánicas o los incendios forestales entre otros. La consecuencia es que todos los ecosistemas del planeta se encuentran más o menos amenazados por numerosos compuestos que afectan a la salud de los mismos y a la de los seres vivos que los habitan. En ese sentido, los ecosistemas están siendo intensamente evaluados, elaborándose incluso, al igual que existe sobre especies animales y vegetales amenazadas, una “lista roja” sobre ecosistemas, con la que se podrá obtener una mejor información del estatus de otros componentes de la diversidad biológica y abiótica (Rodríguez *et al.*, 2011).

Por su parte, los ecosistemas marinos están considerados como una importante fuente de riqueza y de recursos, además de ocupar un papel clave en la regulación del clima. Sin embargo, estos ecosistemas están cambiando en respuesta a los fuertes impactos antropogénicos que continuamente reciben a escala global derivados del cambio climático (Bijma *et al.*, 2013), la sobrepesca (Pitcher y Cheung, 2013) y la contaminación (Hutchinson *et al.*, 2013).

Desde hace años, diversos tratados internacionales han abordado el tema de la contaminación marina, como el Convenio sobre la prevención de la contaminación del mar por vertimiento de desechos y otras materias (Londres, 1972), Convenio de Barcelona para la prevención del Mar Mediterráneo (1976), Convenio internacional sobre cooperación, preparación y lucha contra la contaminación por hidrocarburos (Convenio OPRC), Convenio OSPAR sobre la protección del medio ambiente marino del Atlántico Nordeste (París, 1992), etc. En la Convención de las Naciones Unidas sobre el Derecho

del Mar (Montego Bay, 1982), considerada como uno de los instrumentos más completos del derecho internacional, se definió la “contaminación del medio marino” como *la introducción por el hombre, directa o indirectamente, de sustancias o de energía en el medio marino incluidos los estuarios, que produzca o pueda producir efectos nocivos tales como daños a los recursos vivos y a la vida marina, peligros para la salud humana, obstaculización de las actividades marítimas, incluidos la pesca y otros usos legítimos del mar, deterioro de la calidad del agua del mar para su utilización y menoscabo de los lugares de esparcimiento* (artículo 1.1.4). En todos estos tratados se imponen obligaciones para prevenir, reducir, combatir y eliminar la contaminación, detener y prevenir la pérdida de biodiversidad, así como para la protección y conservación de los ecosistemas marinos. En España, la Ley 41/2010, de 29 de diciembre, de protección del medio marino (incorporación al derecho español de la Directiva 2008/56/CE, de 17 de junio de 2008, por la que se establece un marco de acción comunitaria para la política del medio marino), introduce la obligación de los Estados Miembros de elaborar estrategias marinas con el fin de adoptar medidas para lograr o mantener un buen estado ambiental del medio marino a más tardar en el año 2020. Estas estrategias incluirán entre otros elementos, un análisis del estado ambiental actual y de los principales impactos, un análisis económico y social de la utilización del medio marino y del coste que supone el deterioro del mismo, el establecimiento de una serie de objetivos medioambientales e indicadores asociados, así como la elaboración y aplicación de un programa de seguimiento y de un programa de medidas destinado a mantener el buen estado medioambiental.

En el pasado, el mayor impacto por parte del hombre era el vertido directo de residuos procedentes de los buques, una actividad prohibida en el Convenio de Londres de 1972 (Ramírez-Llodra *et al.*, 2011), aunque en 1996 se negoció un nuevo y más estricto convenio, este no entró en vigor hasta el año 2006 (International Maritime Organization, <http://www.imo.org>). Sin embargo, las consecuencias de dichos vertidos siguen presentes en forma de toneladas de basura y plásticos, además de los vertidos incontrolados que se producen desde la costa, ríos y barcos (UNEP, 2009).

Actualmente más del 40% de la población mundial vive próximo a los 100 Km de la franja costera (Conferencia de desarrollo sostenible de Naciones Unidas, Río 2012). Este hecho ha generado que la mayoría de las áreas costeras del mundo estén contaminadas,



debido sobre todo a las descargas de aguas negras, sustancias químicas, antibióticos, fertilizantes, etc. Estas zonas se denominan “zonas muertas” o “anóxicas”, debido a los fenómenos de eutrofización que se dan (Díaz y Rosenberg, 2008). Sustancias como antibióticos han sido referenciadas en aguas de río de numerosos países y también en océanos (Gulkowska *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2007; Ginebreda *et al.*, 2009; Tamtam *et al.*, 2009; Watkinson *et al.*, 2009), y determinados hábitos como el uso de cremas protectoras para el sol también pueden alterar los ecosistemas marinos costeros al observarse que algunos de los componentes químicos empleados se depositan en la capa más superficial de las aguas y alteran el crecimiento de las algas (Tovar-Sánchez *et al.*, 2013).

En 1997 se estimó que de los 6,4 millones de toneladas de residuos que anualmente acaban en el mar (UNEP, 2009), el 60-80% de los residuos flotantes eran plásticos (Derraik, 2002; Barnes *et al.*, 2009), encontrándose estos productos incluso en el Océano Austral y en la costa de la Antártida (Cheng *et al.*, 2013). Desde 1963, fecha en la que Sladen encontró DDT, muchos son los estudios que se han realizado en esta prístina zona, evidenciándose la presencia de diferentes contaminantes de origen antropogénico, como son los retardantes de llama PBDs, TCEP, TCPP, TnBP, TiBP, TBEP, TEHP, TPhP (Möller *et al.*, 2012; Cheng *et al.*, 2013) y otros contaminantes orgánicos persistentes como PCBs, HCH, HCB, SDDT y DDE (Ólafsdóttir *et al.*, 2005; Riget *et al.*, 2010; Baldursdóttir, 2011; Goutte *et al.*, 2013; Sturludóttir *et al.*, 2014). En definitiva, las zonas polares están siendo consideradas en la actualidad como sumideros finales de plaguicidas y productos químicos industriales, debido al transporte atmosférico a larga distancia y a la condensación del frío (Simonich y Hites, 1995).

Por su parte, el gran desarrollo económico ha traído consigo una amplia demanda de energía en todo el mundo, generando un aumento de las explotaciones petroleras marinas y de los transportes, y causando frecuentes catástrofes por derrames de crudo (Bohai Bay, 2011 en China; plataforma Deepwater Horizon, 2010 en el Golfo de México; Prestige, 2002 en las costas de Galicia). La mayor concentración de petróleo disuelto está formado por compuestos alifáticos e hidrocarburos aromáticos, tales como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP). Si bien los efectos adversos de estos vertidos en los ecosistemas marinos son bien conocidos (Jiang *et al.*, 2012), el daño potencial a la vida silvestre es también más duradero y grave de lo que se pensaba (Peterson *et al.*, 2003; Esler *et al.*, 2010).

Otros contaminantes como los radionúclidos también pueden causar daños en los ecosistemas marinos. Los accidentes nucleares como el de Chernóbil (1986) y más recientemente el de Fukushima (2011) ocasionan efectos rápidos en la atmosfera, mientras que la presencia de elementos contaminantes radiactivos que llegan al mar tienen un efecto local o regional, debido a la lentitud del transporte con las corrientes oceánicas y a su enorme poder de dilución (Povinec *et al.*, 2013).

Según Ramírez-Llodra *et al.* (2011), los impactos antropogénicos (el vertido de residuos y de basuras, la explotación de recursos y el cambio climático) afectan a los hábitats de las profundidades del mar, es decir, a las zonas que se extienden desde los 250 metros de profundidad hasta las zonas abismales, desde donde acaba la plataforma continental. De este fondo marino, que cubre el 73% del océano y que tiene una superficie estimada de 326 millones de kilómetros cuadrados en todo el planeta, solo se ha muestreado biológicamente una zona insignificante, y es tan importante la biodiversidad encontrada que en el futuro tendrá una mayor presión a causa de la extracción minera submarina, actividad que empezará a desarrollarse a medio plazo ya que se sabe que hay depósitos importantes de cobre, níquel y cobalto entre otros.

Si bien el problema de la contaminación ambiental es abordado para cada caso (contaminación atmosférica, contaminación marina y contaminación terrestre), en la biosfera existen múltiples relaciones entre aire, agua y suelo, elementos que constituyen el hábitat o lugar donde se desarrolla normalmente el ciclo vital de todos los seres vivos del planeta. Por ello, en la gestión ambiental de los ecosistemas marinos es preciso tener en cuenta numerosas fuentes así como sus interrelaciones.

Aunque desde principios del siglo XIX se sospechaba que hubo cambios naturales en el paleoclima y se identificó por primera vez el efecto invernadero natural, no fue hasta mediados del siglo XX cuando se investigó la transferencia de sustancias químicas, de la atmósfera al océano, inicialmente sobre el dióxido de carbono (Bolin, 1960), y posteriormente con todo tipo de sustancias, como son los óxidos de nitrógeno, azufre y carbono, los metales como Pb y Hg o los contaminantes orgánicos persistentes, por citar algunos. Estas emisiones han ejercido durante mucho tiempo un fuerte impacto sobre los ecosistemas oceánicos y sobre el clima, no existiendo región alguna de los océanos que pueda escapar a la influencia del ser humano (Duce *et al.*, 2009).

Los ecosistemas marinos se enfrentan, en resumen, a un auténtico “coctel” de contaminantes químicos, ya que además de los denominados “contaminantes heredados” tales como metales pesados y contaminantes orgánicos persistentes, hay que añadir gran variedad de sustancias “emergentes” como los retardantes de llama, los nanomateriales o los microplásticos (Hutchinson *et al.*, 2013), cuyos efectos nocivos no solo abarcan a las especies marinas, sino que también pueden constituir una amenaza para la salud humana a través de la cadena alimentaria.

Según varios autores (GESAMP, 1994; Escobar, 2003), a nivel mundial más del 75% de los principales focos de contaminación marina se encuentran en el interior, tierra adentro. El aire y los ríos son los encargados de transportar continuamente hasta el mar una variada cantidad de contaminantes. Las mareas, las corrientes marinas o el viento multiplican el problema de la contaminación, dispersando los contaminantes hasta puntos lejanos. El origen de estos contaminantes fue fijado en un 44% debido a vertidos y descargas producidos desde tierra firme, un 33% por emisiones transportadas desde tierra a través de la atmósfera, mientras que en menor medida por derramamientos desde barcos (12%), vertidos directos al mar desde buques o aeronaves (10%) y minería y perforaciones de petróleo y gas en la costa (1%). El último informe del Panel Intergubernamental del Cambio Climático (IPCC, 2014) sobre evaluación del mismo se establece que las actividades humanas son las principales responsables del calentamiento global registrado en los últimos 50 años.

El taller de expertos internacionales, reunido en Oxford (Rogers y Laffoley, 2011), concluía que si la trayectoria actual de daños continúa, “los océanos del mundo están en alto riesgo de entrar en una fase de extinción de especies marinas sin precedentes en la historia de la humanidad”. Según advirtieron los especialistas, se prevé que hacia el año 2050 se producirá un cambio radical de los ecosistemas marinos a nivel global, lo cual preocupa a los especialistas en biología marina, ya que se pone en riesgo un mundo sumamente rico y diverso como son los ecosistemas marinos. Según el Programa Internacional sobre el estado de los Océanos (IPSO, 2014), un programa de evaluación de la exposición a los productos químicos prioritarios podría ayudar a una mejor comprensión de la distribución de los efectos biológicos y de las repercusiones de mezclas complejas de sustancia sobre la fisiología de los organismos (Rogers y Laffoley, 2013).

## II.2. La contaminación marina por metales

La presencia de metales pesados en ecosistemas marinos constituyen un serio problema a nivel mundial (Acosta *et al.*, 2013). Desde la aparición en Japón de las enfermedades Itai-Itai (1912), causada por Cd, y la enfermedad de Minamata (1956), causada por Hg, la contaminación por metales pesados, especialmente en ambientes marinos, ha sido motivo de gran preocupación, y durante años, su presencia ha sido objeto de mucha atención, debido a su toxicidad inherente, a sus múltiples fuentes, su persistencia en el medio y a su no degradabilidad (Chapman *et al.*, 1998; Klavinš *et al.*, 2000; Tam y Wong, 2000; Todd *et al.*, 2010). Esto hace que continuamente se publiquen numerosos trabajos de investigación sobre este tema, principalmente sobre estuarios y zonas costeras, ya que son las regiones más activas de interacción entre la tierra y el mar. Estas zonas responden con sensibilidad a los procesos naturales y las actividades antropogénicas (Li *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2010; Okbah *et al.*, 2011), aunque esta contaminación varía con el desarrollo económico local, las fuentes de contaminación y las condiciones geográficas (Pan y Wang, 2012). Por otro lado, este fenómeno también se ha observado en otras zonas altamente industrializadas y pobladas como el sureste asiático (Lin *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2013), Golfo de México (Celis Hernández *et al.*, 2013), el Mar Báltico (Boalt *et al.*, 2014; Voigt, 2014), Mar del Norte (Emeis *et al.*, 2015), Mediterráneo Noroccidental (Roussiez *et al.*, 2006), en zonas con alto tránsito de barcos como el Golfo de Arabia (Naser, 2013; Bazzi, 2014) e incluso en zonas muy turísticas como la bahía de Málaga (Alonso *et al.*, 2013).

Los mares reciben continuamente metales pesados derivados de actividades como la minería, la fundición, la agricultura, la industria petroquímica, la acuicultura o la industria de la electrónica (Eisler, 1993; Giambérini y Cajaraville, 2005; Pyatt *et al.*, 2005; Pyle *et al.*, 2005; Gust y Fleeger, 2006; Qiao *et al.*, 2007; Poté *et al.*, 2008; Kalantzi *et al.*, 2013). Ello se debe fundamentalmente a las descargas fluviales, a partir de las cuales se producen los vertidos de las aguas residuales industriales y domésticas (Lin *et al.*, 2013). No obstante, el aporte de metales al mar también puede deberse a fenómenos naturales, como por ejemplo procesos de vulcanización, hidrotermalismo, erosión de rocas y otras fuentes, las cuales durante los ciclos biogeoquímicos, se interrelacionan con el medio ambiente (Gutiérrez-Galindo *et al.*, 1999).

Una vez en la columna de agua, los metales pesados solubles se inmovilizan a través de diversos mecanismos (Bryan y Langston, 1992; Du Laing *et al.*, 2009): adsorción en el suelo por intercambio iónico, coagulación con especies disueltas o suspendidas en agua (por ejemplo la materia orgánica), incorporación a la estructura reticular de los minerales, y precipitación mediante la formación de especies insolubles de metales pesados. Por otra parte, la alta salinidad del agua de mar aumenta la agregación de partículas en suspensión, haciendo que sea más rápida la sedimentación (Du Laing *et al.*, 2009). Finalmente los metales se depositan en el sedimento marino, el cual actúa a modo de sumidero (Li *et al.*, 2013a), convirtiéndose en el principal repositorio y fuente de metales pesados del medio ambiente acuático y desempeñando un papel importante en el transporte y almacenamiento de metales potencialmente peligrosos (Yan *et al.*, 2010; Gao y Chen, 2012). La consecuencia de todo esto es que zonas como puertos y estuarios actúan como una piscina para los metales pesados, donde son adsorbidos, acumulados y liberados a las áreas cercanas (Guerra-García y García-Gómez, 2005; Chen *et al.*, 2007). Su distribución en los sedimentos adyacentes a las áreas pobladas, proporciona la evidencia de los impactos antropogénicos en los ecosistemas y una ayuda en la evaluación de los riesgos asociados con los desechos humanos descargados (Demirak *et al.*, 2006; Balls *et al.*, 1997). Si bien los estudios sobre la columna de agua son necesarios, la evaluación de la calidad de sedimentos se reconoce como un paso crítico en la estimación del riesgo asociado a la contaminación de origen humano en los sistemas acuáticos (Alonso *et al.*, 2013).

Los metales pesados provocan diversos efectos ecológicos sobre los ecosistemas marinos, así como una elevada preocupación pública por la seguridad alimentaria (Wang *et al.*, 2005; Rainbow, 2007; Wang y Rainbow, 2008; Feng *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 2013), especialmente si están presentes en niveles por encima de los umbrales de toxicidad (MacDonald *et al.*, 1996; O'Connor, 2004). No obstante, bajas concentraciones de estos contaminantes también pueden tener consecuencias perjudiciales sobre algunas respuestas biológicas (Del Valls y Conradi, 2000; Nicholson y Lam, 2005).

Por otro lado, metales esenciales como el Cu y el Zn pueden ser transportados y acumulados en los sedimentos y en los organismos marinos, al igual que muchos otros elementos metálicos (Miao *et al.*, 2005; Lin *et al.*, 2011). Así, se ha comprobado que altos niveles de estos metales pueden dañar la vida marina, ya que producen retardo de la

división celular, daño oxidativo y muerte celular, causando daños en branquias, hígado, riñones y sistema nervioso (Flemming y Trevors, 1989; Stohs y Bagchi, 1995), mientras que bajas concentraciones pueden reducir el crecimiento y la fotosíntesis de la flora, generando cambios en la abundancia y composición taxonómica de la fauna (Morrisey *et al.*, 1996).

Otros elementos inorgánicos como el cromo (Cr), arsénico (As), además de los más relevantes desde el punto de vista ambiental (Cd, Pb y Hg), también causan toxicidad aguda o crónica, pudiendo ser bioacumulados por los organismos marinos e incluso biomagnificados a través de la cadena alimentaria (Schafer *et al.*, 1981; Croteau *et al.*, 2005; Hammerschmidt y Fitzgerald, 2006; Rainbow y Luoma, 2011).

Por todo ello, además del problema medioambiental que representan, los metales pesados pueden suponer un serio riesgo para la salud de los consumidores, debido a que su persistencia en el medio natural conlleva un fácil acceso a los mismos por parte de los animales y por consiguiente, su acumulación y biomagnificación en la cadena alimentaria. Por este motivo, los efectos de estos contaminantes se han estudiado prácticamente en todos los eslabones de los ecosistemas marinos, desde los sedimentos marinos a los delfines y cachalotes, pasando por algas, peces e invertebrados como ostras y mejillones.

En determinadas zonas, los moluscos bivalvos tienen una amplia tradición como fuente de alimento, y particularmente los mejillones se han convertido en una de las especies de mariscos más importantes del mundo (Stankovic y Jovic, 2012). Por su particular forma de alimentarse (organismos filtradores), pueden acumular una amplia gama de contaminantes, incluidos los metales pesados, y plantear por tanto, un problema de salud pública (Cevik *et al.*, 2008; Cardellicchio *et al.*, 2010; Scarpato *et al.*, 2010; Joksimovic *et al.*, 2011). Es por ello que las autoridades competentes en Seguridad Alimentaria establecen límites máximos de estos metales en determinados alimentos. Así pues, los contenidos máximos de Pb y Cd en moluscos bivalvos establecidos por la Unión Europea son de 1.5 y 1 mg kg<sup>-1</sup> sobre peso fresco respectivamente (Reglamento (CE) n°1881/2006 de la Comisión y sus modificaciones).

### II.3. Metales pesados

Tal y como hemos indicado anteriormente, entre los contaminantes ambientales más importantes por su persistencia y toxicidad se encuentran los metales pesados, los cuales se distribuyen ampliamente por todos los ecosistemas afectando de diversa forma a todo tipo de organismos. Estos contaminantes destacan en los ecosistemas marinos costeros, debido en gran parte al auge de la industrialización, presentando una tendencia al alza durante las últimas décadas (Shanmugam *et al.*, 2007; Batvari *et al.*, 2008; Laxmi Priya *et al.*, 2011; Seshan *et al.*, 2012), y afectando de forma exponencial a la salud de muchos organismos, ya que producen cambios en la cadena alimentaria con fenómenos de bioacumulación y biomagnificación. Estos contaminantes finalmente llegan a los océanos (Islam y Tanaka, 2004), provocando un gran impacto medioambiental y generando gran preocupación (Cooper *et al.*, 2009; Akcali y Kucuksezgin, 2011; Tosti y Gallo, 2012).

Desde hace décadas, Pb y Cd se consideran dos de los metales más peligrosos desde el punto de vista de salud pública y toxicológico (Díaz Mayans *et al.*, 1993; Nordberg *et al.*, 2007; ATSDR, 2007, 2012). Estos metales han sido ampliamente estudiados, y sus efectos sobre la salud humana son revisados periódicamente por organismos internacionales como la OMS (Järup, 2003), estando incluidos en la lista de sustancias en el ámbito de la política de aguas (Decisión nº 2455/2001/CE del Parlamento Europeo y del Consejo; Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo).

Por su parte, los compuestos de Cu fueron los primeros biocidas desarrollados para la producción industrial a gran escala de pinturas antiincrustantes en embarcaciones, utilizándose ampliamente en la actualidad en productos libres de tributilestaño (Cima y Ballarin, 2012) y teniendo también el potencial de ejercer daño en una amplia gama de organismos marinos (Gammon *et al.*, 2009; Turner *et al.*, 2009; Simpson *et al.*, 2012; Ward *et al.*, 2013).

Estos metales están considerados como sustancias peligrosas prioritarias (Pb y Cd) y preferentes (Cu) por presentar un riesgo significativo para las aguas superficiales españolas, debido a su especial toxicidad, persistencia y bioacumulación o por la importancia de su presencia en el medio acuático (RD 60/2011); y por ello todos están

incluidos en los programas de seguimiento del estado y calidad de las aguas superficiales establecidos por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Además están incluidos en la lista de sustancias objeto de control en programas como el RID (Riverine Inputs and Direct Discharges), centrado en el control de las descargas de contaminantes al mar a través de los ríos dando cumplimiento al Convenio OSPAR. Agencias como la EPA (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos) y la ATSDR (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades), consideran estos tres metales como contaminantes prioritarios, en base a su frecuencia, toxicidad y potencial de exposición en el ser humano (US EPA, 2013; ATSDR, 2014).

### II.3.1. Plomo

El Pb es un elemento químico no esencial, común en la naturaleza y considerado tóxico a los seres humanos y a la vida acuática (Mager *et al.*, 2010). Junto con otros metales como el Cd, Cr, Cu, Hg, Mn o Zn, forma parte de los denominados “metales pesados”. Los metales de este grupo se caracterizan por no ser biodegradables y por acumularse en la cadena alimentaria hasta niveles peligrosos (Pan y Wang, 2012), así como por su capacidad de provocar efectos adversos en la flora y en la fauna, y por consiguiente, en la totalidad del ecosistema.

Este metal se ha utilizado desde épocas remotas por su abundancia y facilidad de fundición, aunque su uso se intensificó de forma notable paralelamente al desarrollo de la industria del automóvil durante el siglo XX, ya que era utilizado como aditivo antidetonante en forma de tetraetilo (Gad, 2005). También se ha utilizado como componente de materiales de construcción, pinturas, tuberías de conducción de agua, así como en los procesos industriales de extracción y fundición (Caurant *et al.*, 2006; Mao *et al.*, 2009), utilizándose en la actualidad fundamentalmente en la fabricación de baterías. Su presencia en el medio ambiente tiene un origen principalmente antropogénico (Caurant *et al.*, 2006), debido sobre todo a la deposición atmosférica de subproductos de la combustión de la industria minera y metalúrgica en el pasado (Caurant *et al.*, 2006; Mao *et al.*, 2009), y hoy en día debido fundamentalmente a procesos industriales relacionados con las fundiciones de Pb (US EPA, 2003). Aproximadamente más del 90% del Pb depositado en los océanos cada año, es decir, de 90,000 a 140,000 toneladas tienen este origen, frente a unas 1,400-4,000 toneladas que tienen su origen a partir de fuentes



naturales, tales como volcanes (Cossa *et al.*, 1993; Van de Flierdt *et al.*, 2003). En el mar, los niveles de Pb son normalmente inferiores a  $1 \text{ g L}^{-1}$  (Brügmann, 1981), aunque se ha llegado a registrar concentraciones de hasta  $200 \text{ g L}^{-1}$  en agua de mar contaminada (OMS, 1972).

Para intentar paliar estas emisiones, las autoridades competentes establecieron en los años 90 medidas administrativas, como la prohibición del uso del Pb como antidetonante de las gasolinas (Directiva 98/70/CE; RD 785/2001), ya que se consideraba que la contaminación atmosférica por Pb se asociaba fundamentalmente a la combustión de la gasolina (Gad, 2005), y que este hecho constituía un riesgo para la salud humana y para el medio ambiente en su globalidad. Esto supuso un gran avance en la reducción de la emisión de este metal a la atmósfera.

Otra de las medidas adoptada en España en los últimos años fue la prohibición del uso de perdigones de Pb en humedales (RD 581/2001), debido a la importante fuente que supone el uso de este tipo de munición en los cartuchos de caza (Guitart *et al.*, 2002). En aves, la toxicosis por Pb derivada de la ingestión de estos perdigones se conoce desde hace más de un siglo, siendo este un problema reconocido a nivel mundial (Friend *et al.*, 2009). Por ello, al menos 29 países han implementado restricciones en el uso de esta munición en humedales, de forma voluntaria o a través de la legislación, y países como Suecia y Dinamarca han prohibido todas las formas de munición plomada (Avery y Watson, 2009).

Sin embargo, los datos muestran que las emisiones de Pb del pasado siguen siendo un factor que contribuye a la detección de este metal en todas las fases del ecosistema, de forma que el exceso de este elemento en ambientes como el acuático, sigue siendo un motivo de preocupación (Sánchez-Marín, 2010). Las numerosas fuentes de emisión, su naturaleza volátil que le confiere no solo ser un contaminante local sino a gran escala (Charalampides y Manoliadis, 2002), y su incapacidad para ser degradado, hacen que el Pb sea quizá el metal tóxico más ubicuo (aire, agua y suelo), llegando incluso a los lugares tan remotos como estanques subalpinos, zonas del polo y localizaciones remotas como islas y atolones del Pacífico ecuatorial (Murozomi *et al.*, 1969; Caurant *et al.*, 2006; Collen *et al.*, 2011).

En los océanos, la distribución de Pb sigue un perfil de tipo “scavenged vertical”, de tal forma que la cantidad disuelta es mayor en las aguas superficiales, disminuyendo paulatinamente con la profundidad probablemente como consecuencia de la vía atmosférica de entrada (Libes, 2009). La bioacumulación varía según los organismos marinos, con un factor general de variación comprendido entre 1,000 y 100,000, dependiendo de la especie (Alzieu, 1999). Sin embargo, la cuestión de la biomagnificación de Pb en el hábitat marino está solo parcialmente resuelta, existiendo opiniones muy diversas al respecto (Barwick y Maher, 2003), aunque muchos estudios coinciden en que no existe una biomagnificación de este elemento en las cadenas tróficas marinas (Amiard *et al.*, 1980; Metayer *et al.*, 1980; Mikac *et al.*, 2001; Timmermans *et al.*, 1989; Vighi, 1981; Ward *et al.*, 1986; Barwick y Maher, 2003; Cardwell *et al.*, 2013).

Todos los compuestos de Pb son tóxicos en diferente grado, dependiendo de la naturaleza química y grado de solubilidad de cada compuesto. No obstante, son los compuestos orgánicos los descritos como más tóxicos. En el medio marino, el Pb se encuentra bajo diferentes formas (Pain, 1995): libre (ion  $Pb^{2+}$ ), disuelto, en forma de complejos (cloruros, hidroxilos y compuestos orgánicos), o como sulfato o carbonato. En organismos marinos, el Pb en disolución es tóxico, siendo mayor la toxicidad en las formas iónicas libres (Fernández, 2012b). La biodisponibilidad del Pb en el medio acuático y su absorción dependen de factores biológicos como la especie, la edad, el tamaño, la tasa de crecimiento y el sexo, así como de factores ambientales, como la época del año, pH, forma química del Pb, materia orgánica en sedimentos, cantidad de otros elementos químicos e incluso presencia de otros contaminantes (Metcalf-Smith *et al.*, 1996; Stewart, 1999; Wiesner *et al.*, 2001; Darling y Thomas, 2005; Graham *et al.*, 2006; Grosell *et al.*, 2006).

La principal vía de absorción de Pb en organismos superiores es la pulmonar (aproximadamente un 50-70%) (Gad, 2005), seguida de la gastrointestinal (10%) (Goyer, 2001), considerada esta última como una vía de entrada muy rápida (Pain y Rattner, 1988). La distribución se realiza en sangre unido en un 99% al grupo hemo de los eritrocitos (Gad, 2005), donde viaja hacia tejidos blandos como hígado riñón, hígado y cerebro en exposiciones agudas (Longcore *et al.*, 1974; Pattee *et al.* 1981; Tokar *et al.*, 2013), y hacia el tejido óseo en caso de exposiciones crónicas (Kakkar y Jaffery, 2005), siguiendo por tanto, un modelo cinético tricompartmental.

En organismos marinos el Pb penetra a través de las branquias, tracto digestivo y piel, siendo las branquias el principal depósito en organismos como caracoles (Supanopas *et al.*, 2005) y peces (Spokas, *et al.*, 2006). Estudios efectuados con mejillón cebrá (*Dreissena polymorpha*) muestran cómo el Pb presente en el medio se incorpora a través del sifón inhalante, siendo retenido y acumulado en las branquias (Marigómez *et al.*, 2002) y en el manto (Salánki y Katalin, 1989; Naimo 1995; Gundacker, 2000; Yap *et al.*, 2004a), desde donde puede asociarse con granulocitos y ligandos de la hemolinfa para transportarse a otros tejidos, como la glándula digestiva, y a la concha. Una vez incorporado al interior celular, los lisosomas son las estructuras clave en su almacenamiento (Amiard *et al.*, 1995; Marigómez *et al.*, 2002). A este nivel, el Pb es eliminado posteriormente por extrusión a través del ápice celular, explicando este proceso el aumento en número y tamaño de los lisosomas observados por Giambérini y Pihan (1997) en mejillón de agua dulce *Anodonta grandis* expuesto a Pb. No obstante, el almacenamiento de este metal también se ha visto en concreciones granulares (Adams y Shorey, 1998; Vesik y Byrne, 1999; Byrne y Vesik 2000; Marigómez *et al.*, 2002). Según varios autores (Domouhtsidou y Dimitriades 2000; Einsporn *et al.*, 2009), las células de la branquia son el principal lugar de acumulación del Pb en especies como *Mytilus edulis* y *M. galloprovincialis*, mientras que en *Pinna nobilis*, Jebali *et al.* (2014) afirman que es en la glándula digestiva donde más se acumula. En cuanto a su eliminación, en *D. polymorpha* ha sido descrita a través del sifón exhalante, mediante excreción en orina, mediante los lisosomas celulares digestivos de las heces o bien en los granulocitos en la orina y las heces (Marigómez *et al.*, 2002).

El Pb no desempeña función fisiológica, nutricional o bioquímica alguna. Se trata de un elemento tóxico cuya preocupación durante años se ha centrado en la dosis a la cual se vuelve tóxico (Klaassen y Watkins, 2005). En organismos superiores se han descrito numerosos efectos derivados de la exposición a Pb (Patrick, 2006a). Según Ercal *et al.* (2001), la patogénesis del Pb es multifactorial: interrumpe la activación de enzimas, inhibe la absorción de minerales traza, se une a grupos sulfhidrilo de proteínas interrumpiendo la síntesis de proteínas estructurales, altera la homeostasis del calcio y disminuye el nivel de reservas antioxidantes, estando todo ello relacionados en muchos casos con el efecto oxidante que el Pb ejerce en componentes celulares y tisulares (Patrick, 2006b). El Pb provoca alteraciones a nivel hematológico, renal y nervioso. Según la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, 2006), los

compuestos inorgánicos de Pb están considerados como probable carcinógenos (grupo 2A), mientras que los compuestos orgánicos están considerados como no clasificables (grupo 3). No obstante, aún quedan muchos puntos por esclarecer respecto al su mecanismo de acción, mientras que otros mecanismos no han alcanzado todavía la consolidación necesaria para que puedan aceptarse de forma unánime (Villanueva, 2004).

El efecto del Pb en los organismos marinos también ha sido ampliamente descrito; tampoco tiene ninguna función fisiológica conocida (Johannesson, 2002), e incluso en cantidades traza puede ser tóxico para los organismos acuáticos (Angelo *et al.*, 2007; Bollhöfer, 2012; Krause-Nehring *et al.*, 2012). En peces, la función de osmorregulación de las branquias puede verse afectada como consecuencia de la inhibición de enzimas Na/K ATPasa (NKA) y Ca-ATPasa (Rogers *et al.* 2003; Rogers y Wood, 2004; Atli y Canli 2007), aunque la toxicidad del Pb generalmente se debe a su capacidad para sustituir otros iones divalentes biológicamente esenciales como el Fe y el Zn, o bien por mimetismo con el Ca (Ballatori, 2002; Company *et al.*, 2008; Company *et al.*, 2011).

El Pb es un metal con una alta afinidad para los grupos sulfhidrilo de enzimas implicadas en la síntesis del grupo hemo, como la  $\delta$ -aminolevulínico deshidratasa, o las superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa que están involucradas en la eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Astrin *et al.*, 1987; Bechara, 1996; Dafre *et al.*, 2004; Ercal *et al.*, 2001). En este sentido, los radicales libres inducidos por el Pb agotan la reserva antioxidante celular (Ercal *et al.*, 2001; Jomova y Valko, 2011), por lo que una elevada producción de ROS conduce indirectamente a la peroxidación de lípidos de las membranas celulares y a la formación de productos secundarios tales como malondialdehído (Sandhir y Gill, 1995; Ercal *et al.*, 2001; Daniel *et al.*, 2004).

En moluscos bivalvos los efectos observados por este metal incluyen cambios en el crecimiento (Salánki y Hiripi, 1990; Kraak *et al.*, 1994a; Naimo, 1995), en la actividad enzimática (Naimo, 1995) y en el comportamiento (Naimo, 1995; Salánki y Hiripi, 1990). También se ha observado un aumento en el número y tamaño de los lisosomas (Giambérini y Pihan, 1997), así como rotura de la cadena de ADN (Black *et al.*, 1996). En epitelio branquial de *Crassostrea gigas* se han descrito alteraciones a nivel ultraestructural, tales como interrupción de las membranas plasmáticas, pérdida de

microvellosidades, pérdida de orgánulos, pérdidas de crestas de las mitocondrias e hinchazón de la envoltura nuclear (Mosher, 2008).

### II.3.2. Cadmio

Al igual que el Pb, el Cd está considerado como uno de los metales más importantes desde el punto de vista de la contaminación ambiental y toxicológico en general, y al que tampoco se le conoce ninguna función esencial en los seres vivos (Webb, 1979; Phillips, 1980a; Jensen y Bro-Rasmussen, 1992). Esta toxicidad inherente y su relativa movilidad con emisiones de grandes cantidades de Cd a la biosfera, motivan que se haya encontrado en los lugares más remotos del mundo, como la capa de nieve y glaciares del alto Himalaya, el Ártico y la Antártida (Wolf *et al.*, 1999; Planchon *et al.*, 2002; Hong, 2004; Lee *et al.*, 2008), lo cual explica la gran preocupación de la comunidad científica por conocer su ciclo biogeoquímico y sus efectos en los seres vivos. A nivel internacional, el Cd está incluido en las listas de contaminantes prioritarios (ATSDR, 2014; US EPA, 2014).

Igualmente se trata de un metal ubicuo en el medio ambiente, cuya presencia en el medio acuático se debe fundamentalmente a actividades antropogénicas. Sus fuentes de exposición incluyen los pigmentos, las baterías níquel-cadmio, los derivados de la minería, fundición y refinería de minerales de sulfuro de Zn y, en ocasiones, de las actividades de la refinería del Pb y Cu (Das *et al.*, 1997; Fishbein, 1981; Duruibe *et al.*, 2007; Dabas *et al.*, 2012). No obstante, su presencia también puede tener un origen natural (vulcanismo, erosión, etc.) (Henkel y Krebs, 2004; Huang *et al.*, 2004; Choi *et al.*, 2007; Chiarelli *et al.*, 2014). Si bien las emisiones de Cd al medio ambiente han sido elevadas durante años, estas emisiones parecen haberse frenado desde 1980 debido al aumento de la regulación de su uso y la implementación de unas eficientes iniciativas de captura y reciclado de fuentes puntuales (Cullen y Maldonado, 2013). De hecho, la producción mundial Cd alcanzó una meseta en los años 90 de 20,000 TM/año aproximadamente (U.S. Geological Survey, 2012). Estas restricciones legales han ido sucediéndose en el tiempo hasta nuestros días, siendo algunas de ellas la normativa relativa al uso de materiales y componentes de vehículos (RD 1383/2002) y a la fabricación de pilas (RD 106/2008). Según Pacyna y Pacyna (2001), las emisiones atmosféricas de Cd a mediados de los 90 eran de 2,983 toneladas/año, frente a las 1,440 toneladas/año de las emisiones naturales.

Aún existiendo información relativa a los efectos perjudiciales del Cd, su detección en el medio ambiente ha ido en aumento en los últimos años (Giambérini y Cajaraville, 2005; Pyatt *et al.*, 2005; Gust y Fleeger, 2006; Cortés-Gómez *et al.*, 2014), en gran parte debido a los efluentes derivados de numerosas actividades industriales. Todo ello hace que este elemento esté presente en aire, suelos y agua, que sea uno de los metales pesados más abundante y que se encuentre ampliamente distribuido en los ecosistemas acuáticos (Novelli *et al.*, 2000), aunque las mayores concentraciones se encuentran en las aguas costeras, producto de la interacción océano-continente (Valdés *et al.*, 2006).

En los océanos, la deposición húmeda supone un 80-90% del flujo de Cd (Duce *et al.*, 1991; Dunning, 2003), aportando las fuentes naturales unas 500 toneladas/año, aproximadamente un tercio del flujo atmosférico (Bertine y Goldberg, 1971; Callender, 2003). Aunque los flujos de Cd en los océanos están pobremente documentados en la actualidad (Cullen y Maldonado, 2013), se da por hecho la presencia de  $10^{10}$  g de Cd en el mar, con una permanencia aproximada de  $10^4$  años (Bruland y Lohan, 2003).

En la columna de agua, el Cd presenta una distribución de tipo vertical, fuertemente correlacionada con la de los nutrientes inorgánicos como el fosfato y nitrato. Esta presencia se caracteriza por presentar niveles bajos cerca de la superficie ( $5 \text{ ng L}^{-1}$ ), incrementándose por debajo de la termoclina y alcanzando sus niveles máximos (aproximadamente  $120 \text{ ng L}^{-1}$ ) aproximadamente a los 1,000 metros de profundidad (Libes, 2009).

En el agua de mar, la forma más dominante y biodisponible del Cd es como ion libre (Fernández, 2012b), aunque también existen complejos con ligandos orgánicos (Bruland, 1980; Abe, 2002). La acumulación del Cd en la columna de agua depende de su forma de presentación (disuelto o particulado), siendo la forma predominante en el océano la disuelta, con concentraciones que oscilan entre 1 y  $1,000 \text{ pmol kg}^{-1}$  (Boyle y Sclater, 1976; Bruland *et al.*, 1978; Sherrell y Boyle, 1992; de Baar *et al.*, 1994). El Cd disuelto es mayor en aguas costeras de superficie que en las oceánicas, siendo su rango de 0.2 a  $0.9 \text{ nmol Kg}^{-1}$  (Cullen y Maldonado, 2013). En los ríos, el Cd se acumula en los sedimentos, los cuales actúan como reservorio para la biota bentónica, liberándose hacia la columna de agua tras los procesos digestivos y a través de las actividades de excavación de algunas especies (Arakel, 1995; Macklin *et al.*, 1997; Wright y Welbourn, 1994).

El Cd es ubicuo en el medio ambiente, acumulándose en todo tipo de organismos, incluyendo el cuerpo humano, y tiene una vida media biológica de 10-30 años (Wu *et al.*, 2008). Numerosos estudios muestran que el Cd pasa a la circulación sistémica y causa daños a diferentes órganos y sistemas (Järup *et al.*, 1998; Zalpus y Ahmad, 2003; Kazantzis, 2004; ATSDR, 2008; Prozialeck y Edwards, 2010), incluyendo carcinogénesis (IARC, 2011; NTP, 2011).

En organismos superiores, el Cd se absorbe por las vías respiratorias (10-60%) y digestiva (5-10%), estando esta última favorecida por situaciones deficitarias en proteínas, Ca y Fe (Gisbert, 1998; Tokar *et al.*, 2013). Una vez absorbido se transporta vía sanguínea (95%) en el interior de los hematíes, unido a la hemoglobina y a las metalotioneínas, proteínas inducidas por el propio metal y a la que permanece unido en los tejidos, fundamentalmente riñón e hígado, aunque también se ha encontrado en otros órganos (pulmones, páncreas, etc.). En los seres humanos y vertebrados marinos se acumula principalmente en el riñón, seguido por el hígado, músculo, piel y huesos (Kostial, 1986; ATSDR, 1999a). Su eliminación es sobre todo vía urinaria e intestinal (Satarug y Moore, 2004; ATSDR, 2008), aunque muy escasa, excretándose solo un 0.001% de la carga corporal por día (Tokar *et al.*, 2013).

En los ecosistemas acuáticos, el Cd tiene una alta solubilidad en el agua y una enorme capacidad de bioacumulación en muchas especies (Ruangsomboon y Wongrat, 2006; Wang y Wang, 2009). Según Jarup y Akesson (2009), son los moluscos y los crustáceos los organismos que mayor cantidad de Cd presentan en sus tejidos.

Según Jensen y Bro-Rasmussen (1992), los organismos acuáticos pueden clasificarse en orden decreciente de acumulación de Cd: algas>moluscos>crustáceos>peces. Por su parte, Cardwell *et al.* (2013) afirman que el Cd generalmente no se biomagnifica en las cadenas tróficas consistentes en productores primarios, consumidores de macroinvertebrados y peces, aunque puede haber biomagnificación de este elemento en cadenas tróficas marinas específicas, consistentes en bivalvos y gasterópodos, entre otros. En organismos marinos, una vez absorbido (principalmente vía digestiva) no se distribuye uniformemente, acumulándose de forma selectiva en órganos como el hígado, riñón, branquias y exoesqueleto (Ray, 1986; Thompson, 1990). No obstante, la bioacumulación se ve afectada por factores como la salinidad y la temperatura (Ray, 1986).

En mejillones, los niveles de Cd en sus tejidos pueden estar influenciados por factores propios del individuo como el tamaño, sexo y etapa de madurez (Cossa *et al.*, 1979; Orren *et al.*, 1980; LaTouche y Mix, 1982), así como por factores externos, como la duración de la exposición al contaminante, concentración de éste en el medio, salinidad, temperatura, disponibilidad del alimento, posición de los organismos en la zona intermareal y momento de la recolección (Phillips, 1976; Scholz, 1980; Ritz *et al.*, 1982; Cossa, 1989; Borchardt, 1983; Lee *et al.*, 1998).

Como ya se ha indicado anteriormente, el Cd es un elemento no esencial, aunque Price y Morel (1990) encontraron que este metal puede actuar como un nutriente cuando el medio se encuentra limitado por Zn, mejorando así el crecimiento de diatomeas marinas. Por su parte Lee y Morel (1995) demostraron que bajo estas mismas condiciones, el Cd puede también mejorar el crecimiento de microalgas clorofitas y prymnesiofitas. Recientemente, Lane *et al.* (2005) descubrieron en la diatomea marina *Thalassiosira weissflogii* una anhidrasa carbónica que contenía Cd. Sin embargo, se trata de un elemento altamente tóxico para los seres humanos, los animales y las plantas, incluso a bajas concentraciones (Benavides *et al.*, 2005). Buena prueba del poder tóxico de este metal es la enfermedad Itai-Itai, una toxicosis causada por el Cd presente en las aguas residuales vertidas desde las refinerías de Pb y Zn en Japón hace 50 años (Kobayashi, 1971). Su acción tóxica es fundamentalmente sobre la función renal, así como sobre los tejidos pulmonar y óseo. El mecanismo de acción se asocia a la inhibición de enzimas que utilizan el Zn como cofactor, a la competencia con el Ca, alterando su metabolismo y el del P (Furness, 1996), así como a la inhibición de las enzimas que poseen grupos tiol. El Cd inhibe la fosforilación oxidativa, desacopla reacciones de óxido-reducción y fosforilación en la mitocondria, inhibe la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos y aumenta el catabolismo de ciertas proteínas reabsorbidas por el riñón (Bertin y Averbeck, 2006).

En organismos marinos, el Cd tiene el potencial de provocar importantes efectos tóxicos, como resultado de su bajo nivel de excreción y su progresivo poder de bioacumulación (Désy *et al.*, 2002; Wang y Rainbow, 2007; Landis *et al.*, 2011; Dabas *et al.*, 2012; Vellinger *et al.*, 2012a, b, 2013). Se trata de un tóxico inmunosupresor y teratógeno, que altera órganos como el riñón, hígado, branquias e intestino, provoca efectos adversos sobre el crecimiento, la reproducción y la osmorregulación (Ferm y Layton, 1981; Eisler, 1985; ATSDR, 1999b; Kim *et al.*, 2004). Causa daño y muerte celular (Benavides *et al.*,



2005), alterando el metabolismo energético y la respiración celular, con lo que disminuye significativamente el contenido de ATP celular (Martínez-Tabche *et al.*, 2000; Nicolau *et al.*, 2004). De acuerdo con varios autores (Thijssen *et al.*, 2007a,b; Gobe y Crane, 2010), el Cd induce daño mitocondrial, con muerte celular, ya sea por apoptosis o necrosis, siendo su toxicidad dependiente de su localización intracelular (Kamunde, 2009). En las membranas y en otros constituyentes celulares, el Cd causa importantes alteraciones estructurales y funcionales al unirse a ligandos que contienen grupos sulfidrilo (Landis *et al.*, 2011).

En general, cuando se produce una acumulación excesiva de Cd en los tejidos, se inducen procesos de oxidación, pudiendo por tanto, interferir con los mecanismos de defensa antioxidantes y estimular la producción de ROS, provocando estrés oxidativo (Stohs *et al.*, 1999, 2001; Van Der Oost *et al.*, 2003; Winston y Di Giulio, 1991). Finalmente se produce peroxidación de lípidos, desnaturalización de proteínas y daños en el ADN (Géret *et al.*, 2002; Company *et al.*, 2006; Corticeiro *et al.*, 2006). Según la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC, 2012), el Cd y sus compuestos están considerados como cancerígenos (grupo 1).

En una amplia variedad de organismos invertebrados acuáticos, tales como esponjas, moluscos, crustáceos y equinodermos, se ha observado que cantidades subletales de Cd alteran la tasa de crecimiento, la gametogénesis y la embriogénesis. Algunos de estos organismos son considerados como buenos bioindicadores para evaluar la contaminación del medio ambiente acuático. Por lo tanto, los efectos de Cd en estos organismos se han estudiado para determinar la perturbación del desarrollo embrionario, la inducción de proteínas de estrés, la expresión de genes, la desintoxicación o la apoptosis (Roccheri y Matranga, 2010). En moluscos bivalvos, incluso pequeñas cantidades pueden ser tóxicas (Landis *et al.*, 2011). Está demostrado que el Cd produce en bivalvos alteraciones fisiológicas y metabólicas, afectando a los procesos de transcripción y síntesis del ARN, al transporte a través de la membrana plasmática, a las funciones mitocondriales, así como a la estabilidad lisosómica (Vargas y Barracco, 2001; Cheung *et al.*, 2001; Zapata *et al.*, 2012).

### II.3.3. Cobre

El Cu, del latín *cuprum*, es un metal de transición utilizado desde la antigüedad. Su utilización para denominar etapas como la Edad del Cobre y la Edad del Bronce, nos dan una idea de la importancia que tuvo este mineral en la historia. Se ha utilizado para hacer objetos tan variados como monedas, vasijas, cañones, campanas, elementos de decoración, azulejos, cerámica, tuberías, etc. En la actualidad, es el tercer metal más utilizado en el mundo, tras el hierro y el aluminio. Su producción global como consecuencia de la actividad industrial ha aumentado de manera exponencial en los últimos 100 años (Lander y Reuther, 2004). Gracias a sus propiedades de conductividad, ductilidad y maleabilidad, es ampliamente utilizado en la industria eléctrica, como material de telecomunicaciones y en la industria del automóvil. Durante años, también se ha utilizado en abonos y plaguicidas en agricultura, como alguicida en la depuración de aguas, para el control del fitoplancton en estanques, embalses y lagos, así como en el control de malezas acuáticas (Effler *et al.*, 1980; Carbonell y Tarazona, 1993).

Más recientemente y tras las restricciones impuestas sobre el uso de óxido de tributilestaño (TBT) en pinturas antiincrustante de embarcaciones (Directiva 2002/62/CE de la Comisión; Orden PRE/375/2003), el uso de Cu como *antifouling* ha aumentado por su buena actividad como biocida (Yebra *et al.*, 2004; Cima y Ballarin, 2012). Esto motiva que en puertos deportivos haya una elevación de las concentraciones de Cu, generalmente después de las temporadas de navegación, llegando a concentraciones que suponen una amenaza potencial para organismos vivos como los moluscos bivalvos, los cuales aumentan la carga corporal de este elemento (Claisse y Alzieu, 1993; Höher *et al.*, 2012).

Por otro lado también se ha comprobado la presencia de altas concentraciones de Cu en zonas costeras con gran desarrollo minero, tales como Inglaterra, Canadá, Australia o Chile (Bryan y Langston, 1992; Stauber *et al.*, 2000; Marsden *et al.*, 2003; Lee y Correa 2007).

Normalmente las concentraciones de Cu en aguas marinas oscilan entre decenas y centenas de  $\text{ng L}^{-1}$  (Sadiq, 1992), llegando a alcanzar en aguas contaminadas concentraciones de hasta  $29 \mu\text{g L}^{-1}$  (McConchie *et al.*, 1988), lo que ocasiona una gran variedad de efectos nocivos en los organismos expuestos (Warnau *et al.*, 1996). Según diferentes autores, las concentraciones de Cu en aguas marinas no contaminadas son

inferiores a  $0.05 \mu\text{g L}^{-1}$ , mientras que en zonas contaminadas estos valores ascienden a  $1.3\text{-}6.7 \mu\text{g L}^{-1}$ , llegando a  $810\text{-}1,000 \mu\text{g L}^{-1}$  en zonas muy contaminadas (Koliadima y Karaiskakis, 1990; Belabed *et al.*, 1994; Saager *et al.*, 1997). Por tanto se puede afirmar que el Cu es un elemento común en los ambientes marinos (Viarengo *et al.*, 1994; IPCS, 1998; Piola y Johnston, 2006), y su elevada presencia constituye un grave problema ambiental en estos ecosistemas, lo cual ha generado un interés creciente en los últimos años (Kiaune y Singhasemanon, 2011).

El Cu es un metal esencial para los seres vivos, formando parte de importantes moléculas biológicas como hormonas, vitaminas, enzimas y complejos nucleoproteicos (Phillips, 1977), siendo necesario en concentraciones traza para el correcto funcionamiento de todos los organismos (Kiaune y Singhasemanon, 2011). Está involucrado en procesos metabólicos claves, interviniendo como cofactor, y siendo necesario en las funciones estructurales y catalíticas de importantes sistemas enzimáticos (lisil-oxidasa, tirosinasa, p-hidroxifenil piruvato hidroxilasa, dopamina beta hidroxilasa, Cu-Zn-superóxido dismutasa, citocromo C oxidasa, etc.) (Turnlund, 1999; Uauy *et al.*, 1998). El Cu también es necesario en la síntesis de hemoglobina (Sivaperumal *et al.*, 2007; Joksimovic *et al.*, 2011), y sobre todo de hemocianina (moluscos y crustáceos), proteína encargada del transporte de oxígeno y de la que forma parte (Markl, 2013; Soto *et al.*, 2013). Estas proteínas, aparte de estar involucrados en la respiración tienen otras funciones relacionadas con numerosos procesos fisiológicos e inmunológicos de los invertebrados (Paul y Pirow, 1998; Jaenicke *et al.*, 1999; Coates y Nairn, 2014).

En organismos superiores, el Cu se absorbe aproximadamente un 55-75% en el tracto gastrointestinal, desde donde es transportado unido a proteínas y pequeños péptidos vía sanguínea hacia el hígado, principal lugar de almacenamiento. Dentro de las células, el Cu forma complejos con glutatión y metalotioneínas (Harris, 2000; Mercer, 2001). El resto forma complejos con proteínas donde el metal actúa como cofactor en reacciones enzimáticas (Stern, 2010). En mamíferos la mayor parte del Cu se excreta por heces, y algo por orina.

En peces, la entrada de Cu se produce tanto vía digestiva como a través de las branquias, siendo está considerada como el mejor órgano para relacionar toxicidad y acumulación en especies marinas (Dang *et al.*, 2012). En mejillones, la entrada de Cu se produce a

través de branquias y de glándula digestiva, aunque su acumulación en estos órganos depende de la cantidad de material orgánica presente en la columna de agua (Sánchez-Marín *et al.*, 2012). En el caso de exposiciones cortas (24 horas), la transferencia desde la branquia al resto de tejidos es reducida, apareciendo en este órgano las mayores concentraciones (Sánchez-Marín *et al.*, 2012).

En organismos superiores la deficiencia de Cu no es habitual, aunque puede presentarse en casos de malnutrición, sobreexceso de molibdeno o un consumo excesivo de Zn (Maret y Standstead, 2006). Por el contrario, una cantidad de Cu por encima del nivel máximo de seguridad (estimado en 10 mg de Cu/día), puede provocar síntomas digestivos como náuseas, vómitos, etc. Estudios epidemiológicos realizados sobre hombre y animales no han encontrado relación alguna entre exposición a cobre y cáncer (ATSDR, 2004a). Entre las enfermedades hereditarias por el metabolismo de este metal destacan la enfermedad de Menkes y sobre todo la enfermedad de Wilson.

La mayoría de las teorías propuestas que tratan de explicar la toxicidad celular del Cu están basadas en la predisposición que tienen los iones de este elemento para formar parte de ROS (Gaetke y Chow, 2003). Una de las consecuencias más conocidas a nivel celular es el daño en los lípidos de membrana (per oxidación lipídica), el cual se produce por reacción de los lípidos con el oxígeno para formar radicales peróxido (Chow, 1979; Powell, 2000). Esto provoca alteraciones en la permeabilidad y fluidez de la membrana, aunque también puede ocasionar directamente daño en el ADN (Mattie y Freedman, 2001). Finalmente, en el ser humano el Cu también está implicado en la patogénesis de enfermedades neurodegenerativas como Parkinson, Alzheimer y Esclerosis Lateral Amiotrófica (Bains y Shaw, 1997; Smith *et al.*, 1997; Cookson y Shaw, 1999; Sayre *et al.*, 2000; Strausak *et al.*, 2001).

Al igual que en especies terrestres, en organismos marinos los niveles de Cu están estrictamente regulados. Sin embargo, exposiciones a altas concentraciones pueden ser tóxicas (White y Rainbow, 1985; Viarengo, 1989; Arnold *et al.*, 2010; BurrIDGE *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2012). Además, según Wright y Welbourn (2002), los peces, los crustáceos y las algas son 10-1,000 veces más sensibles que los mamíferos, y las especies de fitoplancton tienen diferentes sensibilidades a la toxicidad por cobre (Brand *et al.*, 1986;

Beck *et al.*, 2002). De los metales comunes, el Cu es el que tiene el margen más estrecho entre esencialidad y toxicidad (Sánchez-Marín, 2010).

En los organismos acuáticos, el contenido de Cu viene determinado sobre todo por la concentración presente en el medio ambiente, considerándose que por debajo de 34 mg de cobre por Kg de sedimento seco son escasos los daños observados en la biota (Byrkit, 1975), mientras que cuando se superan los 270 mg Cu kg<sup>-1</sup> los daños son más patentes (Long *et al.*, 1995). No obstante, en la toxicidad del Cu influyen numerosos factores, tanto abióticos (solubilidad del metal, especiación, formación de complejos, etc.), como bióticos (crecimiento, condición reproductiva, metabolismo, etc.), estando su bioacumulación influenciada por la salinidad y la temperatura (Soto *et al.*, 2013). La concentración letal 50 (CL 50) del Cu en especies marinas varía de 5 a 100,000 g L<sup>-1</sup> (US EPA, 1985; US EPA 1995), y su toxicidad se debe principalmente a su rápida unión con la membrana branquial, la cual pierde su capacidad para transportar sales, alterando sistemas como el cardiovascular o el nervioso (Fernández, 2012b). En moluscos, el Cu se acumula en los tejidos blandos, afectando a las respuestas enzimáticas a diferentes niveles (Mazorra *et al.*, 2002; Jing *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2009a). También se ha descrito que afecta a los sistemas antioxidantes de numerosas especies (Regoli *et al.*, 1998; Jiang y Niu, 2006; Jing *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2009a), y en el caso del *M. galloprovincialis*, interfiere con la homeostasis del Ca<sup>2+</sup> en las branquias, causando alteraciones en la Na/K-ATPasa y en la Ca<sup>2+</sup>-ATPasa (Viarengo *et al.*, 1996).

## II.4. Vigilancia ambiental

### II.4.1. Programas oficiales

Durante décadas ha existido una preocupación constante por preservar el entorno marino de las amenazas que le acechan. En este tiempo, numerosos los organismos e instituciones internacionales han abordado esta problemática, elaborando una amplia legislación internacional para el control de la contaminación. En esta línea de intereses, España forma parte de un importante número de convenios para la protección del mar, entre los que cabe destacar los siguientes:

- Convenio de Londres (1972), sobre la prevención de la contaminación del mar por vertimiento de desechos y otras materias. Este convenio tiene 87 países firmantes y su finalidad es promover un control efectivo de todas las fuentes de contaminación del medio marino.
- Convenio de Barcelona (1976), para la protección del medio marino y la región costera del Mediterráneo. Contiene varios protocolos de actuación y de prevención de la contaminación por vertidos desde buques, facilitando la cooperación para combatir la contaminación en situaciones de emergencia, la contaminación de origen terrestre y sobre áreas protegidas, entre otras.
- Convenio de Bonn sobre conservación de especies migratorias (1979), con diferentes acuerdos, entre los que destaca el de conservación de cetáceos (ACCOBAMS), y el de albatros y petreles (ACAP).
- Convenio Internacional sobre Cooperación, Preparación y Lucha contra la Contaminación por Hidrocarburos (Convenio OPRC, 1990), ampliado posteriormente en el año 2000 con el protocolo HNS (“Hazardous and Noxious Substances”), sobre sustancias nocivas y potencialmente peligrosas.
- Convenio OSPAR sobre la protección del medio ambiente marino del Atlántico Nordeste (1992), resultado de la fusión de los dos convenios anteriores, el de Oslo, para la protección de la contaminación marina provocada por vertidos desde buques y aeronaves, y el de París, para la prevención de la contaminación marina de origen terrestre. Su estrategia para el periodo 2010-2020 es conservar los ecosistemas marinos, la salud humana y restaurar las áreas marinas que hayan sido

afectadas negativamente por la actividad humana. En este periodo se establecen también unos objetivos estratégicos, como proteger y conservar los ecosistemas mediante una lista de especies y hábitats amenazados, luchar contra la eutrofización, prevenir y combatir la contaminación con la reducción de las descargas y emisiones, y manteniendo una “Lista OSPAR de sustancias peligrosas de acción prioritaria” y una “Lista OSPAR de sustancias que son motivo de preocupación”.

Especial consideración merece la Convención de las Naciones Unidas sobre el Derecho del Mar, firmada en 1982 y considerada como la “Constitución de los Océanos”. En esta se establecen normas de regulación de todos los océanos, consagrándose la idea de que todos los problemas de los océanos están estrechamente relacionados entre sí y que deben abordarse como un todo (ONU, 1982).

Por su parte, la Unión Europea aborda la política del medio marino con la Directiva 2008/56/CE de 17 de junio, transpuesta al ordenamiento jurídico español mediante la Ley 41/2010, de 29 de diciembre, de Protección del Medio Marino, donde se plantean como principales objetivos la conservación, la protección y la mejora de estos ecosistemas. En este sentido y con el objetivo de lograr o mantener un buen estado ambiental de estos entornos (a más tardar en 2020), se crean las Estrategias Marinas como herramientas de planificación del medio marino, abordando por zonas marítimas (demarcaciones noratlántica, sudatlántica, Estrecho y Alborán, levantino-balear y canaria), la evaluación inicial del estado ambiental de las aguas, la definición de buen estado ambiental, la fijación de unos objetivos medioambientales, el establecimiento de programas de seguimiento y la puesta en marcha de programas de medidas. Otras normas relacionadas con la gestión de los espacios marinos son las siguientes: Real Decreto 715/2012, de 20 de abril, por el que se crea la Comisión Interministerial de Estrategias Marinas, que tiene como función coordinar la elaboración, aplicación y seguimiento de la planificación del medio marino, y la Orden AAA/705/2014, de 28 de abril, por la que se crean los Comités de Seguimiento de las estrategias marinas y se regula su composición, funciones y régimen de funcionamiento.

La primera de las tareas definidas en las Estrategias Marinas consistió, tal y como indica el Preámbulo de la Ley 41/2010, en la evaluación inicial del estado del medio marino,

incluyendo las características naturales, las presiones y los impactos ambientales, entre otros. De esta manera se considera en los anexos bajo el epígrafe “Listas indicativas de características, presiones e impactos”, la contaminación por sustancias peligrosas como plaguicidas, sustancias antiincrustantes, hidrocarburos o metales pesados.

Así pues y siguiendo las recomendaciones del programa CEMP y pre-CEMP (Coordinated Environmental Monitoring Programme) de OSPAR, y del grupo de expertos del grupo WGBEC (Working Group on Biological Effects of Contaminants) del ICES (International Council for the Exploration of the Sea), a través de las Estrategias Marinas se evalúan los efectos biológicos asociados a la contaminación química (ICES, 2012), incluyendo tanto respuestas a niveles bajos de organización biológica (alteraciones bioquímicas), como respuestas a nivel de individuo (bioensayos y efectos en el balance energético). Ello permite establecer si los organismos han estado expuestos a sustancias tóxicas, así como la existencia de alteraciones tempranas que puedan dar lugar a efectos perjudiciales sobre los organismos marinos.

Previamente a estas estrategias marinas, uno de los programas de monitorización de contaminantes más conocido fue el propuesto por Goldberg en 1975, denominado “Mussel Watch”. Este programa fue creado en 1986 por la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica (NOAA) en los Estados Unidos. Se trata de un programa integrado que se basa en la vigilancia, evaluación e investigación del medio ambiente marino, con el fin de describir el estado actual de la contaminación y poder así detectar cambios en la calidad ambiental de los estuarios y de las aguas costeras. Este programa fue desarrollado como un ambicioso proyecto para analizar las tendencias de más de 100 contaminantes orgánicos e inorgánicos en invertebrados (moluscos bivalvos), donde se incluyen hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), bifenilos policlorados (PCB), diclorodifeniltricloroetano (DDT) y sus metabolitos y oligoelementos tóxicos entre otros.

Desde entonces se han implementado con éxito programas nacionales y regionales en diversas partes del mundo, desde España hasta Australia, pasando por Francia, Reino Unido, India, Canadá, Sudáfrica, China, etc. (Przytarska *et al.*, 2011), generando a su vez programas internacionales a gran escala que abarcan otras grandes áreas o regiones completas, como el Mediterráneo (mediante el “Mediterranean Mussel Watch”, MMW) (CIESM, 2002), o la zona del Pacífico y Asia (APMW o “Asia-Pacific Mussel Watch



program”). Todas estas actividades están interrelacionadas y diseñadas para proporcionar, cuantificar y evaluar las tendencias espaciales y temporales de la contaminación costera, así como para proporcionar una línea de base en la evaluación de los impactos ocasionados por los fenómenos naturales y antropogénicos a nivel mundial.

Respecto a los metales cabe decir que en las últimas décadas se han establecido numerosos programas nacionales e internacionales para identificar de forma eficiente y precisa la contaminación por estos. En ellos se utilizan organismos centinela y bioindicadores para determinar la calidad de las aguas costeras, llevándose a cabo estudios de biomonitorización a lo largo de todo el mundo y siendo numerosos los trabajos publicados en revistas internacionales.

#### II.4.2. Biomonitorización de la contaminación

La biomonitorización es una técnica científica imprescindible en la evaluación del medio ambiente, basada en el muestreo y análisis de tejidos y fluidos de organismos vivos (Zhou *et al.*, 2008). Representa una herramienta útil para cuantificar y definir el estado de salud del medio natural, y en ecosistemas marinos es considerada una técnica de gran valor, necesaria para conocer la calidad de las aguas costeras y los cambios en el ecosistema debidos generalmente a causas antropogénicas. Además, la información aportada es considerada clave para formular medidas de control y de protección de los ecosistemas específicos y vulnerables, tales como las zonas costeras y de estuarios, así como las aguas de transición, todas ellas influenciadas por diversas actividades antrópicas (Spada *et al.*, 2013).

En el litoral español se realizan estudios sistemáticos de la contaminación, dando respuesta a los compromisos derivados de la firma de los convenios OSPAR y MEDPOL. Según Zhou *et al.* (2008), la monitorización y prevención de la contaminación por metales pesados es uno de los temas más importantes en investigación medioambiental, estando pues incluido en los estudios que cinco demarcaciones españolas realizan en cumplimiento de las correspondientes estrategias marinas. Así, en el Atlántico Norte, la monitorización de la contaminación se realiza en base a lo indicado en el Joint Assessment and Monitoring Programme (JAMP) y enmarcado en el Coordinated Environmental Monitoring Programme (CEMP), el cual se centra en la biomonitorización

de las concentraciones de metales pesados, PAHs, PCBs y retardantes de llama y el TBT en sedimentos y biota, así como de los efectos de la eutrofización en el medio marino. Estos mismos contaminantes son evaluados igualmente en las demarcaciones Levantino-Balear, Estrecho y Alborán (MEDPOL), así como en las Sudatlántica y Canaria.

La bibliografía relativa a estudios de biomonitorización de metales pesados en ecosistemas marinos es muy extensa, aplicándose sobre diferentes organismos (plancton, insectos, moluscos, peces, anfibios, etc.) y mediante diferentes métodos o técnicas (bioacumulación, alteraciones bioquímicas, morfológicas, etc.), dependiendo todo del objetivo del estudio (análisis de dinámica de organismos contaminados, contenido de metales, actividades enzimáticas, histopatología, etc.) (Zhou *et al.*, 2008).

#### II.4.3. Bioindicadores: características generales

Los programas de monitorización de la contaminación ambiental utilizan numerosos organismos en el seguimiento y detección de los contaminantes en las regiones costeras. (Chase *et al.*, 2001; Green y Knutzen, 2003; Andral *et al.*, 2004; Camus *et al.* 2004; Carro *et al.*, 2004; Gil *et al.*, 2006), ya que éstos ofrecen una serie de ventajas respecto al agua o los sedimentos, aportando una importante información sobre la biodisponibilidad de los contaminantes (Cossa, 1989). Las especies seleccionadas para satisfacer este objetivo son conocidas como organismos “bioindicadores” o “biomonitores”. Según Markert (2007), un bioindicador es un organismo (o parte de un organismo o una comunidad de organismos) que contiene información sobre la calidad del medio ambiente, mientras que cuando dicha información es sobre aspectos cuantitativos de la calidad, hablamos de organismo biomonitor. De acuerdo con la definición de Blandin (1986), un bioindicador o indicador biológico es un organismo o un conjunto de organismos que permite, de forma práctica y segura, y en referencia a variables bioquímicas, citológicas, fisiológicas, ecológicas o etológicas, caracterizar el estado de un ecosistema, con el objeto de resaltar lo antes posible sus cambios, tanto los de origen natural como los causados de forma artificial. De esta forma, los bioindicadores permiten con precisión evaluar los efectos de las actividades antropogénicas sobre los ecosistemas (Richir, 2012).

No obstante, para que un bioindicador sea considerado como ideal, ha de satisfacer varios requisitos (Cossa, 1989; Rainbow y Philips, 1993), a saber:

- el organismo debe ser un fuerte acumulador de los contaminantes, y no debe regular en sus tejidos corporales la concentración total de contaminantes,
- debe ser sedentario, con el fin de ser un auténtico representante del área de estudio,
- debe ser razonablemente abundante en los sitios de interés,
- debe tener una vida suficientemente larga para permitir el muestreo durante más de un año,
- debe ser lo suficientemente grande como para proporcionar una adecuada cantidad de muestra para los análisis químicos,
- debe bioacumularse lo suficiente para permitir la medición directa sin necesidad de realizar una preconcentración,
- debe ser resistente al estrés causado por el manejo ocasionado en los estudios de laboratorio y de campo,
- debe existir una correlación entre el nivel de contaminantes en el organismo y en el medio ambiente circundante, y
- debe ser tolerante con las variaciones ambientales de parámetros fisicoquímicos, y los efectos sobre el organismo de estas variaciones deben ser conocidos.

No hay una sola especie que reúna todas estas cualidades, y en este sentido, Goldberg sugirió en 1975 el uso de mejillones del género *Mytilus* como la primera etapa de un extenso programa de monitorización del medio ambiente marino. Desde entonces, numerosas especies, desde organismos unicelulares hasta los grandes depredadores, han sido usados en todo el mundo como bioindicadores para monitorizar los ecosistemas marinos, ya que cada bioindicador posee unas características especiales en comparación con el resto (Zhou *et al.*, 2008).

De acuerdo con la revisión hecha por Burger (2006) sobre el uso de bioindicadores, alrededor del 40% de los estudios se refieren a la contaminación por metales, donde plantas, invertebrados, peces y mamíferos son los más utilizados. En la contaminación marina las especies utilizadas pertenecen a numerosos grupos taxonómicos, tales como micro y macroalgas, pastos marinos, ascidias, esponjas, bivalvos, gasterópodos, moluscos, poliquetos, crustáceos, peces, aves marinas, reptiles y mamíferos marinos (Richir, 2012).

#### II.4.4. *Mytilus* spp. como especie centinela

Los moluscos bivalvos son con diferencia, los organismos más utilizados en los programas de vigilancia para el seguimiento y detección de los niveles de contaminantes en las regiones costeras (Boening, 1999; Kádár *et al.*, 2002; Acosta y Lodeiros, 2004; Yusof *et al.*, 2004; De Luca-Abbott *et al.*, 2005; Box *et al.*, 2007). Su uso ha sido muy recomendado por organizaciones y convenciones internacionales, como la Comisión OSPAR, la Convención de Barcelona y la Comisión de Helsinki entre otras, siendo numerosos los trabajos publicados al respecto. Entre ellos destacan las ostras (*Ostrea edulis*), ostiones (*Crassostrea virginica*, *C. angulata* y *C. gigas*) y en particular, las especies de mejillones pertenecientes a la familia Mytilidae (*Mytilus edulis*, *M. trossulus*, *M. galloprovincialis*, *M. californianus*, *Perna viridis* y *P. perna*). El uso de este último grupo como especie centinela surge a mediados de los años 70 con los trabajos de Goldberg (1975) y Philips (1976), siendo actualmente los más utilizados en monitorización, sobre todo las especies *M. edulis*, *M. galloprovincialis* y *P. viridis*. Estas especies son consideradas los organismos bioindicadores por excelencia en la evaluación de la calidad del ambiente marino, ya que cumplen una serie de requisitos de gran interés en el establecimiento del grado de contaminación y del estado de salud de los ecosistemas marinos (Tenabe, 2000; Chase *et al.*, 2001; O'Connor, 2002; Adami *et al.*, 2002; St-Jean *et al.*, 2003; Nicholson, 2003; Ozlem y Gorkem, 2004; Zapata-Vívenes, 2005; Deudero *et al.*, 2007a,b; Cardellicchio *et al.*, 2008). Las características que hacen que estas especies sean así consideradas son las siguientes:

- Su distribución geográfica es muy amplia, abarcando desde aguas templadas (*M. edulis*), subtropicales (*M. galloprovincialis*) y tropicales (*P. viridis*). Los mitílidos están muy extendidas y son comunes en ambos lados de los Océanos Atlántico y Pacífico, incluyendo zonas como el Ártico (Zatsepin *et al.* 1988; Gosling 1992; Seed, 1992; Szefer *et al.*, 2002, 2006). El hábitat costero intermareal en donde se encuentran, suele presentar permanentes problemas de contaminación (Viarengo y Canesi, 1991; Regoli y Principato, 1995; Boening, 1999).
- Su naturaleza sedentaria, es decir, su carácter sésil, motiva el hecho de que no pueden moverse a otra ubicación aunque su medio ambiente se haya contaminado.
- Su capacidad filtradora favorece la entrada de los contaminantes en el agua (Pichaud *et al.*, 2008).

- Presentan un fácil manejo y aclimatación a condiciones experimentales (Rodríguez *et al.*, 2005), a la vez que su abundancia permite conseguir numerosos individuos sin perjudicar las poblaciones.
- Su vida media es larga, con lo que pueden proporcionar información sobre si un sistema se recupera y si un esfuerzo de remediación o limpieza es eficaz.
- Presentan una elevada capacidad de acumular una amplia variedad de compuestos orgánicos y sustancias químicas, lo que permite el seguimiento de los cambios en los niveles de contaminación ambiental mediante el análisis de sus tejidos. Además pueden tolerar y depurar, siendo esta actividad mayor que en peces y crustáceos (Phillips, 1976).

Estos organismos son los más utilizados para estimar el grado y efecto de los metales pesados en los ecosistemas marinos, debido a la capacidad que tienen de tolerar, acumular y depurar altas concentraciones de estos (Pan y Wang, 2008; Voets *et al.*, 2009). Así, los metales que se encuentran biodisponibles en el entorno acuático son absorbidos por estos organismos a partir del agua y del fitoplancton, así como a partir de otras partículas en suspensión (George, 1980). Estos metales son incorporados fácilmente mediante mecanismos de difusión pasiva, fundamentalmente a través del epitelio branquial. Posteriormente son transportados a través de la hemolinfa a los diferentes compartimientos tisulares, sobre todo al hepatopáncreas, el manto y otros tejidos, donde existe la mayor concentración de metales (Lemus *et al.*, 2010). Sin embargo la relación entre la concentración de un metal en la fase acuosa y en el organismo bioindicador no es tan sencilla, dependiendo de numerosos factores, externos e internos. Los procesos de bioacumulación están influenciados por factores relacionados con el medio ambiente como, el pH, la estacionalidad (Rodríguez, 2010), temperatura (Phillips, 1976), la salinidad del medio (Lee *et al.*, 1998), la concentración del metal en el medio (Scholz, 1980; Ritz *et al.*, 1982), y la posición que ocupan en la zona intermareal (Cossa, 1989). También influyen numerosos parámetros biológicos, mutuamente dependientes, como la edad (etapa de madurez), el tamaño (talla), el peso, el sexo y el estado reproductivo (ciclo de desove) (Laurent, 2009; Soldevilla, 2010; Richir y Gobert, 2014). Finalmente la acumulación de metales en los mejillones depende también del equilibrio entre la captación de alimentos, la excreción y almacenamiento (Casas *et al.*, 2008), siendo diferente según el compartimento considerado (Richir y Gobert, 2014).

En la biomonitorización con mejillones se aceptan dos estrategias diferentes. Así pues hay investigadores que utilizan poblaciones indígenas de mejillón silvestre o cultivado (*biomonitorio pasivo*) (Claisse, 1989; Goldberg, 1975), mientras que otros se basan en transplantar los individuos desde un sitio de referencia (*biovigilancia activa*) (De Kock, 1983; Fabris *et al.*, 1994).

Para terminar, cabe decir que en el género *Mytilus* hay especies con un alto valor comercial a nivel mundial (Farrington, 1983), debido a su gran consumo en determinadas zonas del planeta. Por ello, los bivalvos no solo se utilizan como bioindicadores, ya que su estudio además permite evaluar posibles riesgos para la salud derivado de su consumo, unas veces por episodios agudos tan conocidos como las mareas rojas, y otras veces (como es en el caso de los metales) por efectos a largo plazo tras exposiciones crónicas a bajas dosis (Cardellicchio *et al.*, 2010).

## II.5. Mejillones: biología, anatomía y fisiología

Los moluscos (del latín *molluscum*) constituyen el segundo gran *phylum* del reino animal (Mollusca). Con más de 100,000 especies (Osca *et al.*, 2014), son el grupo de invertebrados más numeroso después de los artrópodos, agrupándose en ocho clases (Beesley *et al.*, 1998; Ponder y Lindberg, 2008; Haszprunar y Wanninger, 2012): Caudofoveata o Chaetodermomorpha, Solenogastres o Neomeniomorpha, Monoplacophora, Polyplacophora, Scaphopoda, Cephalopoda, Gastropoda y Bivalvia, esta última clase con más de 13,000 especies. Ocupan hábitats muy diversos: desiertos, zonas polares, trópicos y grandes profundidades oceánicas, aunque es en las lagunas litorales donde alcanzan su máxima diversidad y función (Baquero Cárdenas *et al.*, 2007).

Dentro de la clase Bivalvia, los géneros más estudiados son *Perna* y *Mytilus*. El género *Perna* está presente en aguas tropicales y subtropicales, siendo las especies más características el *Perna perna* (mejillón marrón) y el *Perna viridis* (mejillón verde). Por su parte, el género *Mytilus* tiene como especies más representativas el *Mytilus edulis* (mejillón azul), que se distribuye desde Portugal hasta el mar del norte, ocupando las costas atlánticas de Francia, Reino Unido, Irlanda y Holanda, y el *Mytilus*

*galloprovincialis* (mejillón silvestre), que ocupa el mar Mediterráneo y las costas de Marruecos, Portugal y Galicia en el Océano Atlántico (Camacho, 1991). El mejillón silvestre es desde hace años, el organismo de elección en los programas de vigilancia ambiental en el litoral español. Su clasificación taxonómica, según el Sistema de Información Taxonómica Integrado (ITIS, Integrated Taxonomic Information System, <http://www.itis.gov>), es la siguiente:

Reino	Animalia
Subreino	Bilateria
Infrarreino	Protostomia
Superfilo	Lophozoa
Filo	Mollusca
Clase	Bivalvia Linnaeus, 1758
Subclase	Pteriomorphia Beurlen, 1944
Orden	Mytiloida Ferussac, 1822
Familia	Mytilidae Rafinesque, 1815
Genero	Mytilus Linnaeus, 1758
Especie	<i>Mytilus galloprovincialis</i> Lamarck, 1819

Los mejillones viven en zonas intermareales y submareales, de baja profundidad, formando colonias compactas que se adhieren firmemente a cualquier superficie (rocas, grietas, hendiduras, cascos de barcos, etc.). Toleran temperaturas de 0 a 26°C, siendo la temperatura óptima entre 10 y 20°C, así como salinidades variables, siendo óptima entre 30 y 40% (Tirado y Macías, 2006).

El mejillón (Figura 1) posee un cuerpo blando, protegido por dos valvas simétricas, ovaladas y convexas que se unen en el dorso por una banda no calcificada denominada “ligamento”, y que se cierran por la acción de los músculos aductores (anterior y posterior) que las unen. Su forma es puntiaguda en el extremo anterior o “umbo” y ancha en la posterior. La superficie externa de la valva (periostraco) es de color negro-azulado y presenta abundantes estrías concéntricas que representan las distintas etapas de crecimiento. En la pared interna, de color violáceo-nacarado, destacan las inserciones de

los músculos aductores. Las valvas, cuya composición es mayoritariamente a base de carbonato cálcico, se articulan entre sí por un sistema a modo de bisagra llamada “charnela”, en la que los dientes de una de las valvas encajan en alvéolos de la valva opuesta, permitiendo la apertura para la alimentación y el cierre para protegerse de depredadores o de la desecación en la marea baja.

Desde la concha hacia la parte media del animal pueden apreciarse las siguientes estructuras: manto, branquias y masa visceral.

El manto o *pallium* (del latín “capa o manta”) (Figura 1B) es el tejido carnoso que envuelve a los órganos internos de todos los moluscos y que se encarga principalmente de fabricar y mantener la concha (Field, 1992), estando adherido a ella por una capa muscular de color oscuro conocida como “borde del manto”. Además, el manto actúa como tejido de reserva energética de glucógeno en determinadas situaciones (Gimeno *et al.*, 1997; Norelys, 2011), pudiendo tener también funciones sensoriales (percibe estímulos y los transmite al sistema nervioso), respiratorias (facilita el intercambio de gases entre la superficie de los tejidos y el agua circundante) y de control de la entrada y salida de agua en la cavidad corporal (Helm y Bourne, 2006; Norelys, 2011). También ayuda en el desprendimiento de los huevos durante el desove (Cannuel *et al.*, 2009). Se trata de una estructura compuesta por dos lóbulos unidos desde el extremo anterior al posterior a lo largo de la línea dorsal y que envuelve, sirviendo de sostén, a la cavidad paleal, lugar donde se encuentran los órganos o vísceras internas (branquias, intestino, gónadas, etc.). La zona ventral del manto está abierta, distinguiéndose un sifón inhalante, para la entrada de agua, y un sifón exhalante en la zona posterior, que permite la salida de esta. Su coloración y grosor varían de acuerdo al estado de actividad, dependiendo en concreto del estadio sexual en el que se encuentren (Marcano, 2004; Norelys, 2011).

Las branquias (Figura 1B), del tipo filibranquia, son dos finas láminas de color pardo, muy desarrolladas y ubicadas a cada lado del animal. Cada una está compuesta por dos demibranquias formadas a su vez por dos lamelas (ascendente y descendente), constituidas por filamentos alargados que presentan zonas ciliadas cuya función es crear flujos de agua unidireccionales (Filgueira, 2007). Estas branquias, también denominados “ctenidios” por su forma de pluma o peine, tienen una doble función, respiratoria y alimenticia, filtrando el agua y atrapando las partículas en suspensión (materia orgánica



y fitoplancton), lo cual hace que los mejillones sean organismos filtradores por excelencia (Urbano *et al.*, 2005; Acosta *et al.*, 2009).

La filtración, como tantos otros procesos biológicos, está influenciada por diversos aspectos (Santiago, 2007), como son el tamaño corporal (los mejillones de menor tamaño tienen, en relación con su tamaño, una tasa de filtración mayor que los grandes), la disponibilidad de alimento (si esta es escasa, la velocidad de filtración aumenta) o la temperatura (la filtración disminuye con el descenso de la temperatura) (Neira *et al.*, 1990; Camacho, 1991). No obstante, no todas las partículas que lleva el agua son retenidas a este nivel. Así pues, las partículas menores de 3µm, pueden atravesar los poros de las branquias sin ser retenidas, mientras que las más grandes o más pesadas, son expulsadas al exterior (Camacho, 1991). Se ha calculado que un mejillón es capaz de filtrar de 0.5 a 7 litros de agua por hora (4-5 litros si es de talla media) (Tirado y Macías, 2006). Esto implica que durante todo su ciclo vital, desde que mide 20 milímetros hasta que alcanza los 8 centímetros, han pasado por su interior entre 20 y 23 metros cúbicos de agua (Santiago, 2007).

Existen diversas teorías que tratan de explicar el mecanismo de captura y transporte de las partículas. La más conocida y aceptada es la denominada “cirral trapping” (Riisgård y Larsen, 2010), la cual considera los flujos de agua con partículas que en distintas direcciones, generan las bandas de cilios. Otras teorías proponen que los cilios actúan como un tamiz (Dral, 1967; Ribelin y Collier, 1977), que el efecto es por gravedad o por atracción electrostática (Rubenstein y Koehl, 1977; LaBarbera, 1984), o por hidrodinamismo por el movimiento de los cilios (Jørgensen, 1981).

La constitución histológica de las branquias en forma de hojas de filamentos doblados en forma de W y conectados entre sí por penachos de cilios (Cannuel *et al.*, 2009) le confieren a los moluscos bivalvos, en general, y particularmente a los mejillones, el calificativo de ser excelentes indicadores de contaminación (Baquero *et al.*, 2007), siendo por ejemplo muy sensibles a compuestos que contengan Pb o sustancias organofosforadas (Norelys, 2001).

Una vez retenidas las partículas, se produce un proceso de selección preingestiva mediante el cual el mejillón optimiza la ingestión. Además, tras esta captura preferencial hay una selección y transporte a través de unas estructuras ciliadas especializadas, denominadas “palpos labiales” (Figura 1D), las cuales rechazan algunas partículas envueltas en una pelota de mucopolisacáridos o “pseudoheces” (Ward y Shumway, 2004). No obstante se necesitan más estudios para aclarar los mecanismos responsables de esta selección de partículas, así como los factores intrínsecos y extrínsecos que median estos procesos (Ward y Shumway, 2004).

En la masa visceral se encuentran el resto de los órganos del mejillón: aparato digestivo, pie, glándula de biso, bolsa de Polichinela, aparato excretor y aparato circulatorio.

El aparato digestivo incluye la boca (con forma de estría transversal y rodeada de cuatro palpos labiales, Figura 1D), esófago, estómago, hepatopáncreas o glándula digestiva (en posición dorsal) y ano (cercano al músculo aductor posterior). Las partículas ingeridas pasan al estómago, saco membranoso donde actúan las enzimas digestivas y de donde nacen dos conductos ciegos que se ramifican y que constituyen la glándula digestiva o hepatopáncreas (Figura 1A), de color verde-negruzco, donde se absorbe parte del alimento para depositarse en las células de reserva del manto. Finalmente los desechos son eliminados a través de un divertículo intestinal que termina en el ano (Laxton, 1967; Holopainen y López, 1989; Field, 1992).

El pie (Figura 1C), es un órgano musculoso redondeado y alargado de color negro, muy atrofiado en el mejillón respecto a otros bivalvos. Sirve sobre todo para la locomoción, siendo prácticamente nulo en el estado adulto. La glándula de biso (Figura 1A) se encuentra situada en la base del pie, y es la encargada de segregar filamentos córneos de naturaleza proteica por donde el mejillón se fija al sustrato.

La bolsa (joroba) de Polichinela (Figura 1A), es la parte donde se encuentran las gónadas o glándulas genitales, la cual tiene color blanquecino en las hembras y anaranjado en el macho. A ambos lados de esta bolsa se abre el aparato excretor, formado por las glándulas pericárdicas y dos riñones de color parduzco, desde donde son expulsados al exterior las sustancias de desecho.

El aparato circulatorio está formado por el corazón, el sistema arterial y el venoso, siendo su principal función la de distribuir por todo el cuerpo el alimento y el oxígeno. Del corazón, constituido por un ventrículo y dos aurículas, salen dos arterias que se ramifican y acaban formando las venas que llevan la sangre a las branquias donde se oxigena para posteriormente volver al corazón.

El sistema nervioso es de tipo ganglionar, y está formado por tres ganglios (cerebral, visceral y pedial), conectados entre sí y de los que nacen numerosos nervios que se extienden por todo el cuerpo (Santiago, 2007). Otros órganos de los sentidos son los “tentáculos del manto” (permiten detectar variaciones en la composición del agua) y los “estatocitos” (responsables del equilibrio) (Camacho, 1991).

Los mejillones, como la mayoría de las especies de moluscos, son organismos dioicos, es decir, tienen sexos separados (ovarios y testículos). Las etapas de maduración sexual han sido ampliamente estudiadas (Lowe *et al.*, 1982; Field, 1992; Norelys, 2011). En las hembras los ovarios ocupan gran parte del manto, y dependiendo del estadio de desarrollo de sus ovocitos, hacen que el manto cambie sucesivamente de color blanco a amarillo pálido, y este a amarillo intenso o naranja brillante. Una vez que han desovado, la voluminosidad y coloración del manto disminuyen, apareciendo flacidez y palidez del tono amarillo con algunos restos de color naranja. Por su parte, el tejido gonadal de los machos varía según el estadio de gametogénesis, pudiendo ser desde el beige, al blanco crema (González y Sarasquete, 1990; Marcano, 2004; Norelys, 2011). Finalmente, los distintos tonos de coloración que denotan los gametos se deben principalmente a la cantidad de sustancias nutritivas que se encuentran presentes en el manto, lo cual establece la calidad ácida o básica que éstos presentan a medida que maduran (Marcano, 2004).

La fecundación es externa, en la que machos y hembras vierten los espermatozoides y los óvulos al agua, generalmente en primavera-verano (Cáceres-Martínez y Figueres, 2007). Según varios autores (Seed, 1976; Sastry, 1979), existe una relación estrecha de la fecundación con las condiciones ambientales, sobre todo la temperatura y la disponibilidad del alimento. Las larvas formadas pasan de una fase libre denominada “trocofora” (2 días) a larva “velinger”, que después de 50 días aproximadamente, se fija a un sustrato o roca por secreción del bisco, donde puede quedar de por vida. Aunque el

crecimiento de los mejillones depende de la cantidad y calidad de alimento ingerido, se trata de un proceso muy sensible a determinados factores ambientales, de tal forma que los periodos de desecación, las oscilaciones de temperatura y de salinidad y la acción mecánica del oleaje, tienen una influencia negativa en la actividad filtradora, además de afectar a la producción de fitoplancton en el mar (Santiago, 2007).

Con respecto a la participación de los metales y metaloides en la fisiología de los organismos marinos, cabe decir en primer lugar que todo ser vivo utiliza elementos inorgánicos para el normal desarrollo de sus procesos biológicos. Al igual que en organismos terrestres, diversos metales y metaloides participan en muchas de las funciones vitales de las especies marinas, por lo que comúnmente se les denomina “minerales esenciales”. Según Lall (2002), 29 elementos de la tabla periódica son reconocidos como esenciales para la vida animal. Se trata de componentes necesarios tanto para el adecuado crecimiento del organismo como para su reproducción y por tanto, fundamentales para el mantenimiento de una buena salud durante toda la vida, independientemente de la especie animal de que se trate. Así pues, muchas son las funciones en las que se ha descrito su participación: actúan como componentes estructurales en órganos y tejidos, sirven como electrolitos en los fluidos corporales y actúan como catalizadores en sistemas enzimáticos y endocrinos.

Los minerales esenciales clásicamente son clasificados en dos grupos, en función de las cantidades que el organismo necesita: *macrominerales*, cuando esta cantidad es elevada (Ca, P, K, Mg, Na, S y Cl), y *microminerales* o elementos “traza”, cuando estos elementos se necesitan en pequeñas cantidades (Cr, Co, Cu, F, I, Fe, Mn, Mo, Se, Zn y V) (Fraga 2005; McDowell 2003; Pond *et al.*, 2005), derivándose esta denominación del hecho de que estos elementos existen en el organismo en concentraciones por debajo de 0.001%, y porque los animales los requieren en sus dietas en concentraciones de menos de 100 mg/kg de alimento (Popovic *et al.*, 2010).

En los organismos marinos, la concentración corporal de estos metales y metaloides depende de múltiples factores, como son la fuente de alimentación, el medio ambiente y la especie, así como de la fase de desarrollo y estado fisiológico (Lall, 2002). Los invertebrados marinos presentan cantidades importantes de elementos como Mn, Fe, Zn, Cu, Se, Ca, Na y K (Taboada *et al.*, 2008), estando descrita la participación de estos

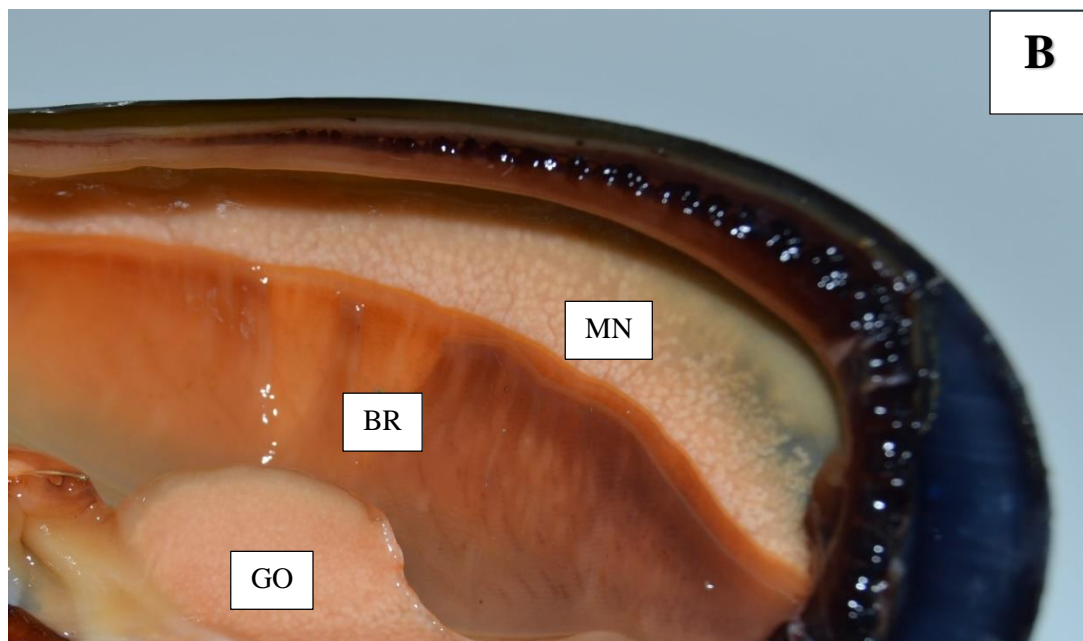
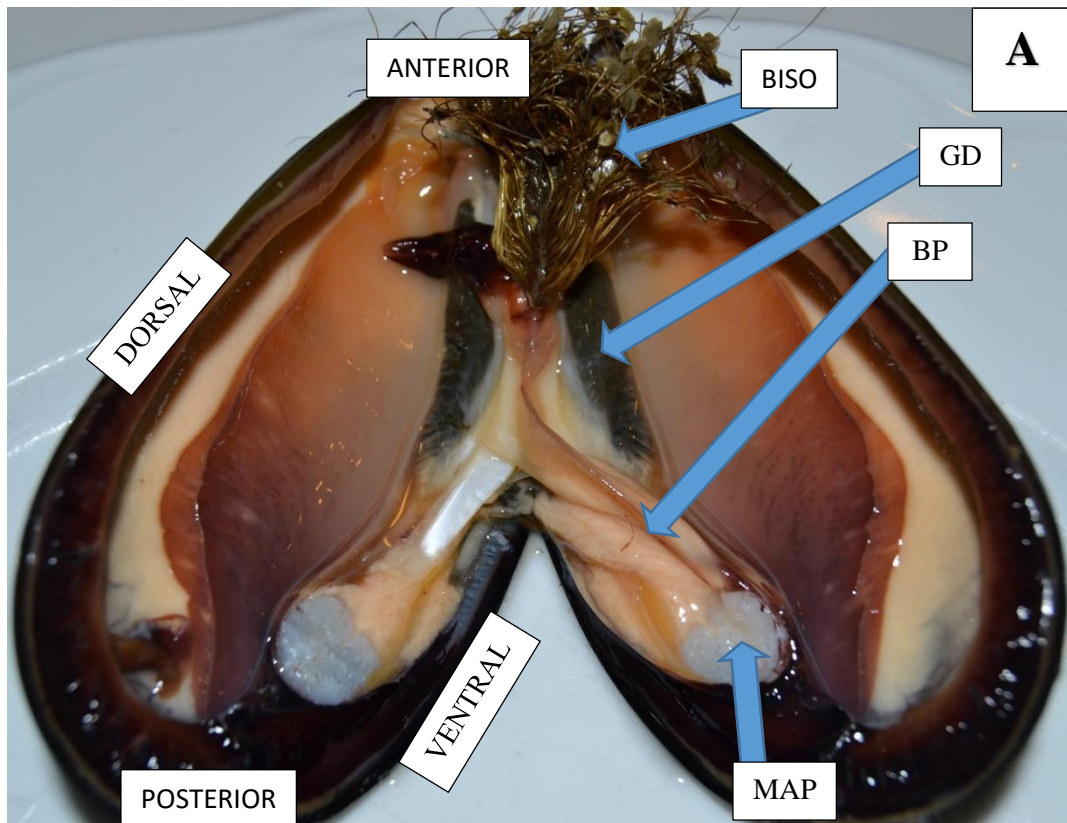
elementos en muchas funciones (Simkiss y Wilbur, 1989; Rosenberg y Hughes, 1991; Klein *et al.*, 1996; Stecher *et al.*, 1996; Li *et al.*, 2004; Hooper *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2012): en la formación de estructuras corporales como las conchas y exoesqueleto (Ca, P, Sr, Mg), en el balance ácido-base (Na, K, Cl), como parte de la estructura de numerosas metaloenzimas, como la superóxido dismutasa (Zn, Cu, Mn), catalasa (Fe) o la glutatión peroxidasa (Se) entre otras, etc. Otros elementos como el B son nutrientes esenciales en muchos organismos, necesarios para el correcto funcionamiento de membranas celulares, ayudando al metabolismo de otros elementos como el Ca y el Mg (Mastromatteo y Sullivan, 1994; Emiroglu *et al.*, 2010). No obstante, existen elementos detectados en estos organismos como el Ni, el V o el As cuyas funciones no ha sido claramente demostradas.

Un exceso o déficit de estos elementos, aun siendo esenciales, puede ocasionar defectos bioquímicos, alteración de las funciones fisiológicas y trastornos estructurales (McDowell 2003; Pond *et al.*, 2005). Por todo ello, el conocimiento relativo a las concentraciones de elementos traza en organismos vivos es de vital importancia para un mejor entendimiento de la relación entre los elementos químicos y los seres vivos así como para comprender el nexo de unión entre el estado de salud y los problemas de exposición medioambiental (Iyengar, 1989).

Los moluscos bivalvos, al igual que el resto de invertebrados, poseen un sistema de defensa que le proporciona la denominada “inmunidad innata” o natural, que es filogenéticamente más antigua que la “inmunidad adquirida”, presente en peces anfibios, reptiles, aves y mamíferos (Thompson, 1995). Esta respuesta inmune incluye la acción de componentes humorales y celulares (Nappi y Vass, 1993; Nappi y Ottaviani, 2000), constituyendo la primera línea de defensa del individuo frente a un agente patógeno (Medzhitov, 2001).

Las respuestas celulares son realizadas por hemocitos (Söderhäll y Smith, 1983; Smith y Söderhäll, 1983, 1991), los cuales poseen la capacidad de fagocitar patógenos y desarrollar el proceso de encapsulación de metazoos (Carton y Nappi, 1997; Nappi y Vass, 2000). Por su parte la inmunidad humoral incluye la activación de cascadas proteolíticas que finalizan en la opsonización y la síntesis de varios péptidos antimicrobianos que se encuentran disueltos en la hemolinfa (Meister *et al.*, 1997; Hoffman *et al.*, 1999; Bulet *et al.*, 1999; Engstrom, 1999).

Por su parte, los mecanismos de defensa humorales son variados, a base de proteasas e inhibidores de proteasas, péptidos antimicrobianos, citoquinas, complemento, lisozima, lectinas, proteínas de choque térmico y el sistema profenol-oxidasa (Luna-González, 2003; Novás, 2005; Costa, 2008). La existencia de este último sistema defensivo (proPO) ha sido demostrada en varios tipos celulares pertenecientes a diferentes especies, estando su principal papel centrado en los procesos de melanización y en la síntesis de adrenalina (Coles y Pipe, 1994). Además de estas implicaciones, la actividad fenoloxidasa (PO) puede activar diferentes procesos inmunes como la fagocitosis y la encapsulación (Söderhall y Smith, 1986). La presencia del sistema proPO se ha demostrado en varias especies de mejillones, como *Perna viridis* (Asokan *et al.*, 1997), *M. edulis* (Coles y Pipe, 1994) y *M. galloprovincialis* (Carballal *et al.*, 1997), tanto en la hemolinfa como en el interior de los hemocitos (Ashida *et al.*, 1983; Saul *et al.*, 1987; Hernández-López *et al.*, 1996).



**Figura 1.** Disección de mejillón silvestre (*Mytilus galloprovincialis*). Aspectos macroscópicos de su anatomía. **A**=aspecto general, biso, glándula digestiva (GD), bolsa de Polichinela (BP) y músculo aductor posterior (MAP); **B**=detalle de manto (MN), branquia (BR) y gónada (GO); **C**=pie y músculo retractor del pie (MRP); **D**=boca y palpos labiales (PL).

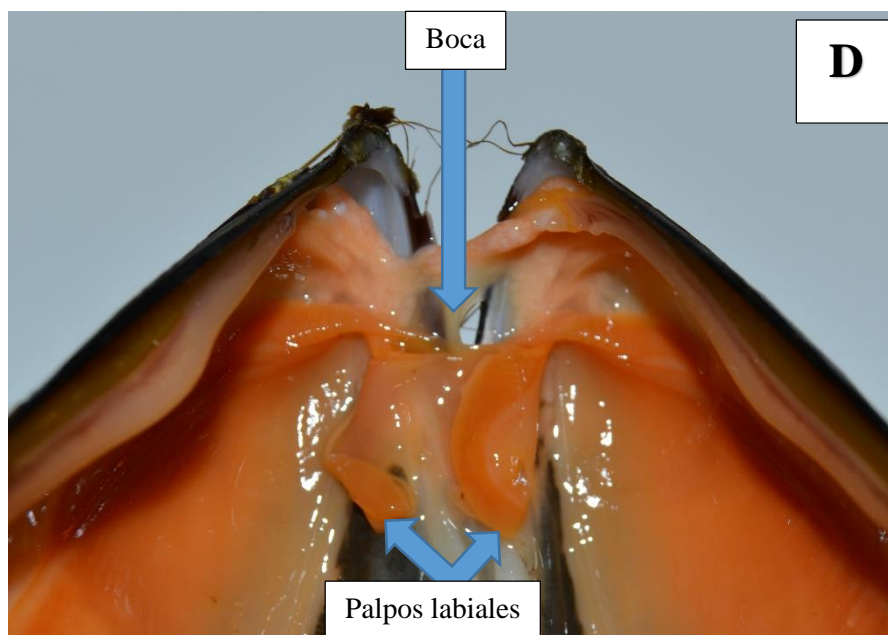
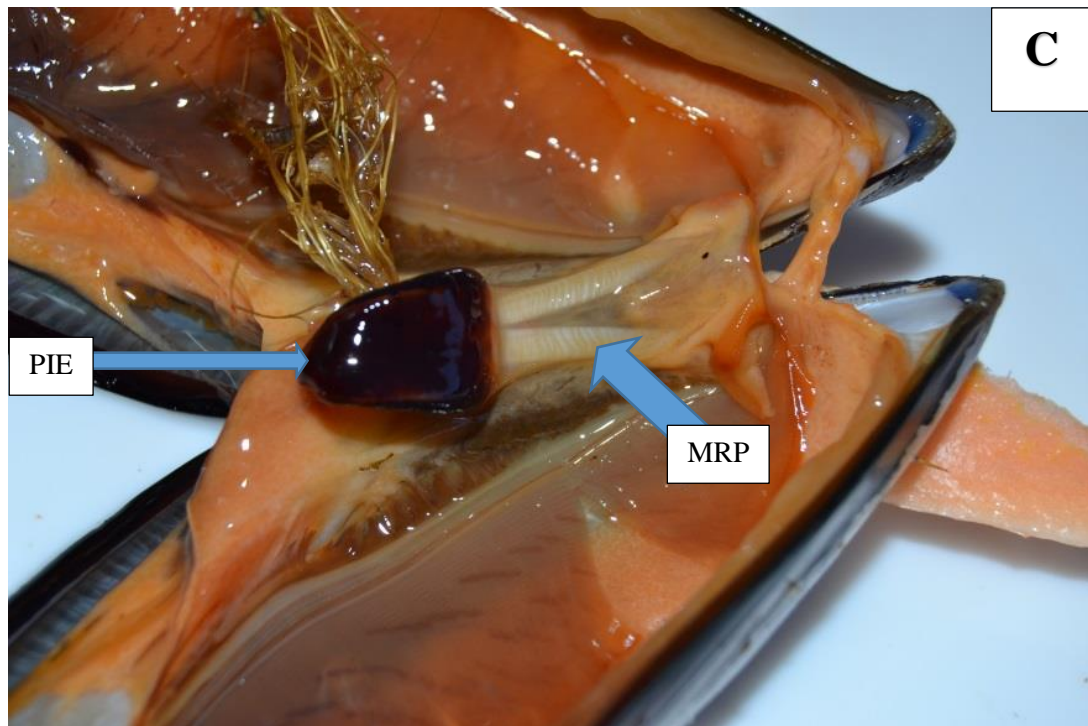


Figura 1. (Continuación)



## II.6. Biomarcadores en la evaluación de efectos biológicos

Desde hace años, herramientas como el monitoreo ecológico, los biomarcadores y los bioensayos han sido descritas como útiles para proporcionar una información realista de los impactos que los contaminantes ambientales y sus mezclas pueden ocasionar en organismos acuáticos (Keddy *et al.*, 1995; Cajaraville *et al.*, 2000; Logan, 2001; Allan *et al.*, 2006). Hasta hace poco, la monitorización de la calidad del agua se ha basado fundamentalmente en la determinación analítica de las concentraciones de contaminantes y así, esta monitorización química nos ha permitido conocer los niveles de contaminantes en las diferentes fases del ecosistema en un momento determinado. Sin embargo, esta herramienta no evalúa el riesgo que la presencia de estos contaminantes supone para los organismos vivos y los ecosistemas (Fernández, 2012b), siendo preciso utilizar metodologías que permitan valorar estos efectos biológicos y relacionar el nivel de exposición con la gravedad del efecto provocado (NRC, 1987; WHO, 1993; De Zwart, 1995; OSPAR, 2004a, b). En este sentido es donde cada vez cobra más importancia el uso de los “biomarcadores”.

Este uso tiene su origen en toxicología humana, donde han demostrado ser muy útiles como medidas de la exposición a productos químicos, así como para proporcionar señales de alerta temprana para enfermedades específicas (Timbrell, 1998). En el medio ambiente, estos marcadores biológicos reflejan el impacto que los agentes químicos de origen natural o procedentes de la actividad humana, pueden ocasionar sobre los organismos expuestos, dando información crucial sobre el estado de salud de las especies (Rodrigues *et al.*, 2014).

Para el término biomarcador (acrónimo de marcador biológico) han sido propuestas varias definiciones. Así, el Committee on Biological Markers, del NRC's Board of Environmental Studies and Toxicology (NRC 1987, 1989) los definió como *indicadores de eventos en sistemas biológicos o muestras después de la exposición química*, y se recomendó su uso para, referido a un contaminante, determinar qué concentración era biológicamente eficaz, cuáles eran los efectos perjudiciales y qué poblaciones o individuos eran sensibles, con el fin de pronosticar, incluso evitar la enfermedad clínica. La Organización Mundial de la Salud (OMS, 1993), los definió como *medidas capaces de reflejar la interacción entre un sistema biológico y cualquier riesgo potencial para él*

de carácter químico, físico o biológico. Sin embargo, la NCR tenía puesto el énfasis en la salud humana y es importante tener en cuenta que existen otros tipos de marcadores biológicos que intentan medir los efectos de la contaminación química en la población, la comunidad e incluso a nivel de ecosistema (Ecotoxicología). Así pues, Adams (1990) modificó en parte esta definición para incluir las características de los organismos, poblaciones o comunidades que responden en forma evaluable a los cambios ambientales. Esto refleja el hecho de que los contaminantes pueden ejercer su influencia en todos los niveles de organización biológica (Lagadic *et al.*, 1994; Peakall, 1994), siendo asociado entonces el término biomarcador a *cambios subletales bioquímicos resultantes de la exposición a xenobioticos individuales* (Lagadic *et al.*, 1994).

Van Gestel y Van Brummelen (1996) redefinen el término biomarcador como cualquier respuesta biológica a tóxicos ambientales a nivel subindividual, es decir en el interior de un organismo o en sus productos (orina, heces, pelo, plumas, etc.), de tal manera que refleja una desviación de la situación normal y que no se pueden detectar en el organismo intacto. Con el avance de las mediciones y la inclusión de otros organismos tales como los peces, la utilidad de los marcadores o indicadores de la salud humana pasó a estar en duda (McCarty y Munkittrick, 1996). En este contexto, Handy *et al.* (2003) ampliaron el concepto, redefiniéndolos como *la identificación de los cambios moleculares, bioquímicos, fisiológicos y de comportamiento específicos en las poblaciones después de la exposición a contaminantes*. Ambos enfoques tratan de revelar las relaciones de causa-efecto entre la exposición inicial y los efectos posteriores, basadas en el uso de biomarcadores, pero en diferentes niveles de organización biológica.

En definitiva, los biomarcadores nos permiten medir las alteraciones moleculares, bioquímicas o celulares surgidas de esta interacción (Sarkar *et al.*, 2006), y consecuentemente nos evalúan el deterioro ambiental y las consecuencias adversas en los organismos (Wu *et al.*, 2005). Esto nos ofrece una serie de ventajas: por una parte constituyen una herramienta valiosa para estudios y programas de monitorización de los ecosistemas, facilitando la detección y el diagnóstico temprano del riesgo; y por otra son una señal de alerta que ayuda a predecir los efectos adversos en otros niveles biológicos superiores (Narváez *et al.*, 2005). Además, nos suministran información sobre la toxicidad, biodisponibilidad y efectos acumulativos (Sarkar *et al.*, 2006).

No obstante, existen limitaciones en la información que los biomarcadores proporcionan, como consecuencia de factores externos ambientales y de factores propios del organismo, órgano o tejido diana (Engel y Vaughan, 1996), por lo que para ser considerados como adecuados, han de cumplir una serie de requisitos: ser sensibles, presentar un amplio espectro de respuesta, ser aplicables en laboratorio y ser relacionables con estudios de campo (Fernández, 2012b).

Por otra parte hay que tener en cuenta que no todos los biomarcadores son buenos biomarcadores, y que es probable estén influidos por factores que pueden ser biológicos, como por ejemplo, la especie, la edad, el sexo, la genética de la población, el estado de la alimentación, la fase reproductiva, y ambientales como por ejemplo la temperatura, la concentración de oxígeno, pH y salinidad. Estos factores denominados “factores de confusión” pueden motivar diferentes respuestas, sobre todo cuando no están controlados (normalizados) y por tanto el estudio puede que no nos proporcione información útil para la gestión medioambiental (McCarty y Munkittrick, 1996; Forbes *et al.*, 2006; González-Fernández *et al.*, 2015a).

Según la OMS, los biomarcadores se subdividen en tres clases: biomarcadores de exposición, de efecto y susceptibilidad. Los biomarcadores de exposición comprenden la detección y medición de un xenobiótico, sus metabolitos o el producto de la interacción entre xenobiótico y una diana, celular o molecular en un compartimento orgánico (Bervoets *et al.*, 2005; Gibson *et al.*, 2005), indicando pues el nivel de exposición a la contaminación de un organismo sensible. Ejemplos de este tipo son las proteínas del estrés, el citocromo P-450 o las metalotioneínas.

Los biomarcadores de efecto miden la magnitud de la respuesta a los contaminantes, identificando las alteraciones tisulares, celulares, genéticas, fisiológicas, de comportamiento o bioquímicas que se producen. Integridad de membranas, estado redox e integridad de ADN son algunos ejemplos de estos biomarcadores. Estos biomarcadores son muy a menudo correlacionados con concentraciones de contaminantes o con tiempo de exposición a los mismos (Allan *et al.*, 2006), pudiendo ser específicos de ciertos compuestos (metales, PCBs o hidrocarburos aromáticos policíclicos).

Finalmente los biomarcadores de susceptibilidad indican la capacidad inherente o adquirida de un organismo para responder a sustancias exógenas, incluyendo factores genéticos y cambios en receptores que alteran la susceptibilidad de un organismo a la exposición a una sustancia (Allan *et al.*, 2006; Pavanello y Clonfero, 2000, Sakai, 2000). Un claro ejemplo de este tipo sería el gen paraoxonasa (PON1), identificado como uno de los primeros genes relevantes desde el punto de vista medioambiental (Allan *et al.*, 2006). En ocasiones, los tres tipos de marcadores biológicos no pueden separarse fácilmente y pueden coincidir (Perera 1996; Perera y Weinstein 2000; Jakubowski y Trzcinka-Ochocka, 2005; Nordberg, 2010).

La aplicación de los biomarcadores tiene unas ventajas significativas que complementan a los métodos químicos tradicionales en la detección de contaminantes (Cheung *et al.*, 2004). Así pues, nos pueden indicar la presencia de un contaminante biológicamente disponible en lugar de una forma biológicamente inerte de la sustancia química o evidenciar la presencia de un contaminante no sospechado inicialmente. Además, las respuestas de los biomarcadores se pueden observar mucho tiempo después de la exposición a un contaminante que ya no es detectable por haberse degradado o modificado.

Si bien la selección de los biomarcadores para la vigilancia del medio ambiente ha sido extensamente discutido en la literatura (Wu *et al.*, 2005), estos han sido ampliamente utilizados durante años (Au, 2004; Domouhtsidou *et al.*, 2004; Perceval *et al.*, 2004; Nesto *et al.*, 2007; Tsangaris *et al.*, 2007; Yeats *et al.*, 2008; Kolyuchkina y Ismailov, 2011; Langston *et al.*, 2012). En organismos marinos como mejillones, almejas, ostras y peces, se utilizan diferentes biomarcadores para evaluar el efecto de la exposición a la contaminación. Algunas de las respuestas biológicas más utilizadas en investigación están recomendadas en los programas regionales de MEDPOL (Convención de Barcelona) y CEMP (Convención OSPAR). Así, en las Estrategias Marinas se utilizan la actividad etoxiresorufina-O-desetilasa (EROD) en salmotete de fango (*Mullus barbatus*), y la estabilidad de la membrana lisosomal, la supervivencia en aire (Stress on Stress), la actividad enzimática acetilcolinesterasa (AChE), el contenido en metalotioneínas y la frecuencia de micronúcleos en mejillón (*Mytilus galloprovincialis*); y otros como la determinación de enzimas de la fase II de la biotransformación como la glutatión-s-transferasa (GST), las defensas antioxidantes como la glutatión peroxidasa (GPx), los

marcadores de control neuronal como la AChE, la superimposición de caracteres sexuales masculinos como el *imposex* y la evaluación de la energía que un organismo dispone para su crecimiento y reproducción a través del Scope for Growth (SFG), todos ellos en especies como el gallo (*Lepidorhombus boscii*), el dragón lira (*Callyonymus lyra*), el corniño (*Nucella lapillus*), la margarita reticulada (*Nassarius reticulatus*) y el mejillón silvestre (*Mytilus galloprovincialis*). Otros marcadores utilizados frecuentemente en moluscos bivalvos son los niveles de hormonas como la vitelogeninas, las proteínas del estrés, y más recientemente los basados en metabolómica y en el análisis del proteoma (Viant, 2007; Campos *et al.*, 2012).

En contraste con la sencilla medición de los contaminantes que se acumulan en los tejidos del cuerpo, los biomarcadores pueden ofrecer información más completa y biológicamente más relevante sobre el impacto potencial de los contaminantes en la salud de los organismos (Calisi *et al.*, 2008). No obstante también hay desventajas (Mussaligalante *et al.*, 2013). Para Zuykov *et al.* (2014) se debe tener en cuenta que: i) los biomarcadores no deben ser vistos como una panacea para los estudios de contaminación de metales, debido a que, varios factores bióticos y abióticos pueden influir; ii) los biomarcadores individuales no reflejan adecuadamente el deterioro de la salud de un organismo y puede no ser suficiente en la evaluación de la toxicidad, por lo que se requiere el uso de un enfoque de múltiples biomarcadores para una evaluación más realista del impacto biológico de los productos químicos y para dilucidar los mecanismos subyacentes a la creación de este tipo de alteraciones (Guidi *et al.*, 2010; Serafim *et al.*, 2011), y iii) el uso de biomarcadores es difícil, costoso y consume mucho tiempo.

Respecto al mejillón silvestre (*M. galloprovincialis*), los biomarcadores más utilizados en monitorización de metales pesados son las metalotioneínas y la actividad delta-aminolevulínico deshidratasa (ALAD), así como los indicativos de estrés oxidativo tales como peróxidos lipídicos (LPO) y enzimas antioxidantes como catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión-S-transferasa (GST). Sin embargo, el avance de las técnicas analíticas de medición y en la biología de las especies permite profundizar en el conocimiento de marcadores que aporten información sobre el efecto de los contaminantes en los organismos centinela.

## II.7. Bioensayos como método de investigación

Los ensayos biológicos o “bioensayos” son herramientas de diagnóstico ampliamente utilizadas en el campo de la Ecotoxicología. A través de ellos, se estudia el efecto de los agentes tóxicos en los organismos marinos a distintos niveles de organización, desde el molecular al poblacional, pasando por el subcelular, el individuo, las comunidades y los ecosistemas (Rand y Petrocelli, 1985). Estas pruebas de toxicidad permiten realizar mediciones experimentales, estableciendo relaciones concentración-respuesta bajo condiciones controladas de laboratorio, y más allá de sus limitaciones, sigue siendo la mayor fuente de información para la evaluación de efectos a nivel ecológico (Castillo Morales, 2004).

Estos test de toxicidad suelen estar estandarizados, y según el tiempo de exposición se clasifican en test de toxicidad aguda, con una duración de 24 a 96 horas y test de toxicidad crónica, cuando son de 7 o más días (US EPA, 2002). Generalmente se dispone de grupos control (no expuestos al tóxico), con el objetivo de comparar los datos obtenidos. En el caso de bioensayos con organismos marinos y atendiendo a los cambios de agua efectuados durante los experimentos, éstos se clasifican en renovables, de flujo continuo y estáticos. Por otra parte, la presencia o efecto de una o más sustancias, o factores ambientales (solos o en combinación), pueden dividir los bioensayos en dos categorías, según el criterio a evaluar: (i) si tiene en cuenta la mortalidad (efectos letales), y (ii) si estudia los cambios físico-químicos, ultraestructurales, etc. sin llegar a la muerte (efectos subletales) (Reish y Oshida, 1987).

Entre las ventajas que estos métodos tienen sobre las pruebas químicas y físicas convencionales destaca la capacidad de evaluación de los efectos tóxicos de una mezcla de sustancias, pudiendo clasificarlos en aditivos, antagonistas o sinérgicos (Newman y Unger, 2002), teniendo estos últimos una gran relevancia en la evaluación del riesgo al subestimar de forma habitual sus efectos (Demetrio, 2012).

### II.7.1. Contaminantes en medio marino

Los estudios experimentales orientados a la evaluación de efectos de la contaminación marina comenzaron su andadura a comienzos del siglo XX. Hacia 1940 se realizaron los primeros bioensayos con peces, y a lo largo de la década de los cincuenta se empiezan a realizar pruebas con invertebrados y algas (Díaz-Báez *et al.*, 2004). Actualmente las evaluaciones toxicológicas integran diferentes niveles poblacionales, comunidades o ecosistemas, lo que permite identificar los elementos biológicos de riesgo. El concepto de bioensayo deriva de la toxicología clásica, pero actualmente ha sido modificada, adaptada y extendida al diagnóstico y manejo ambiental, y no solo con el fin de determinar riesgos ambientales sino también los posibles riesgos para los seres humanos. En este sentido, los bioensayos son considerados como técnicas bioanalíticas complementarias de los análisis fisicoquímicos convencionales, así como alternativas eficaces para la predicción de niveles seguros de concentración de tóxicos en los que no se generan efectos observables.

En estudios sobre el medio marino, el número de organismos vivos y sustancias empleadas en los bioensayos es muy amplio, existiendo numerosos estudios en los que se compara el efecto de un contaminante en varias especies o la sensibilidad de una especie a varios agentes tóxicos, igualmente con una amplia variedad de marcadores biológicos (acumulación, alteraciones fisiológicas, alteraciones a nivel celular, molecular, etc.). Incluso existen a nivel legal una normativa que recoge la sistemática de estudio en la evaluación de la ecotoxicidad con organismos acuáticos como peces o copépodos: Reglamento (CE) nº 440/2008, en aplicación del Reglamento relativo al registro, evaluación, autorización y restricción de sustancias y preparados químicos, REACH, (Reglamento (CE) nº 1907/2006). En este campo, el mayor número de estudios experimentales se realiza con peces de agua dulce, siendo numerosos los trabajos publicados al respecto. Así pues encontramos especies como la carpa dorada (*Carassius auratus*), perca amarilla (*Perca flavescens*), perca europea (*P. fluviatilis*), perca sol (*Lepomis gibbosus*) y la carpa (*Pimephales promelas*) en estudios sobre efectos de sustancias como herbicidas, antibióticos, petróleo, detergentes e incluso antidepresivos y estrógenos sintéticos con efecto anticonceptivo (Nero *et al.*, 2006; Kidd *et al.*, 2007; Kubrak *et al.*, 2013; Hedgespeth *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2014), valorándose respuestas biológicas tales como alteraciones morfométricas, cambios histológicos, alteraciones

bioquímicas o efectos hormonales a través de biomarcadores como AChE, EROD, GST, SOD, vitelogenina y daño en el ADN, por citar algunas.

Igualmente los peces de acuario son utilizados habitualmente en bioensayos. Así, el pez millón (*Poecilia reticulata*) ha sido usado para comprobar los efectos del plaguicida metilparation y del insecticida clorpirifos (Sharbidre *et al.*, 2011); y los efectos genotóxicos del herbicida Roundup® se han evaluado en *Corydoras paleatus* (De Castilhos y Cestari, 2013).

Otras especies marinas como las anguilas (*Anguilla anguilla*), aun siendo especies vulnerables, también han sido ampliamente utilizadas como modelo en diversos estudios de contaminantes ambientales (Geeraerts y Belpaire, 2010), ya que tal y como indican Costa *et al.* (2008), presentan características como la abundancia, la fácil cría en laboratorio, amplia representatividad biológica (consumidores secundarios en áreas de agua dulce-estuarios), gran capacidad de adaptación a diferentes niveles de salinidad, tanto en ambientes de agua dulce como salobre, además al ser una especie bentónica (Prchalová *et al.*, 2013). Sin embargo, otros autores afirman que se trata de una especie de ciclo complejo, comportamiento críptico y de difícil control por sus características anatómicas, como la forma del cuerpo o la capacidad de secretar moco (Prchalová *et al.*, 2013).

Actualmente la legislación relativa a la protección de los animales con fines experimentales y científicos (Directiva 2010/63/UE y RD 53/2013) tiene como objetivo reemplazar y reducir el uso de los vertebrados (como por ejemplo peces y anfibios), e invertebrados cefalópodos, así como moderar el uso de decápodos en la investigación científica y en la evaluación de riesgos en ambientes acuáticos. De esta forma los peces, que tradicionalmente se han venido utilizando en los bioensayos, se van reemplazado cada vez más por invertebrados acuáticos en la evaluación del impacto de los contaminantes, ya que ofrece entre otras, ventajas de tipo ético. No obstante, la selección adecuada de modelos y diseños experimentales con invertebrados, así como el control de los posibles factores de confusión en los ensayos de toxicidad, son de gran importancia en la consecución de resultados científicamente válidos (Rodrigues y Pardal, 2014; González-Fernández *et al.*, 2015a).



Con respecto a los invertebrados, el abanico de especies utilizadas en los ensayos de laboratorio es también muy amplio. Equinodermos como el erizo de mar (*Paracentrotus lividus*), el cangrejo verde europeo (*Carcinus maenas*), los cladóceros como la pulga de agua (*Daphnia Magna*), los anfípodos del género *Gammarus spp.*, y más recientemente los cnidarios del género *Hydra spp.*, han sido utilizados para estudiar el efecto de numerosas sustancias, desde metales pesados hasta tóxicos orgánicos, disruptores endocrinos, fármacos e incluso nanomateriales. A nivel europeo, el estudio de los efectos de los contaminantes ambientales en el ecosistema es un requisito de la Directiva Marco del Agua (Directiva 2000/60/CE), considerándose las comunidades de macroinvertebrados bentónicos elementos clave para la evaluación de la integridad del bentos.

En lo referente a los moluscos, si bien algunas especies pertenecientes a clases como Gastropoda y Cephalopoda son utilizados en estudios de ecotoxicidad, son las especies de la clase Bivalvia las que con más frecuencia se usan en este tipo de ensayos. La ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*), el mejillón verde asiático (*Perna viridis*), la almeja fina (*Ruditapes decussatus*), el mejillón azul (*Mytilus edulis*) o el mejillón silvestre (*Mytilus galloprovincialis*) son algunas de las especies con las que desde hace años se publican numerosos trabajos de investigación sobre efectos biológicos de contaminantes presentes en el medio acuático.

En el caso concreto del mejillón silvestre (*M. galloprovincialis*), actualmente se dispone de mucha información relativa a su fisiología y respuesta ante la presencia de contaminantes, a la vez que su elección como especie bioindicadora en programas de biomonitorización está ampliamente aceptada por la comunidad científica. El efecto de los PAHs, de distintos tipos de fármacos, de sustancias *antifouling*, plaguicidas, el efecto de nanopartículas o el efecto de los cambios temperatura son algunos de los estudios realizados en los últimos años utilizando esta especie, a lo que hay que añadir las decenas de estudios que sobre el efecto de los metales pesados a distintos niveles, desde molecular a poblacional, han sido realizados en las últimas décadas.

## II.7.2. Metales pesados en especies marinas

Como ya se ha indicado anteriormente, los metales traza tienen una importancia considerable en los ecosistemas acuáticos, debido a su toxicidad y acumulación en la biota (Sajwan *et al.*, 2008), así como por la posibilidad de ser transferidos al ser humano. En organismos acuáticos, los metales provocan cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos (Basha y Rani, 2003; Bordajandi *et al.*, 2003; Dautremepuits *et al.*, 2004), y numerosos son los estudios laboratoriales realizados para comprobar estos efectos, que pueden ir desde patologías más o menos graves con alteraciones en parámetros hematológicos, metabolismo alteraciones en el desarrollo, en la maduración sexual e inmunodeficiencia hasta incluso la muerte (Renella *et al.*, 2003; Cuesta *et al.*, 2011).

Peces de agua salada como *Sparus aurata*, *Morone saxatilis*, *Dicentrarchus labrax* o *Sciaenops ocellatus* son utilizados con frecuencia en estudios de este tipo. No obstante, la mayoría de estudios se realizan en especies de agua dulce, como *Danio rerio*, *Acipenser transmontanus*, *Oncorhynchus mykiss*, *Salmo salar*, *Cyprinus carpio*, *Carassius gibelio*, *Prochilodus lineatus* o *Poecilia reticulata*, por citar algunos, analizándose las consecuencias por la exposición a metales como Pb, Cd, Cu, Zn, Hg, etc., y solo en pocas ocasiones por efectos de mezclas (Naz y Javed, 2012; Svecevičius *et al.*, 2014). Además de la acumulación tisular, estos estudios muestran diferentes mecanismos de toxicidad por exposiciones agudas y crónicas, tanto con dosis letales como subletales. Así pues se ha comprobado que estas exposiciones a metales causan en peces aumento de las especies reactivas de oxígeno, disfunciones en la regulación osmótica, alteración de actividades enzimáticas, daño tisular, etc. (Wong y Wong, 2000; Ribeiro *et al.*, 2002; Dautremepuits *et al.*, 2004; Atli y Canli, 2007; Santos *et al.*, 2012; Zimmer *et al.*, 2012; Ribeiro *et al.*, 2014). Gracias a este tipo de pruebas se sabe que ciertas actividades enzimática aumentan o disminuyen en función de la dosis, la especie y la vía de la exposición (Wong y Wong, 2000; Jiraungkoorskul *et al.*, 2003; Sánchez *et al.*, 2005); y los cambios histológicos observados se utilizan como biomarcadores de los ecosistemas acuáticos en diferentes programas de monitorización (Lang *et al.*, 2006; Blazer *et al.*, 2007; Pinto *et al.*, 2010).

No obstante son los invertebrados acuáticos los organismos más utilizados en estos estudios experimentales, ya que acumulan altos niveles de metales pesados en sus tejidos y además pueden sobrevivir en estos ambientes contaminados. Esta tolerancia depende

probablemente de su capacidad para regular las concentraciones de cationes de metales pesados dentro de la célula y para acumular el exceso de metal en formas no tóxicas (Rainbow, 2002; Viarengo, 1989). Así por ejemplo, los equinodermos de la especie *Paracentrotus lividus* son excelentes bioindicadores de la contaminación por metales pesados en los ecosistemas marinos, utilizándose por ello embriones de esta especie para comprobar los fenómenos de autofagia y apoptosis tras la exposición a Cd (Chiarelli *et al.*, 2014). Los bioensayos con embriones y larvas de erizos de mar, como *Strongylocentrotus purpuratus*, también han sido muy utilizados en programas de monitorización marina por su alta sensibilidad a una amplia gama de contaminantes (Kobayashi, 1971), siendo también por ello, numerosos los ensayos de toxicidad efectuados con metales como Pb, Zn, Cu y Ni (Warnau y Pagano, 1994; Nacci *et al.*, 2000; Radenac *et al.*, 2001; Novelli *et al.* 2003; Phillips *et al.*, 2003; Kobayashi y Okamura, 2004, 2005; Bellas *et al.*, 2005; Bellas, 2008; Sánchez-Marín *et al.*, 2010; Tellis *et al.*, 2014a,b).

Según Sarma y Nandini (2006), los cladóceros fueron utilizados aproximadamente en un 10% de las publicaciones que sobre bioensayos en toxicología se habían realizado en los últimos 10 años, siendo los metales pesados algunas de las sustancias tóxicas más comúnmente ensayadas. Las daphnias (*Daphnia magna*, *D. pulex*, *Ceriodaphnia dubia*), conocidas vulgarmente como pulgas de agua, son uno de los géneros de crustáceos planctónicos más utilizados en estos ensayos, desarrollándose en los últimos años y en el caso de *D. magna*, algunos estudios experimentales con mezclas binarias de metales (Barata *et al.*, 2006; Vandenbrouck *et al.*, 2009; Le *et al.*, 2013).

Otros crustáceos de agua dulce, también ampliamente utilizados como organismos de prueba en estudios ecotoxicológicos de metales traza, son los pertenecientes al género Gammarus, como *G. pulex* y *G. fossarum*, debido a su amplia distribución, alta abundancia, claro dimorfismo sexual, fácil recolección, elevada sensibilidad a diversas sustancias tóxicas, así como por la importancia trófica que tienen en los ecosistemas de agua dulce (Felten *et al.*, 2008; Adam *et al.*, 2009; Alonso *et al.*, 2010; Kunz *et al.*, 2010; Gismondi *et al.*, 2012; Vellinger *et al.*, 2012a, 2012b; Schmidlin *et al.*, 2014). Además Gammarus está reconocido como una herramienta clave para el estudio de la calidad del agua y la evaluación de riesgos ambientales a través de la evaluación de las tasas de nivel

de contaminación, absorción y eliminación y factores de bioconcentración (Kunz *et al.*, 2010).

Los cangrejos también son habituales en estudios de exposición a metales. Así por ejemplo, diferentes marcadores han sido estudiados en especies como *Sinopotamon yangtsekiense*, *Carcinus maenas*, *Eriocheir sinensis* o *Pachygrapsus marmoratus* tras la exposición a metales como Cd, Hg o Zn, e incluso a sus mezclas (Rainbow *et al.*, 2000; Elumalai *et al.*, 2007; Yan *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2010; Lei *et al.*, 2011; Gao *et al.*, 2012); y en crustáceos como langostinos (*Macrobrachium americanum*) y langostas (*Nephrops norvegicus*) expuestos a Pb, Cd, Cu y Zn (Canli y Stag, 1996; Reyes, 2014).

Los oligoquetos como *Limnodrillus hoffmeisteri*, *Enchytraeus albidus* o *Hydroides elegans* son organismos que, debido a su corto ciclo de vida y su alta sensibilidad a los metales, se utilizan normalmente para la exposición a estos tóxicos (Bouché *et al.*, 2000; Martínez-Tabche *et al.*, 2001; Bao *et al.*, 2008; Grajeda y Ortega *et al.*, 2011; Novais *et al.*, 2011). Los poliquetos por su parte, juegan un importante papel en la cadena alimentaria, por lo que también se utilizan en los bioensayos para la evaluación de la toxicidad de los sedimentos marinos (Bat, 2005). *Laeonoris acuta*, *Perinereis nuntia* o *Perinereis aibuhitensis* son algunas de las especies en las que se ha estudiado el efecto de metales como Cd, Cu o Pb (Sandrini *et al.*, 2008; Won *et al.*, 2012; Tian *et al.*, 2014).

El caso de los moluscos bivalvos, muchos son los estudios realizados con metales pesados como base para el estudio de efectos biológicos. La Tabla 1 incluye algunos de los estudios realizados en los últimos años.

Familia	Especies	Metales	Objetivo del estudio	Referencia
Pectinidae, Mytilidae	<i>Adamussium colbecki</i> , <i>Mytilus galloprovincialis</i>	Cu, Cd	Biomarcadores (MT)	Viarengo <i>et al.</i> , 1997
Arcidae, Veneridae	<i>Anadara inaequalis</i> , <i>Chamelea gallina</i>	Cu, Cd	Respuesta inmune	Kolyuchkina e Ismailov, 2011
Pectinidae	<i>Argopecten ventricosus</i>	Cd, Cr, Pb	Toxicidad, bioacumulación, biomarcadores, daño genético, cambios histológicos	Sobрино, 2001
Pectinidae	<i>Argopecten ventricosus</i>	Cd, Cr, Pb	Toxicidad, bioacumulación, biomarcadores, daño genético, cambios histológicos	Sobрино-Figueroa y Cáceres-Martínez, 2014
Pectinidae	<i>Chlamys nobilis</i>	Cd, Zn	Compartimentación	Pan y Wang, 2008
Pectinidae, Mytilidae, Veneridae, Ostreidae	<i>Chlamys nobilis</i> , <i>Perna viridis</i> , <i>Ruditapes philippinarum</i> , <i>Saccostrea cucullata</i>	Cd	Acumulación	Liu <i>et al.</i> , 2012
Corbiculidae	<i>Corbicula fluminea</i>	Cd, Zn	Absorción y eliminación (influencia del Ca)	Qiu <i>et al.</i> , 2005
Corbiculidae Dreissenidae	<i>Corbicula fluminea</i> <i>Dreissena Polymorpha</i>	Cd, Zn	Efecto de la exposición en la absorción de otros metales (Co <sup>57</sup> , Ag <sup>110m</sup> , y Cs <sup>134</sup> )	Frayse <i>et al.</i> , 2002
Ostreidae	<i>Crassostrea gigas</i>	Cd	Biomarcadores (MT, HSP90)	Choi <i>et al.</i> , 2008
Ostreidae	<i>Crassostrea gigas</i>	Cd, Hg	Actividad enzimática y respuesta inmune (hemocitos)	Gagnaire <i>et al.</i> , 2004
Ostreidae, Mytilidae	<i>Crassostrea gigas</i> <i>Mytilus edulis</i>	Ag, Cd, Cu, Hg, Zn	Biomarcadores (MT, MDA)	Géret <i>et al.</i> , 2002
Ostreidae	<i>Crassostrea madrasensis</i>	Cu	Respuesta inmune (hemolinfa)	Ittoop <i>et al.</i> , 2009
Ostreidae	<i>Crassostrea virginica</i>	Cd	Metabolismo anaeróbico y expresión génica (RNAm)	Ivanina <i>et al.</i> , 2010
Hiatellidae, Mactridae, Mesodesmatidae, Myidae, Mytilidae, Cardiidae, Pharidae, Dreissenidae, Unionidae	<i>Cyrtodaria siliqua</i> , <i>Mactromeris polynyma</i> , <i>Mesodesma arctatum</i> , <i>Mya arenaria</i> , <i>Mya truncata</i> , <i>Mytilus edulis</i> , <i>Serripes groenlandicus</i> , <i>Siliqua costata</i> , <i>Dreissena polymorpha</i> , <i>Elliptio complanata</i>	Ag, Cd, Hg y Zn	Respuesta inmune	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
Donacidae	<i>Donax trunculus</i>	Zn, Cd	Fisiología (filtración, absorción, SFG)	Neuberger-Cywiak <i>et al.</i> , 2007
Haliotidae	<i>Haliotis tuberculata</i>	Zn	Respuesta inmune	Mottin <i>et al.</i> , 2010
Potamididae	<i>Tympanotonus fuscatus</i>	Zn Cu Cd	Toxicidad	Otitoloju, 2002
Tellinidae	<i>Macoma balthica</i>	Ag, Hg	Toxicidad	Boisson <i>et al.</i> , 1998
Tellinidae	<i>Macoma balthica</i>	Cd	Fisiología	Duquesne <i>et al.</i> , 2004
Mactridae	<i>Mactra veneriformis</i>	Cd	Biomarcadores (MT y SOD)	Fang <i>et al.</i> , 2010
Veneridae	<i>Meretrix</i>	Cd, Hg	Toxicidad (embriogénesis, supervivencia, crecimiento y metamorfosis de larvas)	Wang <i>et al.</i> , 2009
Ostreidae	<i>Ostrea edulis</i>	Cd, Cu	Respuesta inmune	Auffret <i>et al.</i> , 2002
Veneridae	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cd, Pb	Toxicidad (embrionaria y larvaria)	Fathallah <i>et al.</i> , 2013
Veneridae	<i>Ruditapes decussatus</i>	Zn	Biomarcadores enzimáticos (SOD, CAT, GPX, GSH) y no enzimáticos (MDA MT)	Géret <i>et al.</i> , 2004
Veneridae	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cd	Biomarcadores (GSH, MDA), contenido de proteínas y lípidos	Khebbab <i>et al.</i> , 2010
Veneridae	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cd, Cu, Hg	Biomarcadores (MDA)	Romeo y Gnassia-Barelli, 1997
Veneridae	<i>Ruditapes philippinarum</i>	Ag, Cu, Zn	Acumulación	NG y Wang, 2004
Veneridae	<i>Ruditapes philippinarum</i>	Cu, Cd	Respuesta inmune	Matozzo <i>et al.</i> , 2001
Arcidae	<i>Scapharca inaequalis</i>	Cu	Respuesta enzimas antioxidantes (SOD, Se-GPx, CAT)	Isani <i>et al.</i> , 2003

Tabla 1. Estudios experimentales sobre efectos de los metales pesados en moluscos bivalvos.

Cuando un ecosistema está alterado, generalmente no lo está por la presencia o acción de una única sustancia, ya que en realidad en el desarrollo de estos cambios intervienen o pueden intervenir muchos contaminantes. Así pues se puede afirmar que el riesgo ambiental por contaminación es el resultado de la toxicidad de mezclas de contaminantes, a veces muy complejas. Aunque en el medio marino los organismos vivos están expuestos a diferentes mezclas de metales, la mayoría de los estudios de ecotoxicidad y evaluación de riesgos se centran en el peligro que estos compuestos generan de forma individual, aun siendo muy diferente con respecto al impacto que general las mezclas de metales (Vosylienė *et al.*, 2003). Sin embargo, uno de los objetivos principales en Toxicología es establecer si una mezcla de productos químicos tendrá efectos tóxicos similares a los esperados por adición de cada uno de los componentes de dicha mezcla (Cassee *et al.*, 1998). Además, la investigación del efecto ecotoxicológico de mezclas de metales pesados otorga mayor realismo a la evaluación de la calidad de agua (Wong y Pak, 2004), lo que justifica la realización de ensayos que analicen los efectos de las sustancias químicas combinadas (Enserink *et al.*, 1991). A través de estos estudios se establecen los criterios de calidad para la protección de la vida acuática, lo que posteriormente se utilizarán para determinar los estándares de calidad ambiental para cada agente químico (Burton y Nordstrom, 2004).

La investigación del efecto de las mezclas se basa en la comparación del efecto tóxico real de la mezcla con el efecto tóxico teóricamente esperado y deducido por un modelo estadístico, utilizando para ello los efectos tóxicos de los productos químicos a nivel individual (Aoyama *et al.*, 1987; Kungolos *et al.*, 1999; Mowat y Bundy, 2002). Existen varios modelos para obtener una predicción de la interacción y así poder contrastar con lo observado en la experimentación. Algunos de los modelos citados en la literatura científica actual son el de los isobogramas (Tammes, 1964), el modelo de las unidades tóxicas (Sprague y Ramsay, 1965; Iannacone y Salazar, 2007) y modelos matemáticos basados en la teoría de probabilidades (Kungolos *et al.*, 2009; Vellinger *et al.*, 2012a,b, 2013).

Las interacciones se pueden definir como desviaciones de los resultados esperados en base a la aditividad. Los productos químicos en una mezcla pueden no mostrar ninguna interacción, siendo el efecto la suma de los efectos individuales de cada uno de ellos (efecto aditivo); o pueden mostrar interacción, en forma diferente: sinérgica, cuando el

efecto de la combinación es mayor que el esperado de la suma de sus efectos individuales, y antagónica, cuando el efecto de la combinación es menor que el esperado a partir de la suma de sus efectos (EPA, 1990, 2000; Hertzberg *et al.*, 1999; Mumtaz y Hertzberg, 1993; ATSDR, 2004b).

El estudio de los efectos de interacción de las sustancias químicas lleva realizándose desde hace años. En la Tabla 2 se relacionan los estudios realizados sobre mezclas de metales en diferentes especies marinas.

Familia	Especie	Metal/es	Objetivo del estudio	Referencia
Pectinidae	<i>Argopecten ventricosus</i>	Cd, Cr, Pb	Toxicidad, bioacumulación, biomarcadores, daño genético, cambios histológicos	Sobrino, 2001
Pectinidae	<i>Argopecten ventricosus</i>	Cd, Cr, Pb	Fisiología (CR, Consumo O <sub>2</sub> )	Sobrino-Figueroa y Cáceres-Martínez, 2014
Artemiidae	<i>Artemia franciscana</i>	Compuestos Orgánicos de Sn, Cd, Cr	Toxicidad	Hadjispyrou <i>et al.</i> , 2001
Portunidae	<i>Carcinus maenas</i>	Cr, Cu	Toxicidad, biomarcadores enzimáticos (AChE, LDH, GST)	Elumalai <i>et al.</i> , 2002
Talitridae Portunidae Grapsidae	<i>Carcinus maenas</i> <i>Orchestia gammarellus</i> <i>Pachygrapsus marmoratus</i>	Zn, Cd	Acumulación (absorción)	Rainbow <i>et al.</i> , 2000
Cyprinidae	<i>Catla</i> , <i>Cirrhina mrigala</i> <i>Ctenopharyngodon idella</i> <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> <i>Labeo rohita</i> ,	Fe y Ni	Toxicidad	Naz y Javed, 2013a
Daphniidae	<i>Ceriodaphnia dubia</i> <i>Daphnia carinata</i>	Cu, Pb, Zn	Toxicidad	Cooper <i>et al.</i> , 2009
Chironomidae	<i>Chironomus calligraphus</i>	Cd, Hg, Pb	Toxicidad	Lannacone y Salazar, 2007
Cyprinidae	<i>Cirrhina mrigala</i> <i>Catla</i> , <i>Labeo rohita</i> ,	Fe, Zn, Pb, Ni, Mn	Toxicidad	Naz y Javed, 2012
Corbiculidae Dreissenidae	<i>Corbicula fluminea</i> <i>Dreissena Polymorpha</i>	Cd, Zn	Efecto de la exposición en la absorción de otros metales (Co <sup>57</sup> , Ag <sup>110m</sup> , y Cs <sup>134</sup> )	Fraysse <i>et al.</i> , 2002
Cyprinidae	<i>Ctenopharyngodon idella</i> <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Pb, Ni	Toxicidad	Naz y Javed, 2013b
Daphniidae	<i>Daphnia obtusa</i>	Cu, Zn, As	Toxicidad	Gaete y Chávez, 2008
Dreissenidae	<i>Dreissena Polymorpha</i>	Cu, Zn, Cd	Toxicidad y tasa de filtración	Kraak <i>et al.</i> , 1993
Dreissenidae	<i>Dreissena Polymorpha</i>	Cu, Zn, Cd	Toxicidad y tasa de filtración	Kraak <i>et al.</i> , 1994b
Dreissenidae	<i>Dreissena Polymorpha</i>	Cu, Zn, Ni, Cd, Pb	Tasa de filtración	Kraak <i>et al.</i> , 1999

**Tabla 2.** Estudios experimentales sobre mezclas de metales en diferentes especies marinas.



Familia	Especie	Metal/es	Objetivo del estudio	Referencia
Dreissenidae	<i>Dreissena Polymorpha</i>	Cd, Cu	Bioacumulación, biomarcadores no enzimáticos (MT)	Lecoeur <i>et al.</i> , 2004
Dreissenidae	<i>Dreissena Polymorpha</i> , <i>Unio elongatulus</i>	Cu, MeHg	Toxicidad	Faria <i>et al.</i> , 2010
Melitidae Serpulidae Thalassiosiraceae	<i>Elasmopus rapax</i> <i>Hydroides elegans</i> <i>Thalassiosira pseudonana</i>	Zn, Cu	Toxicidad	Bao <i>et al.</i> , 2008
Grapsidae	<i>Eriocheir sinensis</i>	Zn, Cd	Acumulación	Zhang <i>et al.</i> , 2010
Isotomidae	<i>Folsomia candida willem</i>	Cd, Zn	Toxicidad	Van Gestel y Hensbergen, 1997
Gammaridae	<i>Gammarus pulex</i>	Cd, As	Respuestas fisiológicas	Vellinger <i>et al.</i> , 2012 a, b.
Gammaridae	<i>Gammarus pulex</i>	Cd, As	Respuestas fisiológicas, reservas energéticas y biomarcadores enzimáticos (GSH, GCL) y no enzimáticos, (MT, MDA)	Vellinger <i>et al.</i> , 2013
Gammaridae	<i>Gammarus pulex</i>	Zn, Cd, Cu	Acumulación, toxicidad	Jachowicz <i>et al.</i> , 2014
Dogielinotidae	<i>Hyalella azteca.</i>	Cu, Cd, Zn	Acumulación	Shuhaimi-Othman y Pascoe, 2007
Dogielinotidae	<i>Hyalella azteca.</i>	As, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Tl, Cu, Mn, Zn	Bioacumulación y toxicidad	Norwood <i>et al.</i> , 2007
Araceae Vibrionaceae	<i>Lemma minor</i> <i>Vibrio fi</i>	Zn, Cu, Co, Cr	Toxicidad	Ince <i>et al.</i> , 1999
Tubificidae	<i>Limnodrillus hoffmeisteri</i>	Cd, Fe, Zn	Alteraciones estructurales	Grajeda y Ortega <i>et al.</i> , 2011
Mytilidae	<i>M. edulis</i> <i>M. balthica</i>	Cu	Biomarcadores (AChE, MT)	Lehtonen y Leiniö, 2003
Mytilidae	<i>M. galloprovincialis</i>	TiO <sub>2</sub> , Cd	Respuesta inmune	Balbi <i>et al.</i> , 2014
Mytilidae	<i>M. galloprovincialis</i>	Cd, Cu, Hg	Efectos genotóxicos (presencia de micronúcleos)	Varotto <i>et al.</i> , 2013
Mytilidae	<i>M. galloprovincialis</i>	Cu, Cd, Hg	Toxicidad	Prato y Biandolino, 2007
Mytilidae	<i>M. galloprovincialis</i>	Cu, Hg	Acumulación	Raftopoulou y Dimitriadis, 2011
Mytilidae	<i>M. galloprovincialis</i>	Cd	Alteraciones estructurales (lisosomas)	Marigómez <i>et al.</i> , 2005

Tabla 2. (Continuación)

Familia	Especie	Metal/es	Objetivo del estudio	Referencia
Mytilidae	<i>M. galloprovincialis</i>	Cu	Alteraciones bioquímicas (Glutatión, MDA) y estructurales, bioacumulación	Viarengo <i>et al.</i> , 1994
Mytilidae	<i>M. galloprovincialis</i>	Cd, Hg, Cu, Zn	Alteraciones estructurales (lisosomas)	Viarengo <i>et al.</i> , 2000
Mytilidae	<i>M. galloprovincialis</i>	Zn, Cd	Biomarcadores (MT)	Pavičić <i>et al.</i> , 1994a
Mytilidae	<i>Mytilus edulis</i>	Cd	Respuesta inmune, histología,	Sheir y Handy, 2010
Mytilidae	<i>M. edulis</i>	Hg	Respuesta inmune, histología,	Sheir <i>et al.</i> , 2010
Mytilidae	<i>M. edulis</i>	Cd, Cu, Zn	Biomarcadores (MT)	Bebianno y Langston, 1999
Mytilidae	<i>M. edulis</i>	Cd, Cu, Zn	Acumulación	Elliott <i>et al.</i> , 1986
Mytilidae	<i>M. edulis</i>	Mn, Mo	Toxicidad	Morgan <i>et al.</i> , 1986
Salmonidae	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Pb, Cd	Toxicidad y fisiología	Chemov y Wilkie, 2015
Cichlidae	<i>Oreochromis niloticus</i>	Zn, Cd,	Alteraciones bioquímicas	Firat y Kargin, 2010
Ostreidae	<i>Ostrea edulis</i>	Cd, Cu	Respuesta inmune	Auffret <i>et al.</i> , 2002
Parechinidae	<i>Paracentrotus lividus</i>	Zn	Toxicidad	Bellas, 2008
Mytilidae	<i>P. perna</i>	Pb	Alteraciones bioquímicas (CAT, G6PDH, GST, GSSG-reductasa)	Dafre <i>et al.</i> , 2004
Mytilidae	<i>P. viridis</i>	Cd, Hg	Toxicidad, fisiología	Mohan <i>et al.</i> , 1986
Mytilidae	<i>P. viridis</i> <i>P. indica</i>	Cu, Ag	Toxicidad	Menon <i>et al.</i> , 1988
Mytilidae	<i>Perna</i>	Cd, Cu	Biomarcadores (MT)	Baraj <i>et al.</i> , 2011
Mytilidae	<i>Perna viridis</i>	Cd, Cu	Alteraciones bioquímicas: biomarcadores enzimáticos (SOD, GST, GPx, MDH, EST) y no enzimáticos (MDA, MT)	Goswami <i>et al.</i> , 2014
Veneridae	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cd, Pb	Toxicidad (embrionaria y larvaria)	Fathallah <i>et al.</i> , 2013
Salmonidae	<i>Salmo salar</i>	Cu, Zn, Ni, Cr, Pb, Cd	Acumulación	Svecevičius <i>et al.</i> , 2014
Potamidae	<i>Sinopotamon henanense</i>	Cd, Zn	Biomarcadores no enzimáticos (MT, MDA)	Li <i>et al.</i> , 2013b
Strongylocentrotidae	<i>Strongylocentrotus intermedius</i>	Cu, Pb, Zn, Cd	Toxicidad	Xu <i>et al.</i> , 2011
Potamididae	<i>Tympanotonus fuscatus</i>	Zn, Cu, Cd	Toxicidad	Otitoloju, 2002
Unionidae	<i>Utterbackia imbecillis</i>	Cu	Toxicidad	Connors y Black., 2004

Tabla 2. (Continuación)

II.7.3. Metales pesados en *Mytilus* spp.

Los estudios experimentales con mejillones utilizan una amplia gama de especies, la mayoría correspondientes a especies marinas pertenecientes a la familia Mytilidae (géneros *Mytilus* y *Perna*), aunque también se han realizado numerosos estudios sobre especies de agua salobre, pertenecientes a las familias Hyriidae, Dreissenidae, y Unionidae. Dentro del género *Perna*, la mayoría de los estudios se ha realizado con las especies *P. perna* y *P. viridis* y dentro del género *Mytilus* con las especies *M. edulis* y *M. galloprovincialis*. En las Tablas 3 a 7 se presenta una revisión de diferentes estudios realizados sobre efectos biológicos tras la exposición a metales en estas especies.

Especie	Metal/es	Objeto de estudio	Referencia
<i>Anodonta anatina</i>	Cu	Inducción de MT, peroxidación lipídica, glutatión y enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx)	Nugroho y Frank, 2012a
<i>Anodonta anatina</i>	Cu	Fisiología (niveles de Ca, carbohidratos y proteínas)	Nugroho y Frank, 2012b
<i>Anodonta woodiana</i>	Cd	Histopatología	Fitriawan y Sutarno, 2011
<i>Anodonta woodiana</i>	Cu	Acumulación de Cu y proteína de la concha	Kurnia <i>et al.</i> , 2010
<i>Dreissena Polymorpha</i>	Pb	Bioacumulación e Índice de Condición (IC)	Rahnama <i>et al.</i> , 2011
<i>Dreissena polymorpha</i>	F	Bioacumulación y toxicidad	Miner <i>et al.</i> , 2010
<i>Dreissena Polymorpha</i>	Pt, Pd, Rh, Pb, Cd	Inducción de proteínas (hsp70)	Singer <i>et al.</i> , 2005
<i>Dreissena Polymorpha</i>	Pb	Citología	Giambérini y Pihan, 1996
<i>Dreissena Polymorpha</i>	Pb, Zn	Citología	Giambérini y Pihan, 1997
<i>Dreissena Polymorpha</i>	Cd	Citología	Giambérini y Pihan, 2005
<i>Dreissena Polymorpha</i>	Cu, Zn Cd	Toxicidad y tasa de filtración	Kraak <i>et al.</i> , 1994b
<i>Dreissena Polymorpha</i>	Pb	Toxicidad y tasa de filtración	Bleeker <i>et al.</i> , 1992
<i>Dreissena Polymorpha</i>	Cu, Cd	Toxicidad y tasa de filtración	Kraak <i>et al.</i> , 1992
<i>Hyridella australis</i>	Cd	Acumulación	Marasinghe <i>et al.</i> , 2014a
<i>Hyridella australis</i>	Pb	Acumulación	Marasinghe <i>et al.</i> , 2014b
<i>Lamellidens marginalis</i>	Cu	Metabolismo de carbohidratos (LDH, SDH, MDH, G-6-PDH, glucógeno, ácido pirúvico y ácido láctico)	Satyaparameshwar <i>et al.</i> , 2006
<i>Lamellidens corrianus</i>	Cu	Actividad enzimática tisular: Marcadores enzimáticos lisosomas (fosfatasa ácida)	Rajalakshmi y Mohandas, 2005
<i>Elliptio complanata</i>	Pb	Bioacumulación, biomarcadores de exposición (ALAD, actividad ATPasa NaK)	Mosher, 2008
<i>D. polymorpha</i> <i>Elliptio complanata</i> <i>Cyrtodaria siliqua</i> , <i>Mactromeris polynyma</i> , <i>Mesosdesma arctatum</i> , <i>Mya</i> spp. <i>Mytilus edulis</i> , <i>Serripes groenlandicus</i> , <i>Siliqua costata</i>	Ag, Cd, Hg Zn	Respuesta inmune	Sauvé <i>et al.</i> , 2002

**Tabla 3.** Estudios experimentales sobre efectos de los metales pesados en mejillones de agua salobre.

Especie/s	Metal/es	Objeto de estudio	Referencia
<i>P. viridis</i>	Cu, Pb, Zn	GOT GPT LDH ALP	Aanand <i>et al.</i> , 2010
<i>P. viridis</i>	Cd	Toxicidad	Acosta <i>et al.</i> , 2013
<i>P. viridis</i>	Cu	Toxicidad	Acosta y Lodeiros, 2001
<i>P. perna</i>	Cu, Zn, Hg	Bioacumulación y fisiología (tasa de filtración y absorción de O <sub>2</sub> )	Anandraj <i>et al.</i> , 2002
<i>P. perna</i>	Cd, Cu, Fe, Pb	AChE	Bainy <i>et al.</i> , 2006
<i>P. viridis</i>	Cu, Hg	Respuesta inmune	Bindya, 2008
<i>P. viridis</i>	Cd, Zn	Fisiología (CR, AE, Efflux Rate)	Blackmore y Wang, 2002
<i>P. perna</i>	Cd, Cu, Pb	Actividad enzimática (CAT)	Boudjema <i>et al.</i> , 2014
<i>P. perna</i>	Cu	Actividad metabólica (nitrógeno y fósforo), niveles de proteína, actividad enzimática (CAT) y respuesta biológica (MDA)	Brahim <i>et al.</i> , 2014
<i>P. viridis</i>	Cd, Cu, Pb, Zn	Bioacumulación	Chan, 1988
<i>P. viridis</i>	Cd	Bioacumulación	Fernández Suárez, 2012
<i>P. viridis</i>	Pb	Toxicidad, bioacumulación, histología, actividad enzimática (CAT, GST, GSH, peroxidación lipídica (MDA))	Hariharan <i>et al.</i> , 2014
<i>P. viridis</i>	Cu	Bioacumulación e índices de estrés fisiológico (consumo de O <sub>2</sub> , excreción de amonio, ratio O:N, CR, IC)	Krishnakumar y Damodaran, 1991
<i>P. viridis</i>	Cd	Bioacumulación y fisiología	Krishnakumar, 1987
<i>P. viridis</i>	Cd, Cu	Inducción de MT	Lemus <i>et al.</i> , 2014
<i>P. viridis</i>	Cd	Bioacumulación (otros elementos traza)	Liu <i>et al.</i> , 2012
<i>P. viridis</i>	Cd	Fisiología (consumo de oxígeno, excreción de amonio, proteínas totales, índice ARN/ADN, biometría)	Narváez <i>et al.</i> , 2005
<i>P. viridis</i>	Cu	Respuesta inmune (lisosomas)	Nicholson, 2001
<i>P. viridis</i>	Hg	Histopatología	Palacios, 2008
<i>P. viridis</i>	Al, Pb, Cd	Bioacumulación, actividad enzimas antioxidantes y peroxidación lipídica	Prakash y Rao, 1995
<i>P. viridis</i>	Cd, Cu, Pb, Zn	Biometría	Rajkumar <i>et al.</i> , 2011
<i>P. viridis</i>	Cd, Cu, Pb, Zn	Sistema enzimático antioxidante (SOD, CAT, GPx), peroxidación lipídica(MDA), GST, GSH, AChE y proteínas totales	Rajkumar y Milton, 2011
<i>P. viridis</i>	As	AChE	Rajkumar, 2013
<i>P. viridis</i>	Cu, Hg	Actividad enzimática (lisozima y fosfatasa ácida) y cambios histológicos	Sharma <i>et al.</i> , 2006
<i>P. viridis</i>	Ag, Cu, Zn	Bioacumulación, fisiología, inducción de MT	Shi y Wang, 2004
<i>P. viridis</i>	Ag, Cd, Hg, Zn	Acumulación, fisiología: tasa de aclaramiento (CR), eficiencia de asimilación (AE) y la tasa de entrada	Shi y Wang, 2005
<i>P. viridis</i>	Cd	Respuesta inmune (MN)	Sreejamole y Remya, 2014
<i>P. viridis</i>	Pb	Toxicidad	Tan y Lim, 1984
<i>P. viridis</i>	Cu, Hg	Respuesta inmune, PO, generación ROS y fagocitosis	Thiagarajan <i>et al.</i> , 2006
<i>P. perna</i>	Cu	Fisiología (FR, consumo de O <sub>2</sub> , tasa excreción amonio, coeficiente O:N), daño en el ADN	Vosloo <i>et al.</i> , 2012
<i>P. perna</i>	Ag, As, Cd, Co, Cr Mn, Ni, Zn,	Fisiología (tasa de filtración)	Watling y Watling., 1982
<i>P. viridis</i>	Cd	Inducción de MT, bioacumulación	Yang y Thompson, 1996
<i>P. viridis</i>	Cd, Cu, Pb, Zn	Toxicidad	Yap <i>et al.</i> , 2004b
<i>P. viridis</i>	Pb	Bioacumulación	Yap <i>et al.</i> , 2004a

**Tabla 4.** Estudios experimentales sobre efectos de los metales pesados en moluscos bivalvos del género *Perna*.

Metal/es	Objetivo del estudio	Referencia
Cu	Toxicidad, acumulación, fisiología (CR), histopatología, genotoxicidad (daño en el ADN), contenido de glutatión	Al-Subiai <i>et al.</i> , 2011
Cd, Cu, Zn	Acumulación (índice de concentración)	Amiard-Triquet <i>et al.</i> , 1986
Cd, Pb, Cu, Zn	Acumulación (índice de concentración)	Amiard, 1986
Zn	Embriotoxicidad	Bellas <i>et al.</i> , 2005
Cu, Zn	Consumo de O <sub>2</sub>	Brown y Newell, 1972
Ti	Toxicidad	Busk, 2011
Cu, Ag	Bioacumulación e histopatología	Calabrese <i>et al.</i> , 1984
Cd	Respuesta inmune	Coles <i>et al.</i> , 1995
Cd, Cu	Bioquímica (composición ácidos grasos y lípidos)	Fokina <i>et al.</i> , 2013
Ag, Cd, Cu, Hg Zn	Biomarcadores de exposición (MT) y de peroxidación lipídica (MDA)	Géret <i>et al.</i> , 2002
Zn	Estudios fisiológicos e histopatológicos	Hietanen <i>et al.</i> , 1988a
Zn	Acumulación	Hietanen <i>et al.</i> , 1988b
Cu	Toxicidad	Hoare <i>et al.</i> , 1995
Cu	Respuesta inmune	Höher <i>et al.</i> , 2013
Cu	Toxicidad	Hvilsom, 1983
Cu	Respuesta inmune	Parry y Pipe, 2004
Cu	Respuesta inmune	Pipe <i>et al.</i> , 1999
Cd, Cu, Zn, Hg	Acumulación	Roesijadi y Fellingham, 1987
Ag, Cd, Hg y Zn	Respuesta inmune	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
Cd	Respuesta inmune, acumulación, estado fisiológico (IC), histopatología, biomarcadores de exposición (MT)	Sheir <i>et al.</i> , 2013
Zn, Hg, Cu, Cd, Pb, Ni	Toxicidad (crecimiento)	Strömgren, 1982
Cd, Cu	Histopatología	Sunila, 1986
Cu, Se	Respuesta inmune	Trevisan <i>et al.</i> , 2011

**Tabla 5.** Estudios experimentales sobre efectos de los metales pesados en la especie *Mytilus edulis*.

Metal/es	Objetivo del estudio	Referencia
Cu, Cd, Hg	Toxicidad	Annicchiarico <i>et al.</i> , 2007
Ni	Biomarcadores enzimáticos (GST, CAT), peroxidación lipídica (MDA), respuesta a la exposición de metales (MT), evaluación sistema colinérgico (AChE)	Attig <i>et al.</i> , 2010
Ni	Actividad bioquímica (GST, CAT, MDA, MT, AChE)	Attig <i>et al.</i> , 2014
Cd	Biomarcadores de exposición (MT)	Bebianno y Langston, 1992
Hg	Toxicidad	Beiras y His, 1995
Cu	Actividad metabólica (nitrógeno y fósforo), niveles de proteína, actividad enzimática (CAT) y respuesta biológica (MDA)	Brahim <i>et al.</i> , 2014
Hg, Cu	Actividad enzimática (PMCA)	Burlando <i>et al.</i> , 2004
Cd	Alteraciones morfométricas granulocitos	Calisi <i>et al.</i> , 2008
Cu	Actividad enzimática (Hexoquinasa)	Canesi <i>et al.</i> , 1998
Cu, Hg	Metabolismo glutatión (GCS, GST)	Canesi <i>et al.</i> , 1999
Cr	Acumulación, alteraciones histológicas, metabolismo (glutatión), actividad enzimática (GST, GSR, CAT, PFK, PK) (AChE, ChAT, TH) y no enzimática (MT)	Ciacci <i>et al.</i> , 2012
Zn	Fisiología y actividad enzimática (MDH, citocromo oxidasa, NADH-citocromo c reductasa, Succinato-citocromo c oxidoreductasa, Duroquinol-citocromo c oxidoreductasa)	De Lisi <i>et al.</i> , 2013
Hg, Ag, Pb, Cu	Compartimentación	Domouhtsidou y Dimitriadis, 2000
Ni	Biomarcadores celulares y tisulares (estabilidad de la membrana lisosomal de la glándula digestiva, actividad de la AChE, ratio del volumen lisosoma/citosol)	Dondero <i>et al.</i> , 2011
Cu, Cd, Zn	Alteraciones morfométricas (lisosomas)	Etxeberria <i>et al.</i> , 1994
Cu, Hg, Cd, Zn	Fisiología (respuesta en el movimiento de las valvas)	Fdil <i>et al.</i> , 2006
Cu	Actividad enzimática (SOD, CAT, GPX) MT, MDA, metabolismo (concentración de proteínas totales)	Gomes <i>et al.</i> , 2011
Cd, Cu	Alteración del citoesqueleto y producción de ROS	Gómez-Mendikute y Cajaraville, 2003
Hg	Bioquímica (GST, CAT, MDA)	Khessiba <i>et al.</i> , 2001
Cd	Actividad enzimática (CAT, SOD, GST), producción de ROS, MDA, efectos genotóxicos (alteración del ADN)	Koutsogiannaki <i>et al.</i> , 2014
Cd, Zn, Hg	Toxicidad, biomarcadores de exposición (MT)	Pavičić <i>et al.</i> , 1994a
Cu, Cd, Hg	Toxicidad	Prato <i>et al.</i> , 2006
Cd, Cu	Acumulación, actividad enzimática (SOD), efectos genotóxicos (MN), peroxidación lipídica (MDA), contenido de MT	Pytharopoulou <i>et al.</i> , 2011
Cu	Actividad enzimática (glutatión reductasa, Glyoxalase I y II, GST, GPX, CAT, SOD, fosfatasa alcalina, colinesterasa, arylesterasa) y bioacumulación de elementos traza (As, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se y Zn)	Regoli y Principato, 1995
Cd	Biomarcadores de exposición (MT), influencia de la temperatura y el tamaño	Serafim <i>et al.</i> , 2002
Cd	Biomarcadores de exposición (MT) y concentración de elementos traza (Cd, Zn, Cu, Fe)	Serra <i>et al.</i> , 1999
Cu, Cd, Zn	Biometría	Soto <i>et al.</i> , 2000
Cd, Cu, Zn	Bioacumulación y peroxidación lipídica (MDA)	Viarengo <i>et al.</i> , 1990
Cu	Alteraciones histológicas, glutatión (GSH), MDA, bioacumulación	Viarengo <i>et al.</i> , 1994
Cu Cd	Biomarcadores de exposición (MT)	Viarengo <i>et al.</i> , 1997
Cd, Fe	Biomarcadores de exposición (MT), peroxidación lipídica (MDA), enzimas antioxidantes (SOD, CAT), GPX, ensayos de glutatión (GSH)	Viarengo <i>et al.</i> , 1999
Cu, Cd, Cr, Fe	Bioquímica: actividad enzimática antioxidante (SOD, CAT) y peroxidación lipídica (MDA)	Vlahogianni y Valavanidis, 2007
Cd, Cu	Biomarcadores de exposición (MT)	Zorita <i>et al.</i> , 2007

**Tabla 6.** Estudios experimentales sobre efectos de los metales pesados en la especie *Mytilus galloprovincialis*.

Especie	Metal/es	Objeto de estudio	Referencia
<i>Bathymodiolus azoricus</i>	Cd	Actividad enzimática antioxidante (SOD, CAT, GPx), inducción de MT, peroxidación lipídica (MDA), capacidad oxidante total (TOSC), concentración total de proteínas	Company <i>et al.</i> , 2006
<i>Bathymodiolus azoricus</i>	Cu	Actividad enzimática antioxidante (SOD, CAT, GPx), inducción de MT, MDA, TOSC, concentración total de proteínas	Company <i>et al.</i> , 2008
<i>Perumytilus purpuratus</i>	Cu	Toxicidad	Acevedo <i>et al.</i> , 2010

**Tabla 7.** Estudios experimentales sobre efectos de los metales pesados en otras especies de la familia Mytilidae.

La batería de biomarcadores empleados en estudios experimentales realizados sobre *M. galloprovincialis* es muy amplia, evaluándose sobre todo marcadores bioquímicos relacionados con el estrés oxidativo. Así pues se ha podido comprobar que las exposiciones a metales como Cd, Cu, Ni, Zn, Cr y Fe ocasionan un incremento de especies reactivas de oxígeno (Vlahogianni, 2007; De Lissi *et al.*, 2013; Attig *et al.*, 2014; Koutsogiannaki *et al.*, 2014). No obstante son muchos más los efectos observados a nivel bioquímico, como las alteraciones sobre la actividad ATPasa de la membrana plasmática tras la exposición a Hg y Pb (Burlando *et al.*, 2004), sobre la AChE, indicativa de neurotoxicidad en exposiciones a Cr, Ni y Cu (Gomes *et al.*, 2011; Ciacci *et al.*, 2012; Attig *et al.*, 2010, 2014), o sobre las enzimas relacionadas con el metabolismo como GST (glutación S-transferasa) y GR (glutación reductasa), enzimas glucolíticas como PFK (fosfo fructoquinasa) y PK (piruvato quinasa), por citar algunas.

Otros efectos directos observados varían desde la determinación de la toxicidad aguda para metales como Cu, Cd y Hg (Prato *et al.*, 2006; Prato y Biandolino, 2007), a las alteraciones estructurales por exposición a Cd (Calisi *et al.*, 2008), alteraciones en el ADN por exposición a Cd, Cu, Hg y sus mezclas (Varotto *et al.*, 2013), alteraciones de la respuesta inmune (por ejemplo con el alargamiento de los lisosomas de la glándula digestiva por exposición a Cu Cd y Zn), (Etxeberria *et al.*, 1994; Viarengo *et al.* 2000; Nicholson *et al.*, 2001; Marigómez *et al.*, 2005; Calisi *et al.* 2008), alteraciones en la biometría tras la exposición a Cu, Cd y Zn (Soto *et al.*, 2000), alteraciones fisiológicas en el movimiento de las valvas tras la exposición de Cu, Hg, Cd y Zn (Fdil *et al.*, 2006), o más recientemente, efectos a nivel del metaboloma (López-San Nicolás *et al.*, 2013).

Los estudios de biomarcadores no enzimáticos como las metalotioneínas también son habituales en los bioensayos para evaluar los efectos de metales como Ni, Cd y Cu (Zorita *et al.*, 2007; Baraj *et al.*, 2011; Attig *et al.*, 2014).

Aunque muchos de los estudios analizan la acumulación de los metales, ésta se suele evaluar en la totalidad de tejidos blandos. No obstante también se han realizado estudios para ver acumulación en los distintos tejidos o compartimentos, sobre todo en glándula digestiva y branquias (Raftopoulou y Dimitriadis, 2011; Pytharopoulou *et al.*, 2011).

Con menor frecuencia se describe el efecto de la exposición a un metal sobre la acumulación de otros elementos inorgánicos. Ejemplos de ellos son los estudios de Serra *et al.* (1999) y los obtenidos por nuestro grupo en un estudio no publicado, para la exposición a Cd, y el de Regoli y Principato (1995) para la exposición a Cu.

Finalmente cabe decir que también se ejecutan experimentos orientados a la comparación de los efectos de los metales con otros contaminantes, como DDE, pesticidas organofosforados como el clorpirifos, o sustancias estrogénicas como el estradiol, si bien se realizan utilizando los contaminantes aisladamente, y en escasas ocasiones en forma de mezclas (Pavičić *et al.*, 1994a, b; Viarengo *et al.*, 2000; Marigómez *et al.*, 2005; Raftopoulou y Dimitriadis, 2011; Varotto *et al.*, 2013).



## III. MATERIAL Y MÉTODOS

---



### III.1. Muestreo y aclimatación

Los individuos con los que se realizaron las pruebas experimentales para el desarrollo de la presente tesis eran ejemplares adultos de mejillón silvestre (*Mytilus galloprovincialis*), los cuales fueron recogidos en mayo de 2013 en Cabo Home (Pontevedra, referencia geográfica LA 5 42°15.007 LO 08°52.333) por muestreadores que participan en los programas de monitorización de la contaminación marina en España. Este paraje rocoso se encuentra lejos de cualquier actividad antropogénica y la alta densidad de mejillones permite un muestreo sencillo y repetitivo. Se recogieron 650 mejillones de una talla comprendida entre 40 y 50 mm, tomándolos suavemente desde el substrato, y procediendo a la reducción de sus hilos de biso usando unas tijeras.

Los mejillones fueron transportados (en frío y expuestos al aire) mediante servicio urgente de transporte (durante la noche y en menos de 24 horas) al Centro Oceanográfico de Murcia (Instituto Español de Oceanografía), y de ahí al laboratorio de Toxicología de la Universidad de Murcia. Una vez aquí los mejillones fueron aclimatados en tanques de 22 litros a las condiciones del laboratorio: agua de mar filtrada (0.5 µm), temperatura ambiental (20-24°C), aireación continua y fotoperiodo natural. El tiempo de aclimatación fue de 14 y 21 días (primera y segunda fase experimental respectivamente). Durante este periodo los individuos fueron alimentados con la microalga *Isochrysis galbana* (clon t-ISO) con una ración aproximada de 0.1% de materia orgánica de microalgas por peso vivo de mejillón, considerada esta como ración de mantenimiento (González-Fernández *et al.*, 2015b).

Las microalgas fueron cultivadas a partir de cepas puras proporcionadas por el Área de Medio Marino y Protección Ambiental (Fisiología y Ecotoxicología de moluscos bivalvos) del Centro Oceanográfico de Murcia (IEO). Para ello se seleccionaron cepas de entre 7 y 10 días, cultivando las que presentaban un mejor estado respecto a aspecto, movilidad, ausencia de contaminación, limpieza, densidad y ausencia de acúmulos de células.

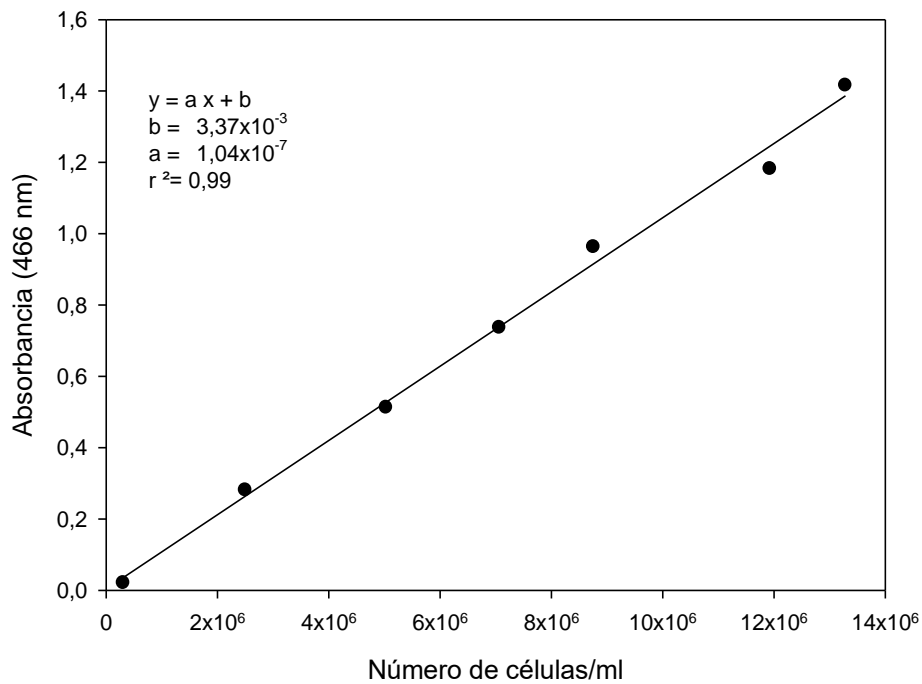
Una vez seleccionada la cepa (100 ml), las microalgas se hacían crecer en recipientes de plástico de 8 litros previamente desinfectados, con agua de mar filtrada a la que se

adicionaba 1 ml de Medio Walne y 0.1 ml de solución de vitaminas por litro de agua, manteniéndolo todo a temperatura ambiente, con aireación continua y con luz fluorescente (OSRAM L 58W/77 FLUORA). La composición del medio Walne y de la solución de vitaminas es la indicada en la Tabla 8. Las soluciones así preparadas se acidificaban a pH 4.5.

Medio Walne		Solución de vitaminas	
<b>Solución básica de nutrientes (por litro de agua destilada)</b>		Cianocobalamina (B12)	10 mg
Cl <sub>3</sub> Fe.6H <sub>2</sub> O	1.3 g	Tiamina.HCL (B1)	200 mg
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.36 g	Biotina (H)	10 mg
BO <sub>3</sub> H <sub>3</sub>	33.6 g		
C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>8</sub> .2H <sub>2</sub> O	45 g		
PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> Na.2H <sub>2</sub> O	20 g		
NO <sub>3</sub> Na	100 g		
Solución metales traza	1 ml		
<b>Solución de metales traza (en 100 ml de agua destilada)</b>			
Cl <sub>2</sub> Zn	2.1 g		
Cl <sub>2</sub> Co.6H <sub>2</sub> O	2 g		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.9 g		
SO <sub>4</sub> Cu.5H <sub>2</sub> O	2 g		

**Tabla 8.** Composición del medio Walne y vitaminas utilizadas para la alimentación del fitoplancton (*Isochrysis galbana*, clon t-ISO).

Para conocer la cantidad de cultivo de microalgas a administrar diariamente en los tanques con los mejillones, se determinó la equivalencia entre el número de células (medido mediante un contador de partículas Coulter Z2) y su absorbancia colorimétrica (medida en un espectrofotómetro UV-1603, Shimadzu a una longitud de onda de 466 nm) (Figura 2).



**Figura 2.** Curva patrón para la equivalencia ente absorbancia y n° de células.

### III.2. Selección de ejemplares

Una vez finalizada la fase de aclimatación se procedió a la selección de mejillones para la realización de los bioensayos. Para el primer ensayo se seleccionaron 144 individuos, y para el segundo 180. En ambas fases experimentales, los mejillones se repartieron en grupos de 12 individuos por tanque, con tres tanques por tratamiento y tres tanques control. Los individuos de cada tanque fueron seleccionados en base a su peso vivo (8-11 gramos), estando comprendido el peso total por tanque entre 113.35 y 117.61 gramos (fase experimental 1), y entre 110.32 y 113.94 (fase experimental 2). El peso medio por individuo fue de  $9.62 \pm 0.95$  gramos (fase experimental 1) y de  $9.50 \pm 0.86$  (fase experimental 2). Además de los pesos se midió la longitud (L), altura (H) y ancho (W) de la concha, así como los índices L/H, L/W y H/W (Tabla 9). El volumen de la cavidad interna se calculó a partir de la fórmula siguiente:  $\frac{4}{3} \times \pi \times (L/2) \times (H/2) \times (W/2)$ .

	Fase experimental 1	Fase experimental 2
<b>Longitud (L)</b>	44.68 ± 1.62	44.32 ± 1.65
<b>Altura (H)</b>	22.43 ± 1.39	22.41 ± 1.37
<b>Ancho (W)</b>	17.69 ± 1.39	17.68 ± 1.24
<b>L/H</b>	2.00 ± 0.12	1.98 ± 0.12
<b>L/W</b>	2.54 ± 0.26	2.52 ± 0.19
<b>H/W</b>	1.28 ± 0.15	1.28 ± 0.13
<b>Volumen</b>	9.28 ± 1.02	9.19 ± 0.89

**Tabla 9.** Datos biométricos de la concha y volumen de los individuos utilizados en las dos fases experimentales (L, H, W, L/H, L/W y H/W en mm; Volumen en ml).

### III.3. Exposición a Pb, Cd, Cu y sus mezclas

La exposición a los metales se realizó en dos fases experimentales consecutivas. En la primera se procedió a la exposición a Pb, Cu y a una mezcla de Pb y Cu. En la segunda fase la exposición fue a Cd, Cd+Pb, Cd+Cu y Cd+Pb+Cu.

Metal/es	Concentración nominal ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
<b>Plomo</b>	1,000
<b>Cobre</b>	100
<b>Cadmio</b>	100
<b>Plomo+Cobre</b>	1,000+100
<b>Cadmio+Plomo</b>	100+1,000
<b>Cadmio+Cobre</b>	100+100
<b>Cadmio+Plomo+Cobre</b>	100+1,000+100

**Tabla 10.** Concentración de los metales pesados utilizados en ambos diseños experimentales.

Los metales se prepararon en una solución inicial en agua de mar filtrada, a las siguientes concentraciones: 800 mg L<sup>-1</sup> (Pb), 200 mg L<sup>-1</sup> (Cd) y 200 mg L<sup>-1</sup> (Cu), a partir de las cuales se prepararon las concentraciones de trabajo (80, 20 y 20 mg L<sup>-1</sup> respectivamente). Los metales se utilizaron en forma de nitrato de plomo (Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Panreac), cloruro de cadmio (CdCl<sub>2</sub>, Sigma) y sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>, Panreac).

Inicialmente los tanques fueron rellenos con 12 litros de agua de mar filtrada, a las concentraciones finales anteriormente indicadas. Diariamente se administraba la ración de microalgas en 16 raciones de 100 ml cada una (0.1% de materia orgánica de microalgas por peso vivo de mejillón), administrando seguidamente la dosis de metal o metales correspondiente para mantener la concentración objeto de estudio. A los cuatro días de exposición se procedió a la renovación completa del agua de cada tanque, siendo la duración de cada fase experimental de 7 días. Durante este tiempo se mantuvieron las mismas condiciones de temperatura, fotoperiodo y aireación que en la fase de aclimatación, monitorizándose la temperatura interior de cada tanque, la exterior (ambiental), el pH y la osmolaridad (Tabla 11).

	Fase experimental 1	Fase experimental 2
Temperatura interior (°C)	24.81 ± 0.61	25.69 ± 0.67
Temperatura ambiente (°C)	24.91 ± 0.93	25.92 ± 0.82
pH	8.03 ± 0.07	7.96 ± 0.23
Osmolaridad (mmol Kg <sup>-1</sup> )	1,086.30 ± 28.39	1,046.88 ± 15.15

Tabla 11. Condiciones ambientales para cada fase experimental.

#### III.4. Comportamiento alimentario

El consumo total de microalgas (mg de materia orgánica) se evaluó diariamente y al finalizar el periodo de exposición. Además, cada día evaluamos el porcentaje de consumo de alimento en un periodo de tiempo determinado (30 minutos y 24 horas). Para la determinación de estos consumos se utilizó un analizador de tamaño y recuento de partículas Coulter Z2, siguiendo el siguiente protocolo:

- En primer lugar se analizaba la concentración de microalgas presente en cada tanque. A partir de este dato y con la información correspondiente al suministro diario de fitoplancton, se calculaba el consumo en 24 horas (porcentaje o tasa de aclaramiento y mg de materia orgánica consumida). Para estos cálculos se consideró que la cantidad de materia orgánica de una célula de *Isochrysis galbana* (t-ISO) es de  $2 \times 10^{-8}$  mg.

- A continuación se añadía fitoplancton en cada tanque a razón de 25,000 células por mL, analizando de inmediato la concentración de microalgas presentes. Pasados 30 minutos se volvía a realizar una lectura de la concentración de fitoplancton, con lo que se determinaba el porcentaje de consumo de fitoplancton en dicho periodo de tiempo.

### III.5. Parámetros biométricos

Una vez finalizada cada fase experimental se procedió al estudio biométrico y toma de muestras para los estudios posteriores. En primer lugar se pesaron todos los individuos en fresco. Las tres dimensiones lineales de la concha se midieron con pie de rey (precisión 0.1 mm). Así pues se midieron los ejes para obtener la longitud (eje máximo antero-posterior), altura (eje máximo dorsoventral) y la anchura (eje máximo lateral).

Todos los individuos de cada tanque fueron cuidadosamente abiertos mediante un bisturí, y valvas, branquias, glándula digestiva y resto de tejidos blandos fueron pesados, acondicionados en microtubos y almacenados a -80°C. Los siguientes índices biológicos fueron calculados mediante la relación entre el peso de los órganos correspondientes y el peso total de los tejidos blandos: IB (índice branquial), IHS (índice hepatosomático) e IR (índice de resto de tejidos blandos). Además se obtuvieron los siguientes índices:

$$IC_{\text{valvas}} = [(\text{Peso Tejidos Blandos}/\text{Peso Valvas}) \times 100]$$

[Índice de condición de las valvas]

$$IC_{\text{vol}} = [\text{Peso de tejidos blandos}/\text{volumen del mejillón}) \times 100]$$

[Índice de condición volumétrico, donde volumen del mejillón o cavidad interna, en ml =  $4/3 \times \pi \times (L/2) \times (H/2) \times (W/2)$ ]

$$IC = [\text{Peso Tejidos Blandos}/ (\text{Peso Tejidos Blandos} + \text{Peso Valvas}) \times 100]$$

[Índice de condición]

Para poder comparar los resultados obtenidos con otros estudios en los que se expresan los resultados en peso seco se procedió a determinar el porcentaje de humedad en los



tejidos de mejillones del mismo lote (no utilizados en los procedimientos experimentales), siendo estos los siguientes:

	Porcentaje de humedad
<b>Branquia</b>	87.107±1.212
<b>Glándula digestiva</b>	82.742±2.744
<b>Resto de tejidos blandos</b>	83.290±2.345
<b>Individuo completo</b>	86.120±2.860

**Tabla 12.** Porcentaje de humedad en tejidos de mejillón.

### III.6. Actividad fenoloxidasas

La obtención de la hemolinfa se realizó mediante punción en el músculo aductor con una aguja de 23G. Las muestras así obtenidas fueron trasvasadas a un microtubo, retirando la aguja para evitar lisis celular. La hemolinfa se centrifugó a 400xg durante 5 minutos a 4°C, y a continuación el sobrenadante fue retirado y guardado en congelación (-20°C).

La actividad fenoloxidasas (PO) de la hemolinfa se midió en placas de microtitulación de 96 pocillos mediante el método fotocolorimétrico descrito por Asokan *et al.* (1997), y que consiste en la evaluación de la formación de dopacromo partir de L-DOPA. Para ello, 50 ml de hemolinfa se incubaron durante 5 minutos a temperatura ambiente con 50 ml de dodecil sulfato sódico (SDS, Sigma) como activante (1 mg ml<sup>-1</sup>). A continuación, 50 ml de L-DOPA (3 mg ml<sup>-1</sup> en HCl 0.5 M con CaCl<sub>2</sub> 10 mM) (Sigma Chemical Company, MO, USA) se adicionaron como sustrato, y tras incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos se determinó la absorbancia a 490 nm usando para ello un lector de microplacas FLUOstar Omega, BMG Labtech. La concentración total de proteína en la hemolinfa se determinó a partir del método descrito por Bradford (1976), en placas de microtitulación de 96 pocillos, mezclando para ello 10 µl de hemolinfa con 250 µl de reactivo Bradford (Sigma) y determinando la absorbancia a 590 nm. Simultáneamente se realizaron curvas patrón de proteína utilizando albúmina sérica bovina (Sigma) como proteína estándar. La actividad enzimática se expresó como unidades de absorbancia por mg de proteína (Vargas-Albores y Barracco, 2001).

### III.7. Determinación de elementos inorgánicos

La concentración de elementos inorgánicos fue determinada en branquia, glándula digestiva, resto de tejidos blandos y heces. Para la investigación en tejidos se seleccionaron tres individuos de cada tanque, en base al valor del IC y tomando uno de cada tercil. Para el estudio en heces, se recogieron las mismas al final del periodo de estudio, se centrifugaron (3,000 rpm durante 5 minutos) y se lavaron tres veces con agua purificada milliQ para retirar los restos de agua de mar, centrifugando de nuevo y desecándolas finalmente para su análisis.

Los elementos inorgánicos analizados fueron por un lado Pb, Cd y Cu, como elementos objeto de tratamiento, y por otro lado elementos traza (mayoritarios y minoritarios):

- Elementos mayoritarios: Ca, K, Mg, Na, P y S.
- Elementos minoritarios: Al, As, Be, Bi, B, Co, Cr, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Sb, Se, Sr, Ti, Tl, V y Zn.

Estos elementos se analizaron mediante espectrometría de emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES, ICAP 6500 Duo, Thermo Scientific). Previamente se procedió a la digestión de las muestras (0.1 g) con 4 ml de HNO<sub>3</sub> (PA-ISO 69%, Suprapure, Merck) y 1 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (33%, Suprapure, Merck) en tubos de teflón, sometiénolas a continuación a 220°C durante 20 minutos en un microondas UltraClave-Milestone. Finalmente las muestras enfriadas y digeridas se enrasaron con 25 ml de agua MilliQ. Se realizaron dos lecturas para cada muestra, y los valores de concentración se obtuvieron a partir de la media de las lecturas. Para comprobar la ausencia de contaminación, se analizó 1 blanco por cada 11 muestras. Se utilizaron patrones de calibración multielementales con diferentes concentraciones de elementos inorgánicos, tomando como referencia la norma UNE-EN ISO 11885 para la determinación de elementos por ICP-OES. Además, se prepararon patrones intermedios de todos los elementos. La calibración del equipo fue establecido por lotes, con un mínimo de tres puntos para cada lote. El orden de la serie analítica se iniciaba con los estándares de calibración y se continuaba con las muestras y los patrones intermedios, terminando la

serie de nuevo con patrones intermedios (10% de coeficiente de variación). Las longitudes de onda para cada elemento se muestran en la Tabla 13.

<b>Elementos objeto de estudio</b>	<b>Pb</b>	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>				
	220.353	214.438	324.754 224.700				
<b>Elementos mayoritarios</b>	<b>Ca</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Na</b>	<b>P</b>	<b>S</b>	
	184.006 315.887	766.490	202.582 279.079	589.592	185.942 213.618 214.914	180.731 182.034	
<b>Elementos minoritarios</b>	<b>Al</b>	<b>As</b>	<b>Be</b>	<b>Bi</b>	<b>B</b>	<b>Co</b>	
	167.079 396.152	193.759	234.861 313.042	223.061	208.959	228.616	
	<b>Cr</b>	<b>Fe</b>	<b>Li</b>	<b>Mn</b>	<b>Mo</b>	<b>Ni</b>	
	205.552	259.940 238.204	670.784	259.373 259.373R	202.030 277.540 284.823	231.604	
	<b>Sb</b>	<b>Se</b>	<b>Sr</b>	<b>Ti</b>	<b>Tl</b>	<b>V</b>	<b>Zn</b>
	217.581 206.833	196.090 203.985	421.552	336.121 334.941	190.856	268.796 292.402	206.200

**Tabla 13.** Longitudes de onda (nm) para cada elemento objeto de estudio.

Los porcentajes de incertidumbre de los elementos fueron los siguientes:

Elementos objeto de estudio: Pb=6.14, Cd=4.56, Cu=4.12.

Elementos mayoritarios: Ca=4.34, K=4.56, Mg=4.7, Na=5.23, P=3.45, S=4.25.

Elementos minoritarios: Al=5.38, As=5.56, Be=8.91, Bi=5.47, B=3.54, Co=5.97, Cr=4.3, Fe=3.92, Li=6.78, Mn=6.15, Mo=6.07, Ni=4.83, Sb=7.61, Se=6.43, Sr=7.04, Ti=8.12, Tl=7.05, V=6.78, Zn=5.02.

Las concentraciones se expresan como mg por gramo de peso húmedo de tejido y por peso seco en heces. El límite de detección para todos los elementos analizados fue 0.010 mg kg<sup>-1</sup>.

### III.8. Análisis estadístico

Se calcularon los estadísticos descriptivos para las variables biométricas, ingesta de alimento, acumulación de los metales objeto de estudio, acumulación de elementos traza mayoritarios y minoritarios, distribución de todos los elementos inorgánicos, así como de la actividad fenoloxidasa. Además, para cada fase experimental se obtuvieron los datos relativizados de cada tratamiento con respecto a su control.

Se realizaron estudios de comparación de medias de cada tratamiento con respecto a sus controles y entre todos los tratamientos entre sí (datos relativizados), mediante pruebas paramétricas (t-Student y ANOVA) y no paramétricas (U de Mann-Whitney y Kruskal Wallis) cuando no se cumplían los requisitos de normalidad y de homogeneidad de varianzas. Las pruebas post-hoc realizadas fueron los test de Tukey, Games-Howell y Dunn. Todos los análisis estadístico se realizaron con el programa estadístico SPSS v.15.0 para Windows. En todos los casos, los valores de  $p$  inferiores a 0.05 se consideraron estadísticamente significativos.

La evaluación de los efectos antagónicos, aditivos o sinérgicos se realizaron en base a lo indicado por Kungolos *et al.*, (1999) y Hadjispyrou *et al.*, (2001). En el caso de las exposiciones a las mezclas binarias, una vez determinado el porcentaje de efecto a nivel biométrico, alimentario e inmunitario con respecto al grupo control (respuesta observada o POBS), se determinó la respuesta esperada (PE (x+y)) a partir de la fórmula siguiente (hipótesis nula, H<sub>0</sub>):

$$H_0: PE (x + y) = [(Px)+(Py)]-[(Px) x (Py)/100]$$

donde Px es el porcentaje de la respuesta analizada (biometría, alimentación y respuesta inmune) con respecto a la del grupo control, tras la exposición de uno de los metales estudiados, y Py el porcentaje de dicha actividad tras la exposición al segundo de los metales.

Para la mezcla ternaria los pasos fueron los mismos, y la fórmula a tener en cuenta para obtener la respuesta esperada fue la siguiente:

$$H_0: PE (x+y+z) = 100-[(100-Px) x (100-Py) x (100-Pz)]/10^4$$

donde al igual que en el caso anterior,  $P_x$ ,  $P_y$  y  $P_z$  se corresponden con los porcentajes de la respuesta analizada con respecto a la del grupo control, tras la exposición de cada uno de los metales estudiados.

Una vez obtenido el valor PE, se calculó la diferencia entre la respuesta observada y la respuesta esperada ( $PDIFF = POBS - PE$ ), lo cual nos daba un signo positivo o negativo. A continuación se realizó un test de comparación de medias (paramétrico o no paramétrico), comparando los resultados experimentales de la mezcla binaria o ternaria con los valores obtenidos a partir de los resultados de exposición individual y aplicada la fórmula  $H_0: PE$ . De este test se obtuvo el dato de si la diferencia era estadísticamente significativa o no. Si la diferencia no era estadísticamente significativa, la interacción se consideró aditiva. Si la diferencia era positiva y estadísticamente significativa, la interacción fue considerada antagónica o menor que aditiva. Si la diferencia era negativa y estadísticamente significativa, el tipo de interacción considerado fue el sinérgico o mayor que el aditivo.



## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---





#### IV.1. Idoneidad del modelo experimental

Los bioensayos son herramientas ampliamente utilizadas en la evaluación de efectos de los contaminantes sobre el medio marino. Hasta la fecha, son muchos los trabajos publicados en los que se han reproducido en el laboratorio diferentes condiciones ambientales y de exposición, aportando gran cantidad de datos sobre los efectos biológicos de diferentes contaminantes sobre organismos marinos. Por ello, antes de abordar los resultados del estudio, es importante valorar la idoneidad del modelo utilizado en el desarrollo de esta tesis, así como las condiciones en las que el proceso experimental se ha desarrollado.

Es sabido que en general, los moluscos bivalvos acumulan y toleran altas concentraciones de contaminantes orgánicos y metálicos (Phillips 1980b; Goldberg, 1986), siendo en particular los pertenecientes al género *Mytilus* los que se utilizan con mayor frecuencia, tanto en estudios de laboratorio (bioensayos) como en programas de vigilancia ambiental (biomonitoreo). Ahora bien, no todas las especies tienen el mismo comportamiento en lo respecta a la bioacumulación y a la respuesta biológica (biomarcadores), hecho puesto de manifiesto en estudios como el de Brooks *et al.* (2015), en el que se comprobó la existencia de diferentes respuestas en función de la especie animal (*M. galloprovincialis*, *M. edulis* y *M. trossulus*), probablemente debido a diferencias fisiológicas. La especie seleccionada en nuestro estudio fue *Mytilus galloprovincialis*, una de las especies de referencia en los programas de vigilancia ambiental marina (dando cumplimiento a la directiva marco sobre estrategia marina), y de la que se dispone de gran información sobre su biología y respuesta a la presencia de contaminantes ambientales. En lo que respecta a la normativa vigente sobre animales utilizados con fines experimentales y científicos (RD 53/2013), el mejillón silvestre no precisa permiso alguno para su uso en bioensayos, por lo que no fue necesario someter el proyecto a la evaluación de la Comisión de Ética de Investigación ni al Comité Ético de Experimentación Animal de la Universidad de Murcia para la correspondiente autorización por parte de la autoridad competente (Dirección General de Agricultura, Ganadería, Pesca y Acuicultura, Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente, Comunidad Autónoma de la Región de Murcia).

Los metales pesados están presentes en todos los ecosistemas marinos, lo cual hace inevitable la presencia de ciertas concentraciones en los ejemplares obtenidos de cualquier parte del litoral español. Por este motivo y gracias a la información previa obtenida de estudios biomonitorización (Costas-Rodríguez *et al.*, 2010; Besada *et al.*, 2011a,b; González-Fernández *et al.*, 2015a), seleccionamos como punto de muestreo Cabo Home (Pontevedra), una zona considerada como no contaminada, sin posibles fuentes de contaminación cercanas (Albentosa *et al.*, 2012), con un índice de polución química menor de 1 (Besada *et al.*, 2014; González-Fernández *et al.*, 2015a) y con una alta condición nutritiva y reproductora (González-Fernández *et al.*, 2015a).

La fase de aclimatación se realizó exponiendo a los ejemplares a las condiciones físico-químicas y nutricionales a las que, con posterioridad, iban a ser sometidos para el desarrollo de la fase experimental. De esta manera conseguimos una adaptación gradual a las nuevas condiciones ambientales, lo cual es necesario ya que una aclimatación inadecuada puede producir estrés y muerte de los organismos e invalidar los resultados experimentales. En nuestro estudio, el periodo de aclimatación seleccionado fue de 15 y de 21 días (fases experimentales 1 y 2), aunque según la bibliografía consultada este periodo llega a ser muy variable, dependiendo del objetivo planteado en el ensayo, pudiendo ser desde un día (Bainy *et al.*, 2006), 3 días (Canesi *et al.*, 1999; Viarengo *et al.*, 2000; Burlando *et al.*, 2004; Balbi *et al.*, 2014), 4 días (Rajalakshami y Mohandas, 2005), una semana (Marigómez *et al.*, 2005; Zorita *et al.*, 2007; Pytharopoulou *et al.*, 2011), dos semanas (Boudjema 2014; Goswami *et al.*, 2014) y hasta 6 semanas (Etxeberria *et al.*, 1994; Brooks *et al.*, 2015), siendo el objetivo de estos estudios la evaluación de efectos por contaminantes ambientales.

Al inicio de este periodo de aclimatación se produjo el desove de los ejemplares. Este hecho forma parte de su natural ciclo reproductor, ya que el inicio de la aclimatación se realizó en primavera, época descrita como de mayor pico de desove en mejillones de la costa atlántica (Cáceres-Martínez y Figueras, 1998, 2007). Por otro lado y según diferentes autores (Koukouzika *et al.*, 2009; Koutsogiannaki *et al.*, 2014), el postdesove se considera un estado adecuado para la realización de trabajos de laboratorio, siendo los mejillones más vulnerables a la contaminación (Cartier *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2007, 2009b, 2010a; Fraser *et al.*, 2014), a la par que nos garantizaba que no se produjera este fenómeno durante el desarrollo experimental.

Otro de los aspectos importantes en el diseño experimental fue la homogenización de las características biométricas de los ejemplares a utilizar. Para ello se procedió a la medición y pesaje de los ejemplares recolectados para su selección, con el fin de minimizar las posibles variaciones que pudieran derivarse de la existencia de tallas diferentes entre los diferentes tratamientos.

Según la bibliografía consultada, la longitud de los ejemplares de mejillón silvestre en diferentes estudios ecotoxicológicos está comprendida entre 2.5-3.5 cm (Etxeberria *et al.*, 1994) y 5-6 cm (Viarengo *et al.*, 1997; Gomes *et al.*, 2011; Pytharopoulou *et al.*, 2011; Koutsogiannaki *et al.*, 2014). En nuestro estudio, los individuos seleccionados presentaban una longitud de concha de  $4.45 \pm 1.64$  cm, lo cual los situaban en el rango descrito en numerosos estudios de exposición a contaminantes ambientales para esta especie (4-5 cm) (Bebianno y Langston, 1992; Viarengo *et al.*, 1994, 1990, 2000; Canesi *et al.*, 1998, 1999; Burlando *et al.*, 2004; Vlahogianni y Valavanidis, 2007; Zorita *et al.*, 2007; De Lisi *et al.*, 2013; Balbi *et al.*, 2014). Además, esta talla es parecida a la seleccionada en otras especies, como *M. edulis* (Höher *et al.*, 2013; Sheir *et al.*, 2013) y *P. viridis* (Bindya, 2008; Goswami *et al.*, 2014; Hariharan *et al.*, 2014). El peso de cada ejemplar estaba comprendido entre 8 y 11 gramos, con un peso medio de  $9.62 \pm 0.95$  gramos (fase experimental 1) y de  $9.50 \pm 0.86$  gramos (fase experimental 2), siendo el peso total por tanque de  $115.43 \pm 1.35$  (113.35-117.61) y  $111.97 \pm 1.12$  gramos (110.32-113.94), por lo que las diferencias biométricas entre ambas fases experimentales fue mínima.

Respecto a la alimentación, esta fue realizada con la microalga *Isochrysis galbana* (clon t-ISO), la cual es considerada como de elección en numerosos estudios sobre moluscos bivalvos en general, y sobre *M. galloprovincialis* en particular. La alimentación se efectuó a intervalos de 45 minutos, con un periodo de ayuno de 12 horas que coincidía con las horas nocturnas. Durante toda la fase experimental se aportó una ración diaria del 0.1% de materia orgánica de microalgas por peso vivo de mejillón, considerada esta como ración de mantenimiento. En este sentido, en la bibliografía consultada encontramos mucha variación en la frecuencia del aporte alimentario, pudiendo ser desde continua hasta nula, pasando por 2 o 3 veces al día (Sharma *et al.*, 2006; Al-Subiai *et al.*, 2011; Rajkumar *et al.*, 2011; Pytharopoulou 2013; Balbi *et al.*, 2014). El ayuno nocturno permitió (en casi todos los casos), el consumo de casi la totalidad de la ración suministrada diariamente, lo cual favorecía el desarrollo de nuestro estudio, ya que la

presencia de metales en el agua puede ocasionar un cierre de valvas de los mejillones al ser detectados los contaminantes en el ambiente, lo cual sucedió en el caso del grupo expuesto a la mezcla ternaria entre el tercer y cuarto día de exposición. Por otro lado, en todos los análisis efectuados sobre el agua de mar utilizada, las concentraciones de Pb, Cd y Cu estuvieron por debajo del límite de detección ( $0.01 \text{ mg L}^{-1}$ ).

El tiempo de exposición seleccionado fue de 7 días, un periodo que según la bibliografía consultada (Tablas 14, 15 y 16) es considerado como habitual en exposiciones agudas y subletales, aunque también hay estudios limitados a 24-96 horas de exposición cuando se buscan efectos agudos a dosis altas, y otros que se prolongan por dos o más semanas (hasta 1-2 meses) en la evaluación de efectos crónicos.

Concentración			Tiempo de exposición (días)	Referencia
Cd	Pb	Cu		
1, 1.50, 2 y 3	3.5, 4.5, 5.5, y 6	0.1, 0.25, 0.5 y 1	1	Vlahogianni y Valavanidis, 2007 (**)
5.6-22.5		3.2-12.7	2	Varotto <i>et al.</i> , 2013 (**)
		40	3	Canesi <i>et al.</i> , 1998
100			4	Balbi <i>et al.</i> , 2014
40		40	6	Viarengo <i>et al.</i> , 1990
0,5			7	Serra <i>et al.</i> , 1999
200			7	Viarengo <i>et al.</i> , 1999
		0,88	5, 8 y 11	Raftopoulou y Dimitriadis, 2011
1,785			14	Calisi <i>et al.</i> , 2008 (***)
100		100	5, 10 y 15	Pytharopoulou <i>et al.</i> , 2011
		10	15	Gomes <i>et al.</i> , 2011
		60	7, 14 y 21	Regoli and Principato., 1995
80			21	Marigómez <i>et al.</i> , 2005
100			34	Serafim <i>et al.</i> , 2002
400			15, 30 y 40	Bebianno y Langston., 1992
0,8, 8 y 80		0,8, 8 y 80	41	Soto <i>et al.</i> , 2000
0,8, 8 y 80		0,8, 8 y 80	6, 20, 27 y 41	Etxeberria <i>et al.</i> , 1994
		20	1, 3 y 6	Viarengo <i>et al.</i> , 1994
		0.3 0.6 y 1.3	1, 4 y 6	Burlando <i>et al.</i> , 2004 (***)
		0.6	1, 4, 7	Canesi <i>et al.</i> , 1999 (***)
200		40	2 y 9	Zorita <i>et al.</i> , 2007
6.25, 12.5, 25, 50 y 100		25, 50 100, 200 y 400	2	Prato y Biandolino, 2007 (*)
	0,1	0,1	98	Domouhtsidou y Dimitriadis, 2000
1,000, 1,500, 2,000, 3,000, 4,000 y 5,000		15, 20, 30, 40, 50 y 75		Fdil <i>et al.</i> , 2006
		0.03 a 0.59	2	Brahim <i>et al.</i> , 2014 (***)
1.785		625	3(Cu) y 9(Cd)	Viarengo <i>et al.</i> , 1997 (***) (***)
10			2	Pavičić <i>et al.</i> , 1994b (*)
0.003125, 0.00625, 0.0125, 0.025 y 0.05		0.025, 0.05, 0.010, 0.20 y 0.4	4	Prato <i>et al.</i> , 2006 (*) (**)
2.75			2	Pavičić <i>et al.</i> , 1994a (*)
0.24-1.46		0.09-0.12	4	Annicchiarico <i>et al.</i> , 2007 (**)

**Tabla 14.** Bioensayos sobre *M. galloprovincialis*: concentraciones de metales y tiempos de exposición. (\*)= larvas; (\*\*)=mg L<sup>-1</sup>; (\*\*\*)=μM; (\*\*\*\*)=nM; resto=μg L<sup>-1</sup>.

Especie	Concentración			Tiempo de exposición	Referencia
	Cd	Pb	Cu		
<i>M. californianus</i>	1 y 10			1, 2, 7 y 14	Reyes, 1995
<i>M. trossulus</i>					
<i>M. californianus</i>	1, 2.5, 5, 10 y 20			60	Dorantes, 2001 (***)
<i>M. coruscus</i>			0.1, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 y 0.2	4	Li <i>et al.</i> , 2012
<i>M. edulis</i> <i>M. trossulus</i> <i>M. galloprovincialis</i> ,			10, 100 y 500	21	Brooks <i>et al.</i> , 2015
<i>M. edulis</i>			0.5, 1.0 y 1.5	1	Sánchez-Marín <i>et al.</i> , 2012 (****)
<i>M. edulis</i>	10, 100 y 500		5, 50 y 250	1 y 3	Fokina <i>et al.</i> , 2013
<i>M. edulis</i>			56	3	Trevisan <i>et al.</i> , 2011
<i>M. edulis</i>			18 32 56 y 100	5	Al.Subiai <i>et al.</i> , 2011
<i>M. edulis</i>			0.02, 0.05, 0.2 y 0.5	7	Pipe <i>et al.</i> , 1999 (***)
<i>M. edulis</i>	40 y 400			7	Coles <i>et al.</i> , 1995
<i>M. edulis</i>	20			1, 4 y 8	Sheir <i>et al.</i> , 2013
<i>M. edulis</i>	10 y 20		10 y 20	10	Elliott <i>et al.</i> , 1986
<i>M. edulis</i>	20 50			1, 4, 8 y 11	Sheir y Handy., 2010
<i>M. edulis</i>			5, 9 y 16	1, 7 y 13	Höher <i>et al.</i> , 2013
<i>M. edulis</i>	1, 2, 4 y 8		0.1, 0.2 0,4 y 0,8	1	Sunila, 1986 (***)
<i>M. edulis</i>			1 5 y 10	12, 18 y 21	Calabrese <i>et al.</i> , 1984 (**)
<i>M. edulis</i>	100		50	41	Bebianno y Langston, 1999
<i>M. edulis</i>	2.5, 25, 250 y 2,500		10, 50, 100, 500 y 1000	4, 8 y 6	Amiard-Triquet <i>et al.</i> , 1986
<i>M. edulis</i>	2, 5, 10, 25, 50 y 100	10 a 200	1, 3, 4, 5, 8, 10, 20 y 80	1 a 13	Strömngren, 1982
<i>M. edulis</i>			0.1, 0.2 y 0.5	<15	Hvilsom, 1983 (***)
<i>M. edulis</i>	200		40	4 y 21	Géret <i>et al.</i> , 2002
<i>M. edulis</i> <i>M. balthica</i>			0.04 y 0.2	3 y 7	Lehtonen y Leiniö, 2003 (***)
<i>M. trossulus</i>	200		400	1/4, 1/2, 1 y 2	Kopecka-Pilarczyk, 2010

**Tabla 15.** Bioensayos sobre otras especies de mejillones (*Mytilus* spp): concentraciones de metales y tiempos de exposición. (\*)=larvas; (\*\*)=meses; (\*\*\*)=mg L<sup>-1</sup>; (\*\*\*\*)=µM; resto = µg L<sup>-1</sup> y días

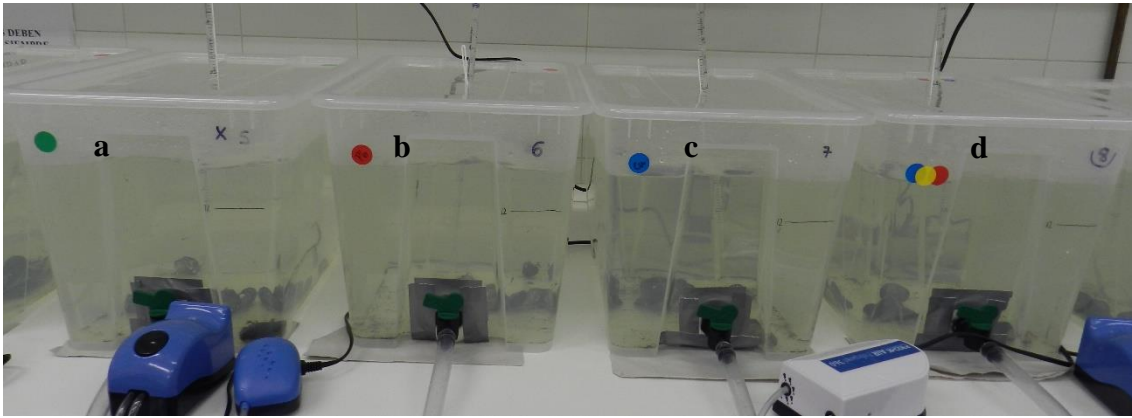
especie	Concentración			Tiempo de exposición (días)	Referencia
	Cd	Pb	Cu		
<i>P. perna</i> <i>M. galloprovincialis</i>			0,03 a 0,59	2	Brahim <i>et al.</i> , 2014 (***)
<i>P. perna</i>			12.5, 25.0, 37.5 y 50.0	1	Vosloo <i>et al.</i> , 2012
<i>P. perna</i>		1		2	Dafre <i>et al.</i> , 2004 (*)
<i>P. perna</i>	0.05, 0.20, 1, 2, 4 y 8 8	0.05, 0.20, 1, 2, 4 y 8 8	0.005, 0.015 y 0.025	3	Boudjema <i>et al.</i> , 2014 (*)
<i>P. perna</i>	200	200	40	1, 2, 3, 5	Bainy <i>et al.</i> , 2006 (*)
<i>P. perna</i>			50	24	Anandraj <i>et al.</i> , 2002
<i>P. perna</i>	100		100	22	Baraj <i>et al.</i> , 2011
<i>P. perna</i>			50	90	Sze y Lee, 2000
<i>P. perna</i>			12.5, 2.5 y 50	1	Pillay, 2013
<i>P. viridis</i>	0.5	0.124		1, 7, 15 y 30	Prakash y Rao, 1995 (*)
<i>P. viridis</i>			25	7 y 14	Sharma <i>et al.</i> , 2006
<i>P. viridis</i>	31.6, 56.2, 100, 178 y 316	100, 316, 562, 1000 y 1778	31.6, 56.2, 100, 178 y 316	21	Chan, 1988
<i>P. viridis</i>	1			2	Fernández, 2012a (*)
<i>P. viridis</i>		0,70	0,04	2	Aanand <i>et al.</i> , 2010 (*)
<i>P. viridis</i>			31.6, 56.2, 100 y 316	3	Nicholson, 2001
<i>P. viridis</i>		2.95		2 y 4	Yap <i>et al.</i> , 2004a
<i>P. viridis</i>			0.05, 0.10, 0.20, 0.80, 1.20 y 3.40	4	Acosta y Lodeiros, 2001 (*)
<i>P. viridis</i>	0,52 y 1			4	Yang y Thompson., 1996
<i>P. viridis</i>	0.04			7	Narváez <i>et al.</i> , 2005
<i>P. viridis</i>	50 y 80			2, 4, 6 y 8	Acosta <i>et al.</i> , 2013
<i>P. viridis</i>			6, 12 y 30	1, 7 y 15	Bindya, 2008
<i>P. viridis</i>			7.5	8 y 20	Krishnakumar and Damodaran, 1991
<i>P. viridis</i>	20, 50 y 200			7 y 21	Blackmore y Wang, 2002 (**)
<i>P. viridis</i>	0.008, 0.004, 0.2, 1 y 5	0.008, 0.004, 0.2, 1 y 5		14	Yaqin <i>et al.</i> , 2014 (*)
<i>P. viridis</i>	150		60	21	Goswami <i>et al.</i> , 2014
<i>P. viridis</i>	5.48		0,33 (pre-exposición)	3, 7, 15 y 21	Lemus <i>et al.</i> , 2014
<i>P. viridis</i>	0.01, 0.025, 0.05, 0.1 y 0.4			21	Sreejamole and Remya, 2014 (*)
<i>P. viridis</i>			20	5, 10 15 y 25	Thiagarajan <i>et al.</i> , 2006
<i>P. viridis</i>		2.25, 3.38, 5.1, 7.7 y 11.55		30	Hariharan <i>et al.</i> , 2014 (*)
<i>P. viridis</i>	0.1, 1, 3.3, 2, 5, 10 y 20			7, 21 y 35	Shi y Wang, 2005
<i>P. viridis</i>			1, 4, 15 y 30	7, 21 y 35	Shi y Wang, 2004
<i>P. viridis</i>	0.1, 0.5, 1 y 2	0.5, 0.8, 1 y 2	0.1, 0.5, 1 y 2	1	Yap <i>et al.</i> , 2004b (*)
<i>P. viridis</i>	16, 26, 41, 66 y 105	10, 15, 23, 34 y 51	10, 15, 23, 34 y 51	30	Rajkumar <i>et al.</i> , 2011
<i>P. viridis</i>	16, 26, 41, 66 y 105	10, 15, 23, 34 y 51	10, 15, 23, 34 y 51	30	Rajkumar y Milton, 2011
<i>P. viridis</i>	20, 200			15	Liu <i>et al.</i> , 2012

**Tabla 16.** Bioensayos sobre otras especies de mejillones (*Perna* spp): concentraciones de metales y tiempos de exposición. (\*)= $\text{mg L}^{-1}$ ; (\*\*)= $\text{ng L}^{-1}$ ; (\*\*\*)= $\mu\text{mol L}^{-1}$ ; resto= $\mu\text{g L}^{-1}$ .

La densidad en ejemplares en los tanques, entendiendo ésta como el número de individuos por litro de agua, coincide con la mayoría de estudios consultados en los que se especifica este dato (Viarengo *et al.*, 1990, 1997; Canesi *et al.*, 1998; Burlando *et al.*, 2004; Thiagarajan *et al.*, 2006; Baraj *et al.*, 2011; Dondero *et al.*, 2011; Pytharopoulou 2013), guardando una relación entre individuo expuesto y litro de agua de 1:1, con ligeras variaciones al avanzar los días de exposición. El sistema de elección fue el circuito cerrado, con objeto de evitar pérdidas de alimento y asegurar su consumo, que en presencia de contaminantes no tiende a ser inmediato, además de ser uno de los modelos descritos en la bibliografía (Filgueira, 2008).

Numerosos estudios muestran la toxicidad de diferentes compuestos en condiciones ambientales en los que la temperatura del agua oscila entre 14 y 18 °C, siendo pocos los que se realizan a temperaturas elevadas, propias de las estaciones del año más cálidas. Los trabajos consultados a este respecto muestran estudios realizados con especies de otras latitudes como *P. viridis* (Sharma *et al.*, 2006; Thiagarajan *et al.*, 2006; Bindya, 2008; Goswami *et al.*, 2014) y *P. perna* (Baraj *et al.*, 2011; Rajkumar *et al.*, 2011; Vosloo *et al.*, 2012), que se llevan a cabo a temperaturas comprendidas entre 22 y 28°C, propia de las zonas cálidas en las que viven. El rango de temperatura que tolera el mejillón silvestre está comprendido entre 0 y 26°C, siendo ésta última una temperatura que llegan a alcanzar las aguas del Mediterráneo en la época estival. Algunos estudios muestran que factores abióticos como la temperatura pueden influir en la respuesta de los mejillones en los bioensayos, en el sentido de aumento de la toxicidad por contaminantes como hidrocarburos aromáticos policíclicos y metales (Sokolova y Lannig, 2008; Kamel *et al.*, 2012; Negri *et al.*, 2013). En este sentido, la temperatura seleccionada en nuestro estudio garantizaba un ambiente favorable para provocar una respuesta evaluable aun a dosis subletales. Así, la temperatura ambiente se mantuvo en un rango de 24.91 y 25.92°C, siendo la temperatura del interior de los tanques de 24.81-25.69°C. Si bien algunos estudios muestran que a 24°C las valvas de los mejillones tienden a cerrarse más que a 17°C (Anestis *et al.*, 2007), no observamos pérdida de la capacidad de apertura y aclaramiento por parte de los ejemplares control (Figura 3).





**Figura 3.** Tanques control (a) y expuestos a Pb (b), Cu (c) y Pb+Cu (d) tras 24 horas de tratamiento. Aspecto transparente del agua en todos los tanques.

Otros factores ambientales tenidos en cuenta en el diseño experimental fueron el pH del agua y la osmolaridad del mismo, que en todo momento se mantuvieron en un rango de 7.96-8.03 en el caso del pH y de 1,046-1,086 mmol kg<sup>-1</sup> en el caso de la osmolaridad. La importancia de controlar estos valores radica en evitar el costoso gasto energético que la osmorregulación provocaría, lo cual podría influir negativamente en la capacidad de respuesta al estrés adicional que ocasiona la presencia de contaminantes (Höher *et al.*, 2013).

En ocasiones se discute la idoneidad, utilidad y comodidad en el uso de pseudorélicas o de réplicas en los estudios de ecotoxicidad sobre organismos marinos. Según la bibliografía consultada, el número de réplicas en este tipo de estudios varía entre 3 y 5, aunque no es infrecuente encontrar estudios incluso recientes en los que no se usan réplicas como tal (Dondero *et al.*, 2011; De Lisi *et al.*, 2013). En nuestro estudio seleccionamos un número de réplicas de 3, coincidiendo con muchos de los bioensayos realizados en los últimos años (Gomes *et al.*, 2011; Trevisan *et al.*, 2011; Vosloo *et al.*, 2012; Acosta *et al.*, 2013; Sheir *et al.*, 2013; Brahim *et al.*, 2014; Goswami *et al.*, 2014; Lemus *et al.*, 2014). Mediante el uso de estas réplicas intentamos asegurarnos que la respuesta de la población expuesta a los diferentes tratamientos se debiera al efecto de estos, y no a variaciones en la sensibilidad de los ejemplares. En este sentido los coeficientes de variación encontrados en el análisis de resultados sobre cada tratamiento fueron inferiores al 30%, cumpliendo pues con las recomendaciones de instituciones internacionales como la Agencia de Medio Ambiente de Canadá (EPS, 1990) y la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US EPA, 1990).

Como puede comprobarse en las Tablas 1.1 a 6.3 (Anexo), no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre las réplicas para cada tratamiento y variable objeto de estudio, lo cual nos permitió considerar como válidos los resultados obtenidos y utilizar un valor  $n$  mayor (9 o 36, según variable de estudio) al hacer las comparaciones entre grupos.

Nuestro estudio tenía como objetivo valorar el efecto que podía ocasionar la acción individual de metales pesados tóxicos *per se*, como el Pb y el Cd, y el ocasionado por un elemento esencial para el desarrollo de los bivalvos como es el Cu, pero que a concentraciones elevadas se convierte en tóxico (Regoli y Principato, 1995; Brahim *et al.*, 2014). Igualmente marcamos como objetivo comprobar el efecto ocasionado por sus mezclas binarias y ternaria, ya que tal y como indican Raftopoulou y Dimitriadis (2011), es conveniente el uso de mezclas de metales para interpretar mejor las interacciones entre los mismos.

Las concentraciones utilizadas en nuestro estudio fueron similares a las utilizadas en otros experimentos sobre esta misma especie (Tabla 14) y sobre otras especies de moluscos bivalvos (Tabla 15). Según Vlahogianni y Valavanidis (2007), las concentraciones letales 50 (CL50) en *M. galloprovincialis* tras 24 horas de exposición son de 4.5, 1.6 y 0.35 mg L<sup>-1</sup> para el Pb, Cd y Cu respectivamente, mientras que para una exposición de 15 días, Pytharopoulou *et al.* (2013) consideraron 100 µg L<sup>-1</sup> como concentraciones subletales de Cu y Cd. En el caso de exposiciones combinadas, solo hemos encontrado datos relativos a mezclas binarias de Cd+Cu en *M. galloprovincialis*, que en todo caso oscilaron entre 2 y 100 µg L<sup>-1</sup> de Cd y entre 5 y 150 µg L<sup>-1</sup> de Cu (Elliott *et al.*, 1986; Lecoœur *et al.*, 2004; Baraj *et al.*, 2011; Goswami *et al.*, 2014). Por lo tanto, y a partir de estos datos, consideramos que las concentraciones utilizadas en nuestro estudio garantizaban la aparición de efectos medibles con todas las formas de exposición.

Respecto a las formas químicas utilizadas en nuestro estudio (nitrato de plomo, cloruro de cadmio y sulfato de cobre), éstas fueron seleccionadas por ser las de elección en estudios previos realizados por diversos autores (Aanand *et al.*, 2010; Rajkumar y Milton, 2011; Boudjema *et al.*, 2014; Goswami *et al.*, 2014; Sreejamole y Remya, 2014), de forma que las comparaciones en aspectos como acumulación pudieran ser apropiadas.

## IV.2. Comportamiento alimentario

El comportamiento ante la presencia de alimento es otro de los marcadores fisiológicos ampliamente utilizado en estudios de biomonitorización y en bioensayos en los que se analiza el efecto de los contaminantes ambientales en organismos marinos. De forma natural, el comportamiento alimentario puede verse alterado por factores endógenos, como el tamaño del individuo de acuerdo a relaciones alométricas (Bayne y Newell 1983; Pérez-Camacho y González, 1984; Meyhöfer, 1985; Jones *et al.*, 1992), o exógenos como la temperatura, la cual incrementa la tasa de filtración (Morton, 1971; Hinz y Scheil, 1972), o la época reproductiva en la que se encuentran los animales (Newell y Thompson 1984; Famme *et al.*, 1986; Jørgensen *et al.*, 1988), de ahí lo importante de estandarizar y aclimatar previamente a la población objeto de estudio. Por otro lado, la disponibilidad de alimento también condiciona el comportamiento alimentario, de manera que al aumentar la presencia de este, disminuye la tasa de filtración del mismo, hecho puesto de manifiesto en numerosas publicaciones (Morton, 1971; Bayne y Widdows, 1978; Walz, 1978; Winter, 1978; Bayne, 1998; Sprung y Rose, 1988), por lo que consideramos que la ración de 0.1% de materia orgánica de microalgas por peso vivo de mejillón garantizaría la actividad alimentaria de los mejillones para poder así, estudiar su comportamiento alimentario.

### IV.2.1. Aclaramiento

#### IV.2.1.1. Aclaramiento en 30 minutos

En los moluscos bivalvos, la capacidad de alimentarse está directamente relacionada con la actividad filtradora, siendo ésta una actividad medible a partir de la denominada “tasa de aclaramiento” (TA). La TA se define cómo el volumen de agua completamente aclarado de partículas por unidad de tiempo, lo cual es indicativo de las partículas en suspensión (seston) retenidas y, en ausencia de selección y producción de pseudoheces, del seston ingerido (Filgueira, 2007). La TA es por tanto, un parámetro fisiológico, el cual se utiliza con frecuencia para investigar los efectos de la exposición a contaminantes ambientales en moluscos bivalvos, reflejando el rendimiento de los órganos de filtrado, especialmente las branquias (Jørgensen, 1990).

En estudios de contaminación, la mayoría de pruebas sobre TA se efectúan considerando un corto periodo de tiempo, normalmente entre 20 y 40 minutos (Shi y Wang, 2004). En el tiempo seleccionado en nuestro estudio (30 minutos, TA<sub>30</sub>) comprobamos que existía una gran variabilidad en la respuesta de los mejillones ante la presencia del fitoplancton a lo largo del periodo de estudio (Tabla 17), incluso entre réplicas, lo cual condicionó la no existencia de diferencias estadísticamente significativas en la TA<sub>30</sub> entre los días de exposición para ninguno de los tratamientos. Esta circunstancia podría tener su explicación en el hecho de que las fases experimentales fueron realizadas en circuito cerrado, sin renovación diaria del agua, lo cual ocasionaba un remanente diario de fitoplancton no consumido del día anterior. Sin embargo, al evaluar las cantidades correspondientes a dichos remanentes comprobamos que éstas eran en general, cantidades muy pequeñas, lo cual *a priori*, no debería condicionar este irregular comportamiento alimentario. Aun así, consideramos necesario tomar estos datos con cautela.

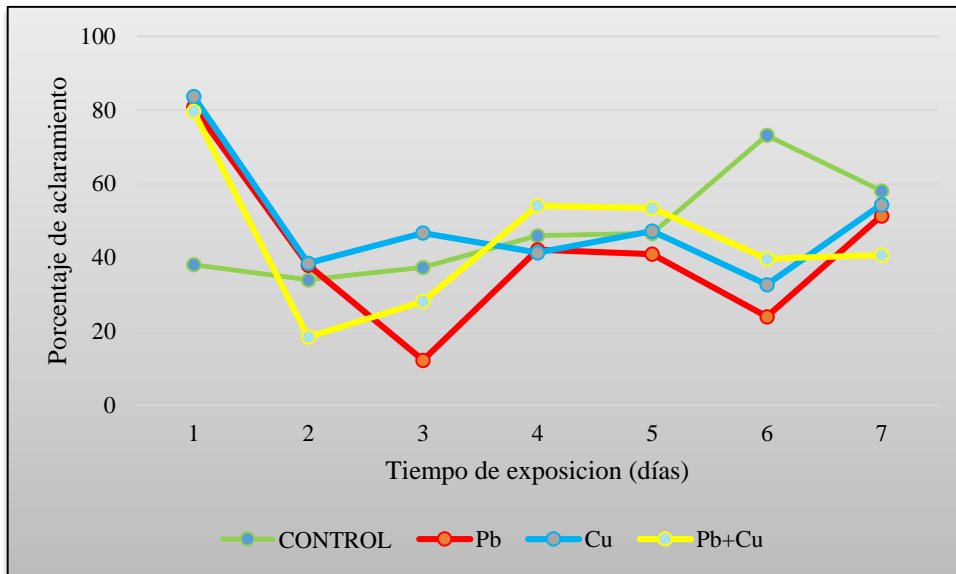
Al representar gráficamente este comportamiento podemos observar en los tratamientos de la fase experimental 1 una tendencia al alza del porcentaje de fitoplancton filtrado, pero con importantes oscilaciones, algo menos evidentes en el caso del grupo control (Figura 4), mientras que en la fase experimental 2 observamos una evolución de los porcentajes de fitoplancton filtrado tendente a la baja (Figura 5).

FE 1	Día	n	media	SD	Min.	Max.	p
<b>CONTROL</b>	1	1	38.04	.	38.04	38.04	
	2	2	33.94	30.30	12.51	55.36	
	3	3	37.31	25.33	8.15	53.85	
	4	3	45.91	22.61	19.90	60.92	
	5	3	46.51	10.21	35.22	55.10	
	6	2	73.14	8.61	67.05	79.23	
	7	2	58.09	7.34	52.90	63.28	
<b>Pb</b>	1	3	80.78	14.48	70.54	97.34	0.18
	2	3	37.95	19.53	18.21	57.26	0.56
	3	3	12.12	11.08	3.74	24.69	0.13
	4	3	42.08	17.62	26.51	61.21	0.83
	5	3	40.95	10.05	29.35	47.00	0.28
	6	2	23.97	13.61	14.34	33.59	0.12
	7	3	51.31	9.35	40.64	58.07	0.56
<b>Cu</b>	1	3	83.71	25.38	63.79	112.29	0.18
	2	3	38.45	27.11	7.15	54.63	0.56
	3	3	46.67	25.18	31.27	75.73	0.83
	4	3	41.31	11.77	29.04	52.50	0.51
	5	3	47.20	13.55	37.06	62.59	0.83
	6	3	32.62	27.89	16.27	64.82	0.08
	7	3	54.35	2.67	52.11	57.30	0.56
<b>Pb+Cu</b>	1	3	79.72	9.93	68.76	88.13	0.18
	2	3	18.44	9.54	7.50	25.04	0.56
	3	3	28.09	12.24	15.94	40.42	0.51
	4	3	54.04	3.84	49.64	56.73	0.51
	5	3	53.38	2.72	51.20	56.42	0.28
	6	3	39.67	14.07	25.75	53.89	0.08
	7	3	40.65	18.35	21.75	58.40	0.25

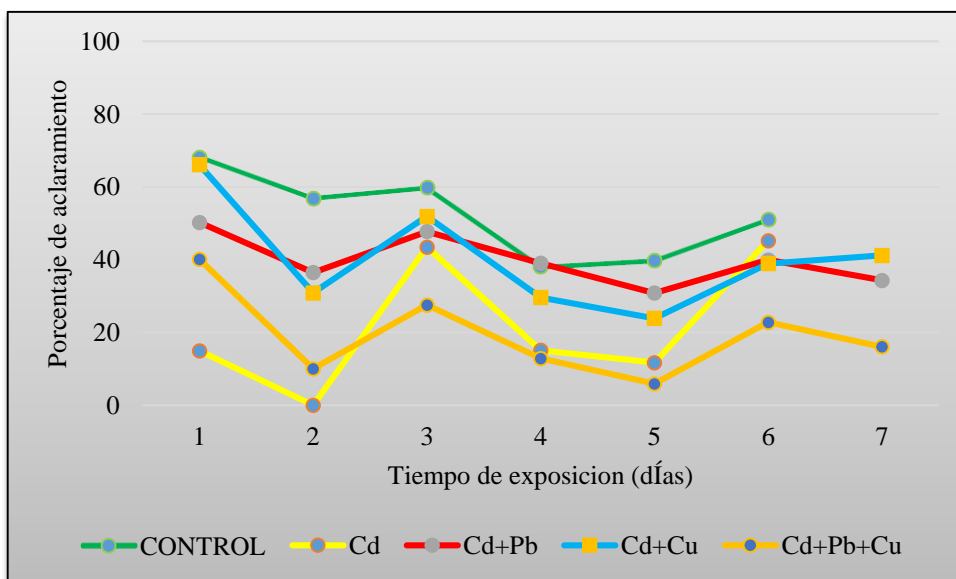
**Tabla 17.** Porcentaje de consumo de alimento en tiempo controlado (30 minutos), para cada día y por cada tratamiento. FE1=fase experimental 1; FE2=fase experimental 2; NE=datos no evaluados;  $p$ = comparación de cada tratamiento con su grupo control (U de Mann-Whitney).

	Día	n	x	SD	Min.	Max.	p
<b>CONTROL</b>	1	2	68.15	1.80	66.87	69.42	
	2	2	56.84	8.24	51.01	62.67	
	3	3	59.68	12.13	45.90	68.74	
	4	3	38.08	30.76	2.80	59.25	
	5	3	39.86	23.30	26.29	66.76	
	6	3	51.09	10.99	38.99	60.45	
	7	NE	-	-	-	-	
<b>Cd</b>	1	3	14.96	12.46	0.79	24.19	0.08
	2	NE	-	-	-	-	-
	3	3	43.45	6.64	39.08	51.09	0.13
	4	2	15.09	6.30	10.63	19.54	0.56
	5	3	11.72	4.02	7.10	14.44	0.05
	6	1	45.21	.	45.21	45.21	0.66
	7	NE	-	-	-	-	-
<b>Cd+Pb</b>	1	3	50.24	9.99	42.33	61.47	0.08
	2	2	36.49	9.65	29.66	43.31	0.12
	3	3	47.75	12.79	33.19	57.17	0.28
	4	3	39.01	19.11	22.82	60.09	0.83
	5	3	30.83	21.23	6.98	47.69	0.83
	6	3	39.94	10.17	32.28	51.48	0.13
	7	3	34.32	18.72	12.95	47.84	-
<b>Cd+Cu</b>	1	3	66.13	6.48	62.00	73.60	0.56
	2	3	30.88	5.97	24.02	34.91	0.08
	3	3	51.92	20.96	29.05	70.20	0.83
	4	3	29.62	29.10	4.83	61.66	0.83
	5	2	23.88	10.08	16.75	31.01	0.56
	6	2	38.94	1.64	37.78	40.10	0.25
	7	2	41.17	8.80	34.94	47.39	-
<b>Cd+Pb+Cu</b>	1	2	40.11	40.85	11.22	68.99	0.44
	2	2	10.05	2.04	8.60	11.49	0.12
	3	2	27.56	7.22	22.45	32.66	0.08
	4	2	12.87	4.79	9.48	16.26	0.56
	5	1	5.88	.	5.88	5.88	0.18
	6	2	22.79	18.67	9.58	35.99	0.08
	7	3	16.06	7.82	7.14	21.75	-

Tabla 17. (Continuación)



**Figura 4.** Tasa de aclaramiento a los 30 minutos ( $TA_{30}$ ) tras la administración de fitoplancton, para cada día de exposición. Fase experimental 1. Cada punto es la media de los tres tanques.



**Figura 5.** Tasa de aclaramiento a los 30 minutos ( $TA_{30}$ ) tras la administración de fitoplancton, para cada día de exposición. Fase experimental 2. Cada punto es la media de los tres tanques.

Diversos estudios muestran que los metales pueden reducir la tasa de filtración de algunos moluscos bivalvos (Watling, 1981; Grace y Gainey, 1987; Redpath y Davenport, 1988). Las tasas de aclaramiento son consideradas buenos indicadores de los efectos tóxicos de los contaminantes (Naimo, 1995; Widdows *et al.*, 1997), por lo que podríamos considerar que en nuestro estudio, al no haber diferencias significativas en la TA<sub>30</sub> entre los grupos control y los grupos expuestos a Pb, Cd, Cu y sus mezclas, no habría efecto atribuible a los metales en la respuesta inmediata de los mejillones ante la presencia de alimento, y por consiguiente, no hablaríamos *a priori* de efecto tóxico en este aspecto. En este sentido, otros autores tampoco han encontrado diferencias en esta tasa: exposiciones a Cd (20, 50 y 100 µg L<sup>-1</sup>) en periodos de exposición de 7 y 21 días (*P. viridis*, Blackmore y Wang, 2002), y a Cu (12.5, 25, 37.5 y 50.0 µg L<sup>-1</sup>) en ensayos de 24 horas sobre *P. perna*, (Vosloo *et al.*, 2012). Sin embargo y también sobre *P. perna*, Al-Subiai *et al.* (2011) mostraron una reducción significativa de la TA (94-96%) en individuos expuestos a Cu (18, 32 y 56 µg L<sup>-1</sup>), aunque en este caso el tiempo de exposición fue de 5 días; y en *P. viridis* otros autores (Krishnakumar y Damodaran, 1991; Shi y Wang, 2004) describieron cambios en la TA tras la exposición a Cu, aunque en estos casos, además de la distinta especie utilizada, el tiempo de exposición fue superior al tiempo establecido en nuestro estudio.

En el caso de exposiciones en mejillón cebra (*D. polymorpha*), Kraak *et al.* (1992) mostraron que la tasa de filtración en individuos expuestos a Cu (10, 50, 75 y 100 µg L<sup>-1</sup>) tampoco se incrementaba tras un amplio margen de exposición (de 48 h a 6 semanas), mientras que sí se incrementaba esta tasa tras la exposición a Cd (10, 40, 100 y 400 µg L<sup>-1</sup>). En esta misma especie, Kraak *et al.* (1994b) estudiaron los efectos que un amplio rango de dosis de exposición a Zn, Cd y Cu, producían en este mismo marcador, constatando que dosis bajas no producían efecto y que al aumentarlas sí que se producía, llegando incluso al cierre de las valvas descrito por Davenport (1977). Y otro dato interesante a tener en cuenta es el aportado por Azarbad *et al.* (2010), los cuales indicaron que la TA disminuía con la exposición a metales no esenciales respecto a los esenciales.

Como podemos apreciar, se trata de un marcador interesante y muy bien considerado en investigación sobre contaminantes en medio marino, pero al mismo tiempo, difícil de evaluar y comparar, pues es preciso tener en cuenta muchas variables, entre las que están



las condiciones experimentales, concentraciones de los metales de exposición, tipo de metal (esencial o no) y obviamente, la especie animal. Finalmente, no hemos encontrado estudios experimentales sobre respuesta (en términos de  $TA_{30}$ ) en *M. galloprovincialis* expuestos a estos metales, por lo que podríamos pensar que en el caso de la exposición individual y a tenor de la bibliografía descrita, el tiempo de exposición o la propia especificidad de la especie podrían condicionar la respuesta observada.

Respecto a las mezclas de metales, pocos son los estudios que evalúan las tasas de aclaramiento y filtración y menos aún lo son los realizados sobre mejillones. Así por ejemplo, al determinar la  $EC_{50}$  de una mezcla de varios metales (Cu Zn, Ni, Cd y Pb) en *D. polymorpha*, Kraak *et al.* (1999) demostraron que la tasa de filtración disminuía conforme aumentaba la concentración de la mezcla en la columna de agua, indicando un efecto menor al aditivo. Por otro lado también se ha descrito un diferente efecto de las mezclas en función del tiempo de exposición: a corto plazo los efectos de la mezcla binaria Cu+Cd fueron mayores que el aditivo, mientras que en experimentos crónicos los efectos fueron muy inferiores al aditivo, por lo que según Kraak *et al.* (1993), los efectos crónicos de las mezclas no se pueden predecir a partir de sus efectos a corto plazo ni de los efectos crónicos de los metales evaluados individualmente.

Por otro lado, en ambas fases experimentales observamos descensos en los porcentajes de aclaramiento, llegando a valores por debajo del 20% en varios casos. De acuerdo con los postulados de la escuela fisiológica (Filgueira, 2007), ciertas condiciones adversas como el estrés, la presencia de sustancias contaminantes, la falta de aclimatación o la presencia de un alimento disponible que no sea representativo del hábitat natural (Riisgård y Larsen 1995; Clausen y Riisgård 1996; Jørgensen, 1996), pueden derivar en una  $TA$  excepcionalmente baja, lo cual podría justificar la  $TA_{30}$  medida en ciertos momentos de las fases experimentales en ciertos grupos de exposición, pero no el comportamiento global de los grupos expuestos.

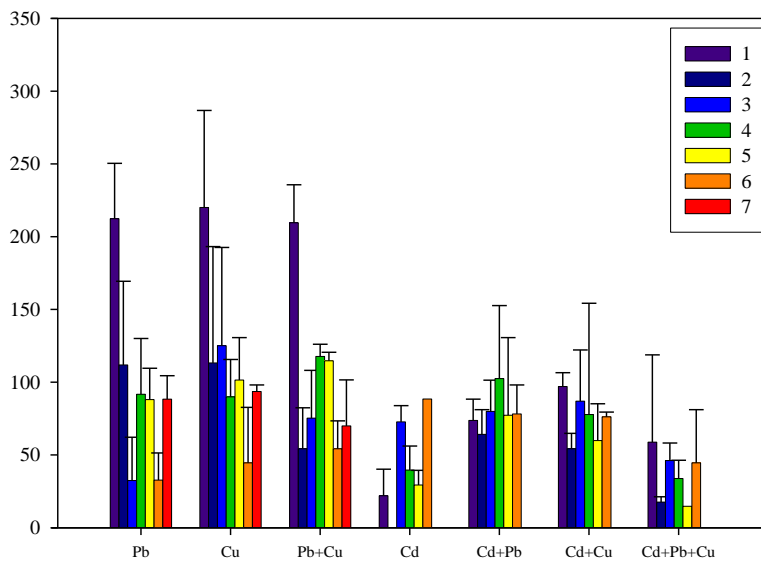
Para poder comparar los resultados de  $TA_{30}$  entre los diferentes grupos de exposición procedimos, al igual que en el estudio biométrico, a relativizar los datos obtenidos con respecto a cada grupo control (Tabla 18, Figura 6).

Resultados y discusión

FE1	Pb					Cu					Pb+Cu				
DÍA	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.
1	3	212.33	38.05	185.42	255.86	3	220.04	66.71	167.68	295.14	3	209.53	26.10	180.74	231.64
2	3	111.84	57.54	53.68	168.74	3	113.30	79.89	21.07	160.99	3	54.33	28.10	22.11	73.79
3	3	32.49	29.70	10.02	66.17	3	125.10	67.48	83.83	202.98	3	75.28	32.81	42.72	108.34
4	3	91.68	38.39	57.75	133.35	3	89.99	25.63	63.27	114.37	3	117.70	8.36	108.13	123.57
5	3	88.04	21.60	63.11	101.06	3	101.47	29.13	79.67	134.56	3	114.76	5.84	110.09	121.31
6	2	32.76	18.61	19.60	45.92	3	44.60	38.13	22.25	88.63	3	54.25	19.24	35.21	73.68
7	3	88.33	16.10	69.96	99.96	3	93.57	4.60	89.70	98.65	3	69.99	31.60	37.44	100.54

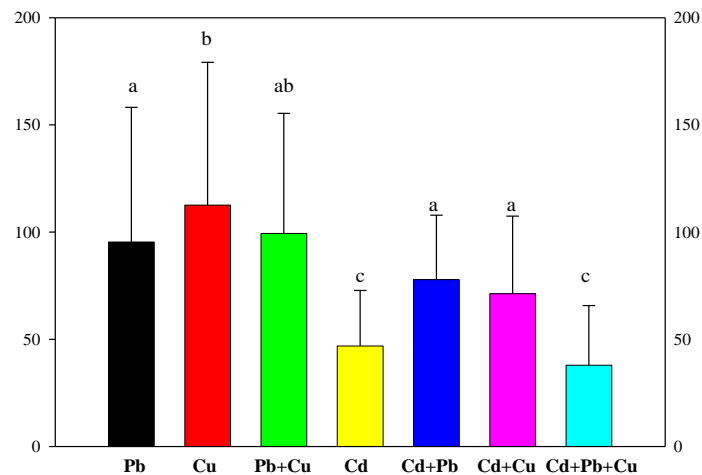
FE2	Cd					Cd+Pb					Cd+Cu					Cd+Pb+Cu				
DÍA	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.
1	3	21.96	18.29	1.15	35.50	3	73.73	14.66	62.11	90.20	3	97.05	9.51	90.99	108.01	2	58.86	59.95	16.47	101.24
2	NE	-	-	-	-	2	64.19	16.97	52.19	76.19	3	54.33	10.50	42.27	61.42	2	17.67	3.59	15.13	20.21
3	3	72.79	11.12	65.48	85.60	3	80.00	21.42	55.62	95.78	3	86.99	35.11	48.67	117.62	2	46.16	12.10	37.61	54.71
4	2	39.62	16.55	27.92	51.32	3	102.46	50.19	59.93	157.81	3	77.78	76.43	12.69	161.93	2	33.80	12.58	24.90	42.70
5	3	29.41	10.10	17.81	36.24	3	77.34	53.28	17.51	119.65	2	59.93	25.30	42.04	77.81	1	14.77	.	14.77	14.77
6	1	88.49	-	88.49	88.49	3	78.18	19.92	63.19	100.78	2	76.22	3.21	73.95	78.49	2	44.61	36.56	18.76	70.45
7	NE	-	-	-	-	NE	-	-	-	-	NE	-	-	-	-	NE	-	-	-	-

Tabla 18. Datos relativizados del porcentaje de consumo de alimento en tiempo controlado (30 minutos), para cada día y por cada tratamiento. FE1=fase experimental 1; FE2=fase experimental 2; NE=datos no evaluados.



**Figura 6.** Valor de la TA<sub>30</sub> relativizado con respecto a los grupos control, para cada día de exposición. Comparación entre grupos de exposición.

Para este análisis comparamos la media de TA<sub>30</sub> en los 7 días de exposición, encontrando diferencias significativas entre los grupos tratados con Cd y con la mezcla ternaria con el resto de grupos, así como entre el tratado con Cu y los tratados con Pb, Cd+Pb y Cd+Cu, mientras que el tratado con Pb+Cu era similar al tratado con Cu y al tratado con Pb (Figura 7).



**Figura 7.** Valor medio de la TA<sub>30</sub> para los 7 días de exposición (datos relativizados con respecto a los grupos control). Comparación entre grupos de exposición. Las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (test Dunn).

Como se puede apreciar, nos encontramos con una respuesta muy variable entre grupos y días, lo cual y ante la ausencia de bibliografía al respecto, hace muy difícil la interpretación de los resultados. No obstante, el grupo expuesto a Cd y a la mezcla ternaria fueron los que presentaron porcentajes de TA<sub>30</sub> más bajos (Figura 7). En el caso de la mezcla ternaria, este resultado podría ser el esperado, dado que es el grupo con la mayor cantidad de elementos tóxicos. Sin embargo y siguiendo con el mismo planteamiento, debería de existir una respuesta similar en las mezclas binarias, no siendo así y siendo el grupo tratado con Cd el que presentó también un menor porcentaje, manteniendo las mezclas binarias un término medio entre la respuesta al Pb y Cu a nivel individual, y al Cd también a nivel individual. En este sentido resulta de interés el estudio del efecto interactivo de las mezclas de metales, ya que en los citados casos de mezclas binarias a base de Cd y a la vista de estos resultados, cabría esperar un efecto antagónico en el análisis estadístico, aunque el mayoritario fue el aditivo (Tabla 19), apareciendo el sinérgico solo en un día en la mezcla Cd+Cu. En el caso de la mezcla ternaria el efecto fue tanto aditivo como sinérgico, mientras que en el grupo expuesto a Pb+Cu aparecieron los tres tipos de efecto interactivo. Existen diversas teorías para explicar los tipos de interacción que aparecen en la evaluación de mezclas de metales. Según Wang y Fowler (2008), los efectos interactivos podrían ser consecuencia de alteraciones en los procesos de absorción, distribución, metabolismo o excreción de estos compuestos. En modelos *in vitro*, Steffensen *et al.* (1994) sugirieron que la unión de los metales en la superficie celular formando precipitados, podría interferir la entrada normal de estos elementos, mientras que otros autores (García-Fernández *et al.*, 2002), sugieren un cierto papel “protector” por parte de ciertos metales como el Pb, al estimular mecanismos de desintoxicación como es el caso del glutatión reducido. Consideramos pues que hay indicios suficientes de la existencia de diferentes mecanismos de respuesta a metales en términos de TA<sub>30</sub>, aunque es necesario profundizar en este estudio, utilizando también modelos en circuito abierto para poder obtener datos concluyentes.

	Día	Efecto observado (media±SD)	Efecto calculado (esperado) (media±SD)	Diferencia	p	Efecto interactivo	
<b>A</b>	<b>Pb+Cu</b>	1	209.53 ± 26.10	-50.68 ± 133.24	260.21	0.07	ADT
		2	54.33 ± 28.10	124.98 ± 31.05	-70.65	0.04	SNG
		3	75.28 ± 32.81	126.05 ± 57.72	-50.76	0.26	ADT
		4	117.70 ± 8.36	92.82 ± 7.44	24.88	0.02	ATG
		5	114.76 ± 5.84	98.67 ± 1.99	16.09	0.01	ATG
		6	54.25 ± 19.24	65.67 ± 39.85	-11.42	0.68	ADT
		7	69.99 ± 31.60	99.21 ± 1.31	-29.22	0.19	ADT
	<b>Cd+Pb</b>	1	73.73 ± 14.66	185.19 ± 21.62	-111.46	0.00	ADT
		2	NE -	- -	- -	- -	-
		3	80.00 ± 21.42	82.52 ± 10.34	-2.52	0.86	ADT
		4	102.46 ± 50.19	102.33 ± 19.66	0.13	0.99	ADT
		5	77.34 ± 53.28	92.19 ± 14.27	-14.85	0.67	ADT
		6	78.18 ± 19.92	90.75 ± 0.00	-12.57	0.64	ADT
		7	NE -	- -	- -	- -	-
	<b>Cd+Cu</b>	1	97.05 ± 9.51	187.21 ± 33.49	-90.16	0.01	SNG
		2	NE -	- -	- -	- -	-
		3	86.99 ± 35.11	108.81 ± 21.62	-21.82	0.41	ADT
		4	77.78 ± 76.43	100.74 ± 8.85	-22.95	0.72	ADT
		5	59.93 ± 25.30	103.00 ± 22.24	-43.07	0.14	ADT
		6	76.22 ± 3.21	91.05 ± 0.00	-14.83	0.17	ADT
		7	NE -	- -	- -	- -	-
<b>Cd+Pb+Cu</b>	1	58.86 ± 59.95	26.12 ± 77.84	32.73	0.40	ADT	
	2	NE -	- -	- -	- -	-	
	3	46.16 ± 12.10	100.01 ± 18.41	-53.85	0.03	SNG	
	4	33.80 ± 12.58	99.98 ± 1.02	-66.18	0.02	SNG	
	5	14.77 ± 0.00	100.00 ± 1.29	-85.23	0.00	SNG	
	6	44.61 ± 36.56	92.81 ± 0.00	-48.20	0.48	ADT	
	7	NE -	- -	- -	- -	-	
<b>B</b>	<b>Pb+Cu</b>	99.41 ± 14.78	101.60 ± 2.58	-2.20	0.82	ADT	
	<b>Cd+Pb</b>	79.92 ± 20.82	97.99 ± 4.15	-18.07	0.22	ADT	
	<b>Cd+Cu</b>	76.25 ± 23.71	107.61 ± 15.01	-31.36	0.13	ADT	
	<b>Cd+Pb+Cu</b>	36.71 ± 18.56	100.00 ± 1.52	-63.29	0.13	ADT	

**Tabla 19.** Evaluación del efecto interactivo (ADT=aditivo, SNG=sinérgico; ATG=antagónico) sobre el consumo de alimento en tiempo controlado (30 minutos);  $p$ =t-Student; **A**=por días, **B**=media de los 7 días.

#### IV.2.1.2. Aclaramiento en 24 horas

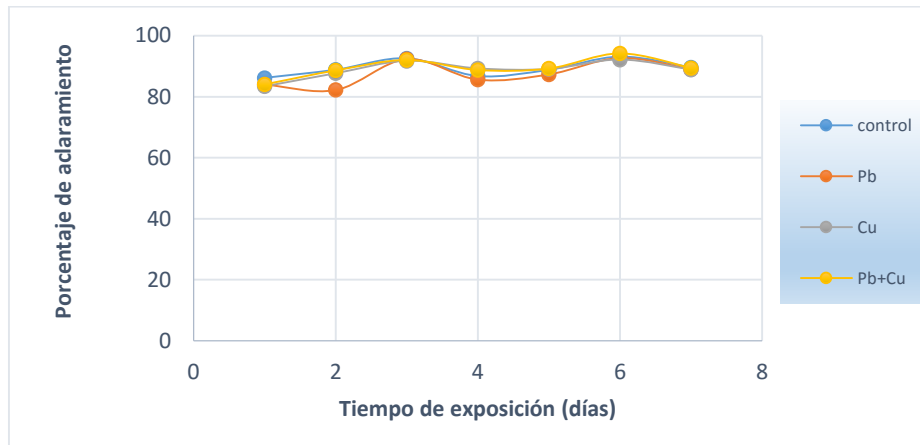
Considerando la diversidad de exposiciones utilizada en nuestro estudio (elementos individuales, mezclas binarias y ternaria) y la ausencia de literatura sobre la TA en estas condiciones, así como la posibilidad de que los remanentes de fitoplancton estuvieran influyendo sobre la respuesta en 30 minutos ( $TA_{30}$ ), consideramos oportuno evaluar la TA cada 24 horas de tratamiento ( $TA_{24}$ ), de manera que los mejillones tuvieran más tiempo para poder filtrar todo el fitoplancton administrado. Como puede apreciarse en la Tabla 20, para la  $TA_{24}$  no observamos la alta variabilidad observada en la respuesta a los 30 minutos. Por otro lado, en la fase experimental 2, las  $TA_{24}$  de los grupos expuestos a metales eran inferiores a las de los controles, si bien solo el primer día hubo diferencias claramente significativas ( $p < 0.05$ ), manteniéndose en el límite ( $p = 0.05$ ) hasta el último día, momento en el que se igualaron los valores. Como ya se ha indicado, en general y para todos los tratamientos observamos bastante homogeneidad en la respuesta durante todos los días de exposición (Tabla 20, Figuras 8 y 9), excepto en el caso de la mezcla ternaria, la cual presentó tasas de aclaramiento cada vez menores hasta el 4º día, momento en el que alcanzó el mínimo de los valores observados (16.04%). Llegado a este punto se procedió, al igual que en la primera fase experimental, a la retirada y renovación de parte del agua de los acuarios, aumentando el porcentaje de filtrado y por tanto, mejorando el comportamiento alimentario en este grupo. A este respecto cabe decir que son numerosos los artículos que indican que, en presencia de elevadas concentraciones de metales, los moluscos bivalvos mantienen sus conchas cerradas durante un período de tiempo largo (Slooff *et al.*, 1983; Doherty *et al.*, 1987; Kramer *et al.*, 1989; Borcharding, 1994; Ham y Peterson, 1994; Markich *et al.*, 2000; Neuberger-Cywiak *et al.*, 2003, 2005, 2007; Fournier *et al.*, 2004; Fdil *et al.*, 2006), llegando incluso hasta una tasa de filtración de cero (Micallef y Tyler 1990; Kraak *et al.*, 1994c). De nuevo pues, la mezcla ternaria fue la que marcó diferencias apreciables en un marcador utilizado como de respuesta temprana a la contaminación marina.

Resultados y discusión

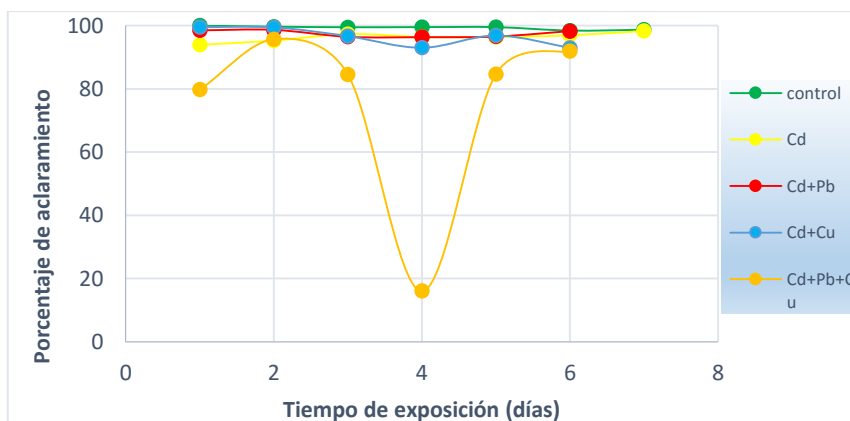
FE1	CONTROL					Pb						Cu					Pb + Cu						
	Día	n	media	SD	Min.	Max.	n	media	SD	Min.	Max.	p	n	media	SD	Min.	Max.	p	n	media	SD	Min.	Max.
1	3	86.16	5.18	81.50	91.74	3	83.99	4.88	81.01	89.62	0.28	3	83.43	7.29	76.98	91.33	0.51	3	84.05	1.77	82.09	85.53	0.83
2	3	88.82	6.33	81.77	94.01	3	82.23	3.93	77.71	84.84	0.28	3	87.68	4.15	83.59	91.89	0.83	3	88.62	0.98	87.55	89.46	0.51
3	3	92.58	3.31	88.77	94.74	3	92.32	1.97	90.79	94.54	0.83	3	91.75	3.35	88.17	94.80	0.83	3	92.03	2.37	90.58	94.76	0.83
4	3	86.75	7.31	78.31	91.12	3	85.62	4.72	81.64	90.83	0.83	3	89.25	2.08	86.9	90.86	0.83	3	88.75	3.31	85.44	92.06	0.83
5	3	88.79	1.69	86.85	89.94	3	87.33	2.13	85.48	89.66	0.51	3	89.07	0.92	88.13	89.96	0.83	3	89.24	1.27	88.3	90.69	0.83
6	3	93.12	2.38	91.03	95.71	3	92.71	2.21	90.83	95.14	0.51	3	92.16	3.05	90.34	95.69	0.28	3	94.20	0.99	93.06	94.81	0.51
7	3	89.56	0.71	88.97	90.35	3	88.98	1.00	88.03	90.03	0.28	3	88.86	1.51	87.49	90.48	0.51	3	89.38	2.06	87.3	91.42	0.83

FE2	CONTROL					Cd					Cd + Pb					Cd+Cu					Cd + Pb + Cu								
	Día	n	x	SD	Min.	Max.	n	media	SD	Min.	Max.	p	n	media	SD	Min.	Max.	p	n	media	SD	Min.	Max.	p	n	media	SD	Min.	Max.
1	3	100.0	0.00	100.0	100.0	3	93.93	2.04	92.49	96.26	0.04	3	98.50	1.09	97.25	99.18	0.04	3	99.53	0.14	99.37	99.64	0.04	3	79.77	5.03	73.98	83.03	0.04
2	3	99.65	0.11	99.53	99.72	3	95.25	1.48	93.78	96.73	0.05	3	98.65	0.30	98.29	98.87	0.05	3	99.46	0.12	99.32	99.54	0.12	3	95.72	1.99	93.77	97.74	0.05
3	3	99.48	0.14	99.36	99.63	3	97.34	0.36	97.13	97.76	0.05	3	96.48	2.60	93.85	99.06	0.05	3	96.71	3.14	93.13	98.96	0.05	3	84.57	9.96	77.33	95.93	0.05
4	3	99.52	0.24	99.32	99.79	3	96.40	1.50	95.43	98.12	0.05	3	96.37	3.80	91.95	99.06	0.05	3	93.08	10.43	81.03	99.15	0.05	3	16.04	14.33	0.00	27.59	0.05
5	3	99.51	0.64	98.78	99.89	3	96.38	2.41	93.80	98.56	0.05	3	96.56	3.80	92.18	99.16	0.13	3	96.91	3.71	92.63	99.18	0.28	3	84.70	8.37	75.05	90.00	0.05
6	3	98.45	0.94	97.37	99.01	3	96.96	1.52	95.26	98.19	0.28	3	98.26	0.81	97.38	98.98	0.51	3	93.01	9.86	81.67	99.58	0.83	3	91.93	8.13	82.69	97.96	0.13
7	3	98.70	0.08	98.63	98.79	3	98.31	0.90	97.36	99.15	0.51	NE	-	-	-	-	-	NE	-	-	-	-	-	NE	-	-	-	-	-

Tabla 20. Porcentaje de consumo de alimento en 24 horas, para cada día y por cada tratamiento. FE1=fase experimental 1; FE2=fase experimental 2; NE=datos no evaluados; p=comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student).



**Figura 8.** Tasa de aclaramiento cada 24 horas (TA24). Fase experimental 1. Cada punto es la media de los tres tanques.



**Figura 9.** Tasa de aclaramiento cada 24 horas (TA24). Fase experimental 2. Cada punto es la media de los tres tanques.

Igual que en el caso anterior y con el objetivo de poder comparar el comportamiento alimentario de todos los tratamientos entre sí, procedimos a relativizar los datos obtenidos con respecto a cada grupo control (Tabla 21, Figura 10).

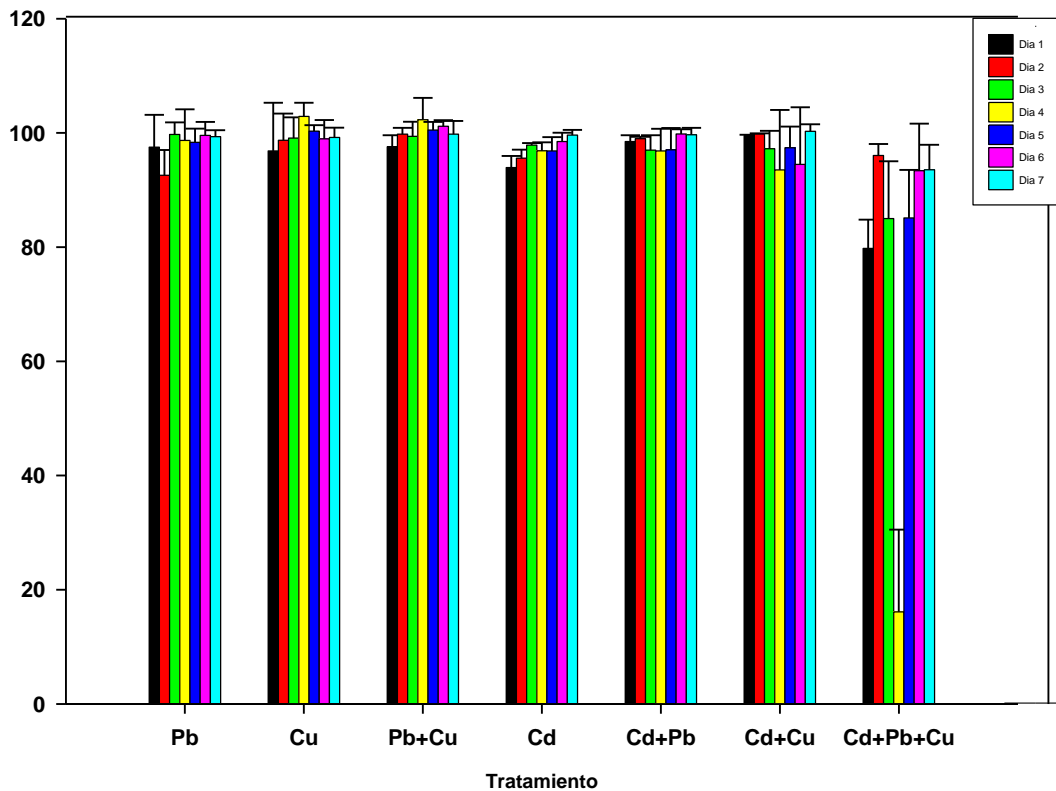


Resultados y discusión

DÍA	Pb					Cu					Pb+Cu				
	n	Media	SD	Mín.	Máy.	n	Media	SD	Mín.	Máy.	n	Media	SD	Mín.	Máy.
1	3	97.49	5.66	94.03	104.03	3	96.84	8.45	89.36	106.01	3	97.55	2.05	95.28	99.27
2	3	92.58	4.42	87.49	95.52	3	98.72	4.67	94.12	103.46	3	99.77	1.10	98.57	100.72
3	3	99.73	2.13	98.07	102.13	3	99.11	3.62	95.24	102.41	3	99.41	2.56	97.84	102.36
4	3	98.69	5.44	94.11	104.70	3	102.88	2.40	100.17	104.74	3	102.31	3.82	98.49	106.12
5	3	98.36	2.40	96.27	100.98	3	100.31	1.04	99.25	101.32	3	100.51	1.43	99.45	102.14
6	3	99.56	2.37	97.54	102.17	3	98.97	3.28	97.01	102.76	3	101.17	1.06	99.94	101.82
7	3	99.35	1.12	98.29	100.52	3	99.21	1.69	97.68	101.02	3	99.79	2.30	97.48	102.07

DÍA	Cd					Cd+Pb					Cd+Cu					Cd+Pb+Cu				
	n	Media	SD	Mín.	Máy.	n	Media	SD	Mín.	Máy.	n	Media	SD	Mín.	Máy.	n	Media	SD	Mín.	Máy.
1	3	93.93	2.04	92.49	96.26	3	98.50	1.09	97.25	99.18	3	99.53	0.14	99.37	99.64	3	79.77	5.03	73.98	83.03
2	3	95.57	1.48	94.1	97.06	3	98.99	0.32	98.63	99.21	3	99.80	0.13	99.66	99.89	3	96.06	1.99	94.10	98.08
3	3	97.85	0.36	97.64	98.27	3	96.98	2.62	94.34	99.58	3	97.22	3.16	93.61	99.48	3	85.01	10.01	77.73	96.43
4	3	96.86	1.51	95.89	98.6	3	96.84	3.87	92.40	99.54	3	93.53	10.48	81.43	99.63	3	24.18	5.01	20.64	27.72
5	3	96.86	2.42	94.26	99.05	3	97.03	3.83	92.63	99.64	3	97.39	3.73	93.09	99.66	3	85.12	8.41	75.42	90.44
6	3	98.48	1.55	96.75	99.73	3	99.81	0.82	98.91	100.53	3	94.47	10.02	82.95	101.15	3	93.37	8.26	83.98	99.50
7	3	99.61	0.91	98.65	100.46	NE					NE	-	-	-	-	NE				

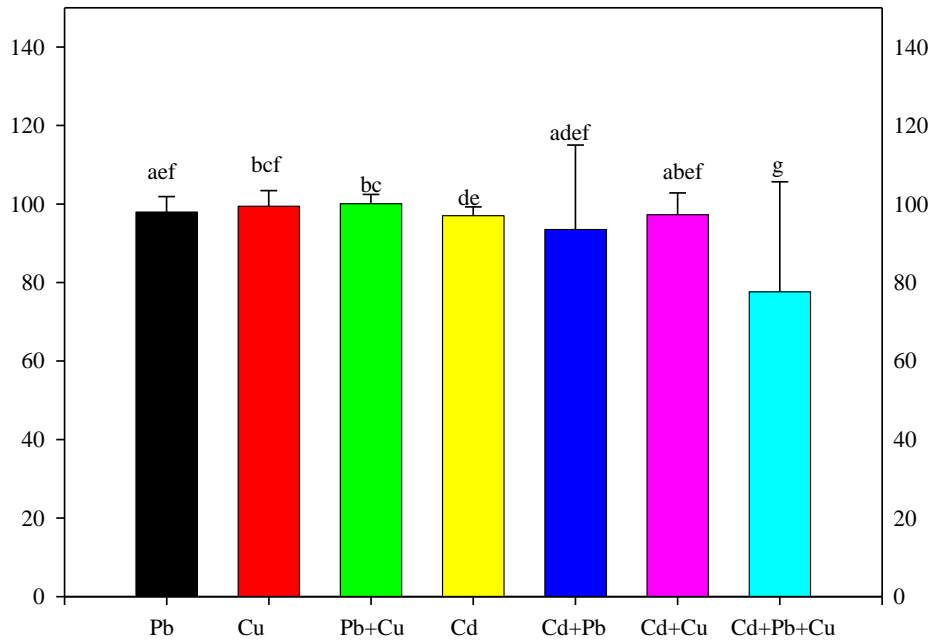
**Tabla 21.** Datos relativizados del porcentaje de consumo de alimento en 24 horas, para cada día y por cada tratamiento. FE1=fase experimental 1; FE2=fase experimental 2; NE=datos no evaluados.



**Figura 10.** Valor de la TA<sub>24</sub> relativizado con respecto a los grupos control, para cada día de exposición. Comparación entre grupos de exposición.

Como puede apreciarse en la Figura 10, el grupo expuesto a la mezcla ternaria fue en el que más se notaron diferencias en la TA<sub>24</sub> para cada día de exposición. Aunque en el segundo día de exposición se mejoró este comportamiento, a partir del tercer día se produjo una disminución del mismo, circunstancia ya comentada en el apartado anterior relativo a la TA<sub>30</sub>.

Evaluando los resultados de la TA<sub>24</sub> en forma de media para los 7 días de exposición (Figura 11), observamos que las diferencias más marcadas fueron entre el grupo expuesto a la mezcla ternaria y el resto de grupos. No obstante también había diferencias significativas entre otros grupos, destacando la marcada por el grupo expuesto a Pb+Cu con aquellos otros grupos en los que no figuraba el Cu entre sus componentes, lo cual podría reforzar lo indicado anteriormente sobre la interferencia y/o protección por parte de ciertos metales (Steffensen et al., 1994; García-Fernández et al., 2002).



**Figura 11.** Valor medio de la TA<sub>24</sub> para los 7 días de exposición (datos relativizados con respecto a los grupos control). Comparación entre grupos de exposición. Las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (test Dunn).

En el estudio del efecto interactivo de las mezclas de metales, observamos que el efecto más frecuente en las mezclas binarias fue el aditivo, mientras que en la mezcla ternaria apareció por igual el aditivo y el sinérgico (Tabla 22A), siendo este último efecto el detectado para estos grupos en el análisis de los resultados globalmente (Tabla 22B). Al comparar estos resultados con los correspondientes a la TA<sub>30</sub> (Tabla 19), comprobamos bastantes similitudes en los grupos expuestos a Cd+Pb, Cd+Cu, siendo muy diferente en el caso del grupo expuesto a Pb+Cu. En el caso de la mezcla ternaria, si bien en el análisis día a día observamos también cierta similitud, no encontramos el mismo efecto al analizar los resultados de los 7 días globalmente (efecto aditivo vs efecto sinérgico). Evidentemente TA<sub>30</sub> y TA<sub>24</sub> reflejan situaciones alimentarias diferentes, evaluándose en ésta última la filtración del fitoplancton con un mayor margen de tiempo, lo cual obviamente condiciona los resultados obtenidos.

	Día	Efecto observado (media±SD)	Efecto calculado (esperado) (media±SD)	Diferencia	p	Efecto interactivo	
<b>A</b>	<b>Pb+Cu</b>	1	97.55 ± 2.05	99.62 ± 0.22	-2.07	0.03	ADT
		2	99.77 ± 1.1	100.03 ± 0.36	-0.26	0.99	ADT
		3	99.4 ± 2.56	99.98 ± 0.06	-0.58	0.61	ADT
		4	102.31 ± 3.82	100.12 ± 0.14	2.18	0.24	ADT
		5	100.51 ± 1.43	100.01 ± 0.03	0.50	0.55	ADT
		6	101.17 ± 1.06	100.01 ± 0.07	1.16	0.20	ADT
		7	99.79 ± 2.3	100 ± 0.02	-0.21	0.89	ADT
	<b>Cd+Pb</b>	1	98.5 ± 1.09	99.77 ± 0.33	-1.27	0.12	ADT
		2	98.99 ± 0.31	99.68 ± 0.21	-0.68	0.04	SNG
		3	96.98 ± 2.62	100 ± 0.05	-3.02	0.12	ADT
		4	96.84 ± 3.88	100 ± 0.17	-3.16	0.29	ADT
		5	97.03 ± 3.84	99.91 ± 0.11	-2.88	0.32	ADT
		6	99.81 ± 0.82	99.97 ± 0.05	-0.16	0.75	ADT
		7	NE -	- -	- -	- -	-
<b>Cd+Cu</b>	1	99.53 ± 0.14	99.71 ± 0.49	-0.17	0.59	ADT	
	2	99.8 ± 0.12	99.92 ± 0.25	-0.12	0.50	ADT	
	3	97.22 ± 3.16	99.99 ± 0.07	-2.77	0.26	ADT	
	4	93.53 ± 10.48	100.07 ± 0.07	-6.55	0.39	ADT	
	5	97.39 ± 3.73	100.02 ± 0.05	-2.63	0.35	ADT	
	6	94.47 ± 10.02	99.98 ± 0.06	-5.51	0.44	ADT	
	7	NE -	- -	- -	- -	-	
<b>Cd+Pb+Cu</b>	1	79.77 ± 5.03	100 ± 0.02	-20.23	0.02	SNG	
	2	96.05 ± 1.99	100 ± 0.02	-3.95	0.03	SNG	
	3	85.01 ± 10.01	100 ± 0.00	-14.99	0.12	ADT	
	4	24.18 ± 5.01	100 ± 0.00	-75.82	0.03	SNG	
	5	85.12 ± 8.41	100 ± 0.00	-14.88	0.09	ADT	
	6	93.37 ± 8.26	100 ± 0.00	-6.63	0.30	ADT	
	7	NE -	- -	- -	- -	-	
<b>B</b>	<b>Pb+Cu</b>	100.07 ± 1.35	100 ± 0.08	0.07	0.93	ADT	
	<b>Cd+Pb</b>	98.02 ± 1.33	99.93 ± 0.06	-1.9	0.13	ADT	
	<b>Cd+Cu</b>	96.99 ± 4.53	99.98 ± 0.09	-3	0.28	ADT	
	<b>Cd+Pb+Cu</b>	80.56 ± 3.02	100 ± 0.00	-19.44	0.00	SNG	

**Tabla 22.** Evaluación del efecto interactivo (ADT=aditivo, SNG=sinérgico; ATG=antagónico) sobre el consumo de alimento en 24 horas; p=t-Student; **A**=por días, **B**=media de los 7 días.

#### IV.2.2. Materia orgánica consumida

Los datos ofrecidos en los apartados anteriores (TA) nos daban información relativa a los porcentajes de fitoplancton retirados del medio en un tiempo dado (30 minutos y 24 horas). Al ser un circuito cerrado (sin renovación constante de agua), no se producía la retirada del fitoplancton restante cada día. Para paliar la irregularidad producida por el hecho de que no se partía a diario de un aporte cero de fitoplancton, procedimos a calcular la cantidad de materia orgánica (MO) ingerida por individuo y día (Tabla 23, Figuras 12 y 13), así como la consumida en el total del periodo de estudio (Tabla 24). De esta manera, la información obtenida nos proporcionó una idea más exacta del comportamiento alimentario de estos organismos ante la presencia de los metales.

En general, la ingestión de MO en los grupos expuestos a Pb, Cu y Pb+Cu fueron muy similares a las de su grupo control (Tabla 23), aunque en el grupo expuesto a Pb encontramos un aumento significativo en los días 3 y 7, y una disminución significativa en el grupo expuesto a Pb+Cu en el primer día de exposición. Tras la exposición a Cd también observamos una disminución de la MO consumida (primer y sexto día). Sin embargo, en los grupos expuestos a Cd+Pb, Cd+Cu y Cd+Pb+Cu encontramos diferencias significativas en casi todos los días de exposición, consistiendo fundamentalmente en descensos aunque también se observaron algunos aumentos de consumo con respecto al grupo control. El caso más extremo se dio en el grupo expuesto a la mezcla ternaria, con un mínimo de 0.35 mg de MO por individuo en el día 4º de exposición, que como ya se comentó, se corrigió al efectuar el correspondiente ajuste de agua de mar. Y el único caso en el que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los días de exposición fue en el grupo expuesto a Cu. Salvando las ya citadas limitaciones de un circuito cerrado, parece evidente que en los grupos expuestos a mezclas binarias a base de Cd y a la mezcla ternaria se produjeron más irregularidades en el consumo de fitoplancton, seguido de los grupos expuestos de forma individual a Pb y a Cd, para terminar con el grupo expuesto a Pb+Cu, sin que hubiera cambios en el grupo expuesto a Cu, único elemento con características esenciales. Finalmente, en el cálculo total de MO consumida observamos que el grupo expuesto a la mezcla ternaria fue el que menos MO consumió, seguido de los grupos expuestos a las mezclas binarias a base de Cd, y del grupo expuesto a Cd, sin que hubiera diferencias significativas en los grupos expuestos a Pb, Cu y Pb+Cu, por lo que es posible que el

consumo diario de MO en los grupos expuestos a Pb y Pb+Cu se ajustara finalmente a las necesidades totales de estos individuos, siendo insuficiente en el resto de grupos.

Los resultados obtenidos están en consonancia con lo descrito por algunos autores, relativo a la disminución en el consumo de alimento producido tras la exposición a Cd y a mezclas de metales en organismos marinos (Loayza-Muro, 2007; Xu *et al.*, 2011), a lo que cabría añadir lo anteriormente indicado relativo al potencial cierre de valvas de los moluscos bivalvos cuando éstos se encuentran expuestos a elevadas concentraciones de metales durante largos periodos de tiempo (Slooff *et al.*, 1983; Doherty *et al.*, 1987; Kramer *et al.*, 1989; Borcharding, 1994; Ham y Peterson, 1994; Markich *et al.*, 2000; Neuberger-Cywiak *et al.*, 2003, 2005, 2007; Fournier *et al.*, 2004; Fdil *et al.*, 2006). Por otro lado también está descrito que en presencia de metales, los moluscos bivalvos aumentan la secreción de moco, lo cual puede llevar a una disminución de la ingesta de fitoplancton por la barrera que este moco provoca (Davies y Cliffe, 2000; Kádár *et al.*, 2005; Reboreda y Davies, 2006), lo cual podría explicar también estos resultados.

Las Tablas 25 y 26 y las Figuras 14 y 15, muestran las diferencias en consumo de MO entre grupos de exposición, al presentar los datos relativizados con respecto a los grupos control. De esta manera podemos observar que, aunque todos los grupos expuestos a Cd y a sus mezclas presentaron diferencias significativas con respecto a su grupo control, volvían a marcarse las diferencias entre los grupos expuestos a Cd y sobre todo a la mezcla ternaria frente al resto de grupos (Figura 15). En este sentido, Loayza-Muro (2007) comprobó que la ingesta de fitoplancton en *A. trapesialis* disminuía al aumentar la concentración de una mezclas de metales, siendo el Cd el principal responsable de dicha disminución.

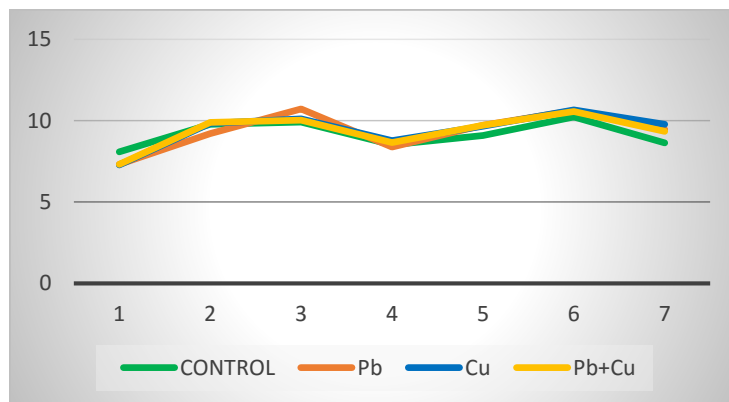
F1	CONTROL					Pb					Cu					Pb + Cu							
DÍA	n	x	SD	Min.	Max.	n	media	SD	Min.	Max.	p	n	media	SD	Min.	Max.	p	n	media	SD	Min.	Max.	p
1	3	8.08	0.35	7.74	8.44	3	7.32	0.42	7.06	7.81	0.74	3	7.27	0.64	6.71	7.96	0.12	3	7.32	0.15	7.15	7.45	0.05
2	3	9.78	0.37	9.36	10.08	3	9.19	0.77	8.3	9.67	0.30	3	9.82	0.43	9.48	10.31	0.91	3	9.89	0.22	9.74	10.14	0.67
3	3	9.91	0.24	9.72	10.18	3	10.71	0.36	10.31	11.01	0.03	3	10.10	0.15	9.94	10.24	0.30	3	10.04	0.35	9.81	10.44	0.63
4	3	8.52	0.33	8.16	8.80	3	8.37	0.27	8.12	8.65	0.58	3	8.76	0.49	8.47	9.32	0.83	3	8.66	0.18	8.46	8.8	0.55
5	3	9.08	0.64	8.37	9.60	3	9.72	0.20	9.59	9.95	0.18	3	9.66	0.18	9.48	9.83	0.20	3	9.71	0.16	9.61	9.9	0.18
6	3	10.22	0.46	9.72	10.64	3	10.62	0.14	10.49	10.76	0.22	3	10.65	0.42	10.24	11.08	0.29	3	10.57	0.14	10.45	10.72	0.28
7	3	8.63	0.49	8.22	9.18	3	9.46	0.18	9.3	9.65	0.05	3	9.77	0.65	9.29	10.51	0.07	3	9.33	0.13	9.23	9.48	0.08

F2	CONTROL					Cd					Cd+Pb					Cd + Cu					Cd+Pb+Cu								
DÍA	n	media	SD	Min.	Max.	n	media	SD	Min.	Max.	p	n	media	SD	Min.	Max.	p	n	media	SD	Min.	Max.	p	n	media	SD	Min.	Max.	p
1	3	7.67	0.00	7.67	7.67	3	7.20	0.16	7.09	7.38	0.04	3	6.85	0.15	6.71	7.00	0.00	3	6.92	0.08	6.86	7.01	0.00	3	5.51	0.36	5.10	5.76	0.00
2	3	6.87	0.01	6.86	6.87	3	6.75	0.11	6.68	6.88	0.51	3	8.32	0.04	8.29	8.37	0.05	3	8.32	0.02	8.30	8.34	0.05	3	8.79	0.49	8.42	9.35	0.00
3	3	8.31	0.01	8.30	8.32	3	8.44	0.13	8.32	8.58	0.11	3	7.96	0.24	7.73	8.21	0.05	3	7.92	0.26	7.62	8.09	0.05	3	7.40	0.66	7.01	8.17	0.00
4	3	8.14	0.01	8.14	8.15	3	8.07	0.10	8.00	8.18	0.51	3	6.76	0.32	6.45	7.09	0.05	3	6.70	0.73	5.91	7.36	0.05	3	0.35	0.32	0.00	.640	0.00
5	3	6.72	0.03	6.69	6.75	3	6.72	0.19	6.59	6.94	0.98	3	6.97	0.08	6.88	7.01	0.05	3	7.41	0.36	7.00	7.63	0.08	3	6.81	0.61	6.22	7.43	0.82
6	3	8.58	0.39	8.13	8.80	3	7.05	0.19	6.89	7.26	0.05	3	8.59	0.22	8.42	8.84	0.83	3	8.37	0.94	7.43	9.31	0.83	3	9.36	1.32	8.47	10.88	0.83
7	3	8.51	0.08	8.46	8.60	3	8.57	0.04	8.55	8.60	0.51	NE						NE						NE					

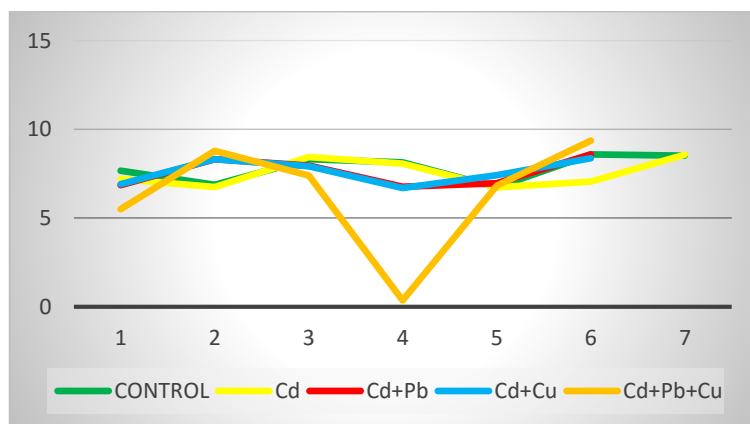
Tabla 23. Ingesta de materia orgánica (mg) por individuo y día, para cada tratamiento. F1=fase experimental 1; F2=fase Experimental 2; NE=datos no evaluados; p=comparación de cada tratamiento con su control (t- Student).

		n	media	SD	Min.	Max.	p
FE1	CONTROL	3	55.59	1.13	54.87	56.9	-
	Pb	3	55.93	0.37	55.63	56.34	0.65
	Cu	3	56.27	0.43	55.8	56.64	0.39
	Pb + Cu	3	56.19	0.13	56.05	56.32	0.46
FE2	CONTROL	3	46.29	0.43	45.79	46.54	-
	Cd	3	44.22	0.15	44.06	44.34	0.05*
	Cd+Pb	3	45.45	0.04	45.41	45.48	0.05*
	Cd+Cu	3	45.62	1.87	43.88	47.6	0.51*
	Cd+Pb+Cu	3	38.22	1.25	37.4	39.66	0.05*

**Tabla 24.** Materia orgánica total (mg) consumida por individuo para cada tratamiento. FE1=fase Experimental 1; FE2=fase experimental 2; p=comparación de cada tratamiento con su control (t-Student o \*U de Mann Whitney).



**Figura 12.** Ingesta de materia orgánica (mg) por individuo y día para cada tratamiento. Fase experimental 1. Cada día es la media de los tres tanques.



**Figura 13.** Ingesta de materia orgánica (mg) por individuo y día para cada tratamiento. Fase experimental 2. Cada día es la media de los tres tanques.



*Resultados y discusión*

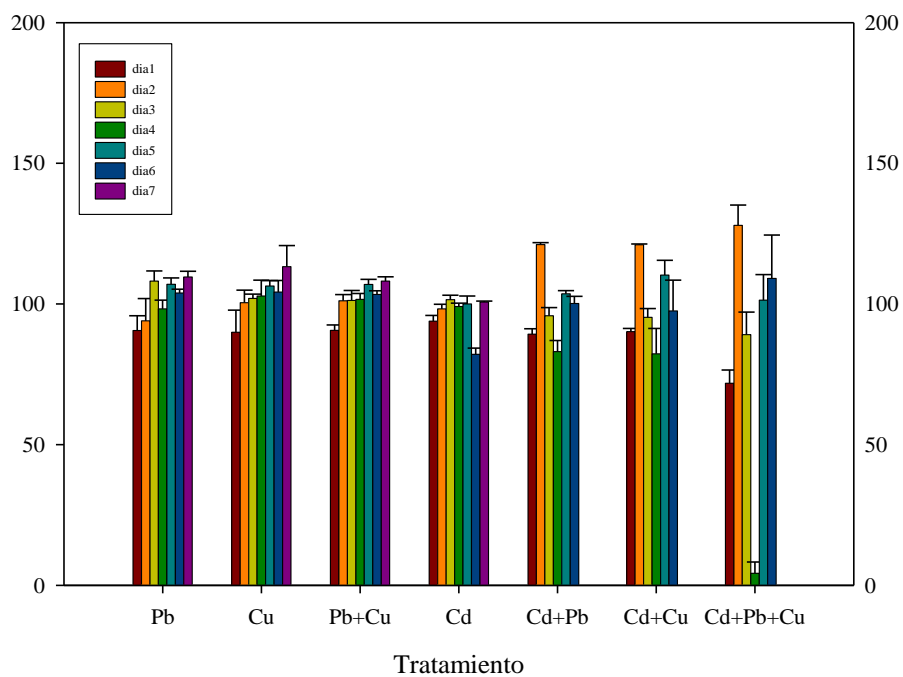
FE1	Pb					Cu					Pb+Cu				
	DÍA	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	n	media	SD	Mín.	n	n	media	SD
1	3	90.56	5.26	87.35	96.63	3	89.95	7.85	83.01	98.47	3	90.62	1.90	88.51	92.22
2	3	94.00	7.94	84.84	98.87	3	100.44	4.44	96.96	105.44	3	101.15	2.20	99.56	103.66
3	3	108.10	3.62	104.07	111.06	3	101.96	1.53	100.30	103.33	3	101.25	3.55	98.95	105.34
4	3	98.26	3.12	95.26	101.48	3	102.83	5.64	99.46	109.35	3	101.64	2.09	99.28	103.28
5	3	107.02	2.24	105.65	109.60	3	106.41	1.88	104.45	108.21	3	106.97	1.79	105.88	109.04
6	3	103.91	1.33	102.65	105.30	3	104.26	4.10	100.21	108.42	3	103.39	1.32	102.26	104.84
7	3	109.59	2.01	107.81	111.77	3	113.25	7.54	107.69	121.84	3	108.13	1.53	107.00	109.88

FE2	Cd					Cd+Pb					Cd+Cu					Cd+Pb+Cu				
	DÍA	n	n	media	SD	Mín.	n	n	media	SD	Mín.	n	n	media	SD	Mín.	n	n	media	SD
1	3	93.88	2.04	92.45	96.21	3	89.26	1.93	87.46	91.30	3	90.19	1.09	89.46	91.44	3	71.82	4.67	66.47	75.05
2	3	98.22	1.68	97.18	100.16	3	121.10	0.69	120.62	121.89	3	121.06	0.25	120.84	121.33	3	127.96	7.23	122.52	136.16
3	3	101.52	1.58	100.09	103.21	3	95.82	2.89	92.99	98.76	3	95.25	3.13	91.66	97.38	3	89.10	8.02	84.32	98.36
4	3	99.10	1.20	98.29	100.48	3	83.05	3.98	79.21	87.15	3	82.27	9.03	72.55	90.40	3	4.26	3.98	0.00	7.89
5	3	100.01	2.82	98.06	103.25	3	103.63	1.11	102.34	104.29	3	110.27	5.25	104.21	113.48	3	101.37	9.06	92.52	110.62
6	3	82.11	2.23	80.31	84.60	3	100.16	2.55	98.12	103.02	3	97.51	10.95	86.59	108.49	3	109.11	15.39	98.70	126.79
7	3	100.66	0.38	100.42	101.09	NE	-	-	-	-	NE	-	-	-	-	NE	-	-	-	-

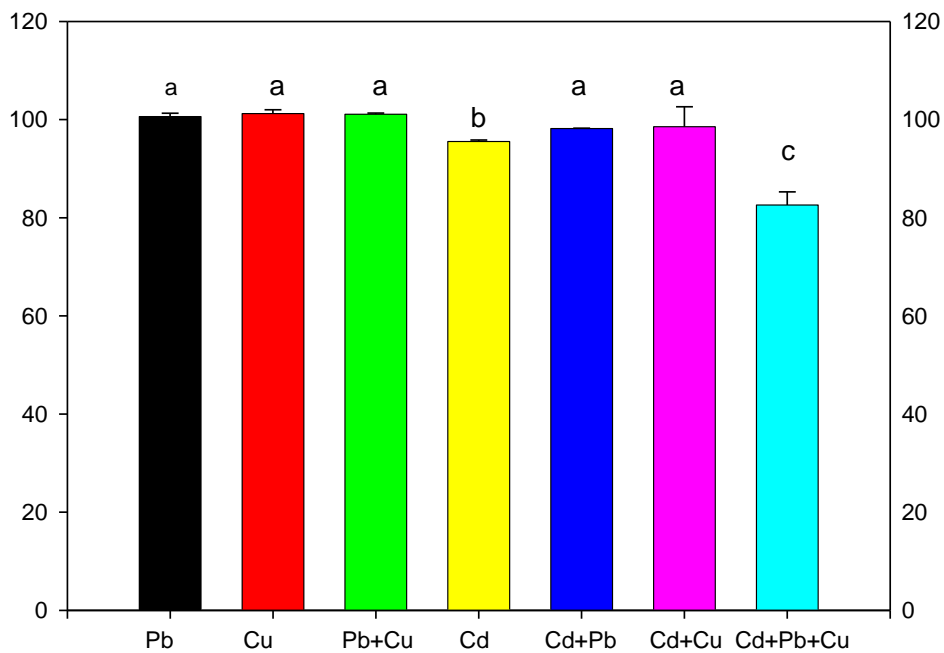
**Tabla 25.** Datos relativizados de la ingesta media de materia orgánica por individuo y día, para cada tratamiento. F1=fase experimental 1; F2=fase Experimental 2; NE=datos no evaluados.

	n	media	SD	Mín.	Máx.
<b>Pb</b>	3	101.87	0.34	101.66	102.26
<b>Cu</b>	3	102.89	1.52	101.75	104.62
<b>Pb + Cu</b>	3	102.07	0.41	101.71	102.52
<b>Cd</b>	3	96.30	0.21	96.08	96.49
<b>Cd+Pb</b>	3	96.73	0.08	96.65	96.80
<b>Cd+Cu</b>	3	97.11	3.98	93.40	101.32
<b>Cd+Pb+Cu</b>	3	81.36	2.66	79.60	84.42

**Tabla 26.** Datos relativizados del total de materia orgánica consumida por individuo, para cada tratamiento.



**Figura 14.** Ingesta de materia orgánica relativizado con respecto a los grupos control, para cada día de exposición. Comparación entre grupos de exposición.



**Figura 15.** Valor medio de la ingestión de materia orgánica para los 7 días de exposición (datos relativizados con respecto a los grupos control). Comparación entre grupos de exposición. Las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (test de Dunn).

Los efectos interactivos en la ingestión de materia orgánica se detallan en las tablas 27 y 28. Como podemos observar, en las cuatro combinaciones de metales se alternaban los tres tipos de efectos según el día, dando finalmente como efecto medio el aditivo en las mezclas Cd+Cu y ternaria, el sinérgico en la mezcla Cd+Pb y el antagónico en la mezcla Pb+Cu. Al analizar los resultados relativos a la materia orgánica total consumida tras los 7 días de exposición, observamos que el efecto medio se mantuvo, excepto en el caso del grupo expuesto a la mezcla binaria Cd+Pb, que pasó a aditivo. Pese a las oscilaciones observadas en la evaluación de TA<sub>30</sub> y TA<sub>24</sub>, así como las encontradas en el grupo expuesto a la mezcla ternaria, comprobamos que de nuevo es el efecto aditivo el que predomina, salvo el en caso de la única mezcla sin Cd, en el que encontramos un efecto antagónico constante a partir del quinto día de exposición mientras que en el resto de grupos el efecto final era fundamentalmente el aditivo.

	Día	Efecto observado (media±SD)	Efecto calculado (esperado) (media±SD)	Diferencia	p	Efecto interactivo	
<b>A</b>	<b>Pb+Cu</b>	1	90.62 ± 1.90	98.79 ± 1.07	-8.17	0.00	SNG
		2	101.15 ± 2.20	99.96 ± 0.13	1.19	0.45	ADT
		3	101.25 ± 3.55	99.86 ± 0.14	1.39	0.57	ADT
		4	101.64 ± 2.09	100.15 ± 0.26	1.49	0.34	ADT
		5	106.97 ± 1.79	99.58 ± 0.04	7.39	0.02	ATG
		6	103.39 ± 1.32	99.82 ± 0.16	3.57	0.01	ATG
		7	108.13 ± 1.53	98.79 ± 0.50	9.34	0.00	ATG
	<b>Cd+Pb</b>	1	89.26 ± 1.93	99.35 ± 0.45	-10.10	0.00	SNG
		2	121.10 ± 0.69	99.85 ± 0.24	21.26	0.00	ATG
		3	95.82 ± 2.89	99.91 ± 0.07	-4.09	0.07	ADT
		4	83.05 ± 3.98	100.01 ± 0.03	-16.96	0.00	SNG
		5	103.63 ± 1.11	100.02 ± 0.17	3.61	0.03	ATG
		6	100.16 ± 2.55	100.68 ± 0.15	-0.52	0.76	ADT
		7	NE -	- -	-- -	- -	-
	<b>Cd+Cu</b>	1	90.19 ± 1.09	99.29 ± 0.59	-9.10	0.00	SNG
		2	121.06 ± 0.25	99.96 ± 0.04	21.10	0.00	ATG
		3	95.25 ± 3.13	99.97 ± 0.04	-4.72	0.12	ADT
		4	82.27 ± 9.03	99.98 ± 0.02	-17.71	0.03	SNG
		5	110.27 ± 5.25	99.97 ± 0.21	10.30	0.08	ADT
		6	97.51 ± 10.95	100.75 ± 0.77	-3.24	0.64	ADT
		7	NE -	- -	- -	- -	-
<b>Cd+Pb+Cu</b>	1	71.82 ± 4.67	100.00 ± 0.08	-28.18	0.00	SNG	
	2	127.96 ± 7.23	100.00 ± 0.00	27.96	0.02	ATG	
	3	89.10 ± 8.02	100.00 ± 0.00	-10.90	0.14	ADT	
	4	6.39 ± 2.12	100.00 ± 0.00	-93.61	0.01	SNG	
	5	101.37 ± 9.06	100.00 ± 0.01	1.37	0.81	ADT	
	6	109.11 ± 15.39	100.00 ± 0.03	9.11	0.41	ADT	
	7	NE -	- -	- -	- -	-	
<b>B</b>	<b>Pb+Cu</b>	101.88 ± 0.43	99.95 ± 0.03	1.93	0.00	ATG	
	<b>Cd+Pb</b>	98.83 ± 0.12	100.06 ± 0.01	-1.23	0.00	SNG	
	<b>Cd+Cu</b>	99.43 ± 3.74	100.09 ± 0.04	-0.67	0.77	ADT	
	<b>Cd+Pb+Cu</b>	89.44 ± 8.67	100.00 ± 0.00	-10.56	0.17	ADT	

**Tabla 27.** Evaluación del efecto interactivo (ADT=aditivo, SNG=sinérgico; ATG=antagónico) sobre el consumo de alimento; p= t-Student; **A**=por días, **B**= media de los 7 días.

	Efecto observado* (media±SD)		Efecto calculado (esperado) (media±SD)			Diferencia	<i>p</i> (*)	Efecto interactivo
<b>Pb+Cu</b>	101.07	± 0.24	99.99	± 0.01		1.09	0.00	<b>ATG</b>
<b>Cd+Pb</b>	98.18	± 0.08	100.03	± 0.03		-1.85	0.05*	<b>ADT</b>
<b>Cd+Cu</b>	98.56	± 4.04	100.05	± 0.03		-1.49	0.56	<b>ADT</b>
<b>Cd+Pb+Cu</b>	82.58	± 2.70	100.00	± 0.00		-17.42	0.05*	<b>ADT</b>

**Tabla 28.** Evaluación de efecto interactivo (aditivo, sinérgico o antagónico) sobre el consumo total de alimento (datos relativizados con respecto al grupo control), *p*=t-Student o \*U-Mann Whitney.

No hemos encontrado en la bibliografía estudios experimentales en los que se evaluara el consumo de MO en moluscos bivalvos, por lo que si bien nuestro estudio puede ser mejorado, creemos que la información aportada puede ser de guía para nuevos procedimientos experimentales sobre los efectos de mezclas de metales a base de Cd.

### IV.3. Estudio biométrico

En los últimos años ha aumentado el interés relativo a las medidas biométricas como indicadores del estado sanitario en moluscos bivalvos (Ezgeta-Balic *et al.*, 2011; Jorge *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2014), siendo un dato de interés en estrategias de biomonitorización como OSPAR. Se trata de una información imprescindible en la evaluación de los efectos biológicos, ya que permite correlacionar los resultados obtenidos en estudios de campo y una mejor interpretación de los mismos. Dentro de este grupo de indicadores, el índice de condición (IC) es uno de los más utilizados en estudios de monitorización, ya que es considerado como un indicador de la salud “relativa” de los organismos después de la exposición a un contaminante (Leung y Furnes, 2001; Newton *et al.*, 2001; Andral *et al.*, 2004; Pampanin *et al.*, 2005; Wepener *et al.*, 2008; Branco, 2011; Zhao *et al.*, 2014). Aun así, son escasas en las publicaciones en los que se presenta información de datos biométricos en bioensayos de toxicidad con *M. galloprovincialis*.

El IC se construye a partir de los datos correspondientes a peso (tejidos blandos y valvas) y dimensiones (longitud, anchura y altura de valvas), siendo varias las fórmulas empleadas y sus denominaciones (Tabla 29). Además del IC como expresión global, otros índices relativos a tejidos concretos (glándula digestiva y branquia) pueden aportar información de interés. En nuestro estudio hemos considerado como datos biométricos, los pesos de los tejidos blandos y sus correspondientes índices parciales (IHS= glándula digestiva; IB= branquia; IR= resto), así como el peso del total de tejidos blandos y los IC total (Tablas 30 y 31), los cuales responden a las fórmulas indicadas en el apartado Material y Métodos.

Denominación habitual	Fórmula	Referencias
IC, TCI o índice de la concha	$TB(g) \times 100 / VV(g)$	Orban <i>et al.</i> , 2002; Duquesne <i>et al.</i> , 2004; Cravo <i>et al.</i> , 2009; Höher <i>et al.</i> , 2012; Filgueira <i>et al.</i> , 2008, 2013; Wyatt <i>et al.</i> , 2013; Romero <i>et al.</i> , 2014; Vidal Liñán <i>et al.</i> , 2014; González-Fernández <i>et al.</i> , 2015a; Moschino <i>et al.</i> , 2015
IC (IC comercial)	$TB(g) \times 100 / TB(g)+VV(g)$	Sze y Lee, 2000; Cartier <i>et al.</i> , 2004; Palais <i>et al.</i> , 2011, 2012; González-Rey <i>et al.</i> , 2014; Brooks <i>et al.</i> , 2015; Bongiorno <i>et al.</i> , 2015
IC (IC concha, SCI)	Peso TB x 100/L(cm)VV	Rahnama <i>et al.</i> , 2011; Ramsak <i>et al.</i> , 2012 Riisgård <i>et al.</i> , 2014
IC	$TB \text{ seco (g)}/L(\text{cm})VV \times A(\text{cm})VV \times H(\text{cm})VV$	Gutiérrez <i>et al.</i> , 2014
IC	$(TB(g)+GD(g))/VV(g)$	Albentosa <i>et al.</i> , 2012
IHS (índice hepatosomático)	$GD(g)/TB(g)$	Cartier <i>et al.</i> , 2004; Palais <i>et al.</i> , 2011; González-Fernández <i>et al.</i> , 2015a
IC vol (índice condición volumétrico)	$TB(g)/V(\text{cm}^3)$	Krishnakumar, 1991; González-Fernández <i>et al.</i> , 2015a
IB (índice branquial)	$BR(g)/TB(g)$	González-Fernández <i>et al.</i> , 2015
IG (índice gonadosomático)	$GO(g)/TB(g)$	Arrieche <i>et al.</i> , 2002; Cartier <i>et al.</i> , 2004; Palais <i>et al.</i> , 2011; Albentosa <i>et al.</i> , 2012; González-Fernández <i>et al.</i> , 2015a
ST (índice de espesor de la concha)	$(VV(g) / 2) / L(\text{cm})VV \times H(\text{cm})VV$	Bellas <i>et al.</i> , 2014
	$VV(\text{cm})/AS \text{ VV}(\text{cm}^2)$	Moschino <i>et al.</i> , 2015

**Tabla 29.** Índices de condición utilizados en estudios sobre efectos de los contaminantes en moluscos bivalvos. TB=tejidos blandos; GD=glándula digestiva; B=branquia; GO=gónada; RE=tejidos blandos (excluido GD, B y GO); VV=valvas; L=longitud; A=anchura; H=altura; AS=área de superficie; V=volumen.

Tratamiento	Tejido /	N	media	SD	Mín.	Máx.	p
CONTROL	V	36	3.94	0.45	3.08	5.72	
	GD	35	0.19	0.03	0.12	0.27	
	BR	36	0.32	0.05	0.22	0.47	
	RE	35	1.18	0.19	0.86	1.54	
	TB	35	1.69	0.24	1.20	2.22	
	IHS	34	0.11	0.02	0.08	0.14	
	IB	35	0.19	0.02	0.14	0.25	
	IR	35	0.70	0.03	0.64	0.76	
	IC val	35	43.04	5.16	32.11	54.84	
	IC vol	35	18.32	2.32	13.40	23.77	
	IC	35	30.00	2.52	24.30	35.42	
Pb	V	36	3.83	0.47	3.09	4.56	
	GD	36	0.20	0.04	0.11	0.26	0.46
	BR	35	0.32	0.03	0.23	0.38	0.89
	RE	36	1.14	0.14	0.81	1.41	0.40
	TB	36	1.66	0.19	1.13	1.99	0.50
	IHS	36	0.12	0.02	0.09	0.19	0.30
	IB	35	0.19	0.02	0.15	0.23	0.47
	IR	36	0.69	0.03	0.59	0.78	0.49
	IC val	36	43.60	5.73	32.96	59.31	0.67
	IC vol	36	18.19	1.73	13.63	22.15	0.59
	IC	36	30.26	2.74	24.79	37.23	0.69
Cu	V	35	3.84	0.47	2.82	4.98	
	GD	35	0.19	0.03	0.10	0.27	0.79
	BR	35	0.32	0.06	0.23	0.43	0.75
	RE	35	1.23	0.26	0.79	1.74	0.39 *
	TB	35	1.75	0.30	1.14	2.40	0.42 *
	IHS	35	0.11	0.01	0.08	0.14	0.39
	IB	35	0.19	0.03	0.13	0.27	0.71
	IR	35	0.70	0.04	0.61	0.76	0.51
	IC val	35	46.04	8.56	26.54	67.31	0.08
	IC vol	35	18.81	2.62	13.72	24.56	0.74 *
	IC	35	31.30	4.05	20.97	40.23	0.11
Pb + Cu	V	36	3.9	0.46	3.12	5.01	
	GD	36	0.19	0.03	0.10	0.26	0.94
	BR	36	0.32	0.05	0.18	0.42	0.87
	RE	36	1.14	0.24	0.70	1.75	0.44
	TB	36	1.65	0.28	1.17	2.36	0.46
	IHS	36	0.12	0.02	0.08	0.18	0.53
	IB	36	0.20	0.03	0.13	0.27	0.36
	IR	36	0.69	0.04	0.55	0.77	0.42
	IC val	36	42.56	7.83	29.47	69.06	0.76
	IC vol	36	17.55	2.63	11.98	23.83	0.63
	IC	36	29.66	3.71	22.76	40.85	0.65

**Tabla 30.** Medidas biométricas de los mejillones utilizados en la fase experimental 1, para cada tratamiento y una vez finalizado el tiempo de exposición. Pesos (g): V=valvas, GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. Índices biológicos: IHS=hepatosomático, IB=branquial, IR=resto de tejidos blandos, IC=condición, ICval=condición con valvas, ICvol=condición volumétrico.  $p$ =comparación de cada tratamiento con su control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).



Tratamiento	Tejido / Índice	N	media	SD	Mín.	Máx.	p
CONTROL	V	36	3.95	0.59	3.18	5.98	
	GD	35	0.16	0.03	0.09	0.22	
	BR	35	0.32	0.05	0.23	0.43	
	RE	35	0.82	0.13	0.60	1.19	
	TB	35	1.30	0.16	0.99	1.74	
	IHS	35	0.12	0.02	0.08	0.16	
	IB	35	0.25	0.04	0.15	0.34	
	IR	35	0.63	0.04	0.53	0.76	
	IC val	35	33.65	6.06	23.53	45.35	
	IC vol	35	9.19	1.00	7.29	11.62	
IC	35	25.03	3.38	19.05	31.20		
Cd	V	36	3.84	0.43	2.92	4.63	
	GD	36	0.16	0.04	0.06	0.24	0.90
	BR	36	0.30	0.04	0.23	0.39	0.14
	RE	36	0.79	0.13	0.58	1.04	0.31
	TB	36	1.25	0.18	0.94	1.58	0.24
	IHS	36	0.12	0.02	0.06	0.17	0.56
	IB	36	0.24	0.03	0.19	0.31	0.66
	IR	36	0.63	0.03	0.56	0.68	0.81
	IC val	36	32.66	4.48	24.85	41.90	0.43
	IC vol	36	9.14	0.88	7.39	10.78	0.84
IC	36	24.53	2.55	19.90	29.53	0.49	
Cd + Pb	V	36	3.84	0.44	3.06	4.67	
	GD	36	0.15	0.03	0.10	0.23	0.19
	BR	36	0.31	0.04	0.22	0.41	0.19
	RE	36	0.78	0.12	0.56	1.05	0.15
	TB	36	1.23	0.15	0.94	1.55	0.08
	IHS	36	0.12	0.02	0.10	0.17	0.93
	IB	36	0.25	0.03	0.18	0.31	0.84
	IR	36	0.63	0.04	0.56	0.70	0.89
	IC val	36	32.32	4.45	25.58	40.88	0.29
	IC vol	36	13.57	1.62	10.37	16.28	0.70
IC	36	24.34	2.53	20.37	29.02	0.33	
Cd + Cu	V	36	3.72	0.47	2.78	4.45	
	GD	35	0.15	0.03	0.06	0.23	0.46
	BR	35	0.32	0.06	0.21	0.52	0.95
	RE	35	0.79	0.16	0.47	1.21	0.35
	TB	35	1.26	0.21	0.86	1.72	0.38
	IHS	34	0.12	0.02	0.08	0.16	0.82
	IB	35	0.26	0.04	0.17	0.34	0.34
	IR	35	0.62	0.05	0.54	0.73	0.43
	IC val	35	33.85	5.30	23.43	43.33	0.89
	IC vol	35	9.40	0.87	7.61	11.25	0.34
IC	35	25.17	2.98	18.99	30.23	0.85	
Cd + Pb + Cu	V	31	3.89	0.59	2.72	5.32	
	GD	29	0.13	0.04	0.06	0.20	0.00
	BR	28	0.26	0.08	0.10	0.38	0.00
	RE	29	0.76	0.11	0.45	0.99	0.08
	TB	28	1.17	0.16	0.76	1.44	0.00
	IHS	28	0.11	0.02	0.06	0.16	0.06
	IB	27	0.22	0.04	0.13	0.30	0.02
	IR	29	0.67	0.06	0.55	0.79	0.00
	IC val	29	30.43	6.66	11.02	43.05	0.05
	IC vol	29	12.76	2.39	5.65	17.14	0.77
IC	28	23.60	3.27	16.93	30.10	0.10	

**Tabla 31.** Medidas biométricas de los mejillones utilizados en la fase experimental 2, para cada tratamiento y una vez finalizado el tiempo de exposición. Pesos (g): V=valvas, GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. Índices biológicos: IHS=hepatosomático, IB=branquial, IR=resto de tejidos blandos, IC=condición, ICval=condición con valvas, ICvol=condición volumétrico. *p*=comparación de cada tratamiento con su control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).

Con todos estos índices podemos disponer de una información completa para conocer todas las medidas y sus relaciones posibles. El índice gonado-somático (IGS), aun siendo un índice considerado de utilidad en estudios de biomonitorización, no fue incluido en nuestro estudio, ya que como se ha comentado anteriormente, la mayoría de individuos habían desovado, hecho que pudo comprobarse al realizar las disecciones de los ejemplares (Figura 16).



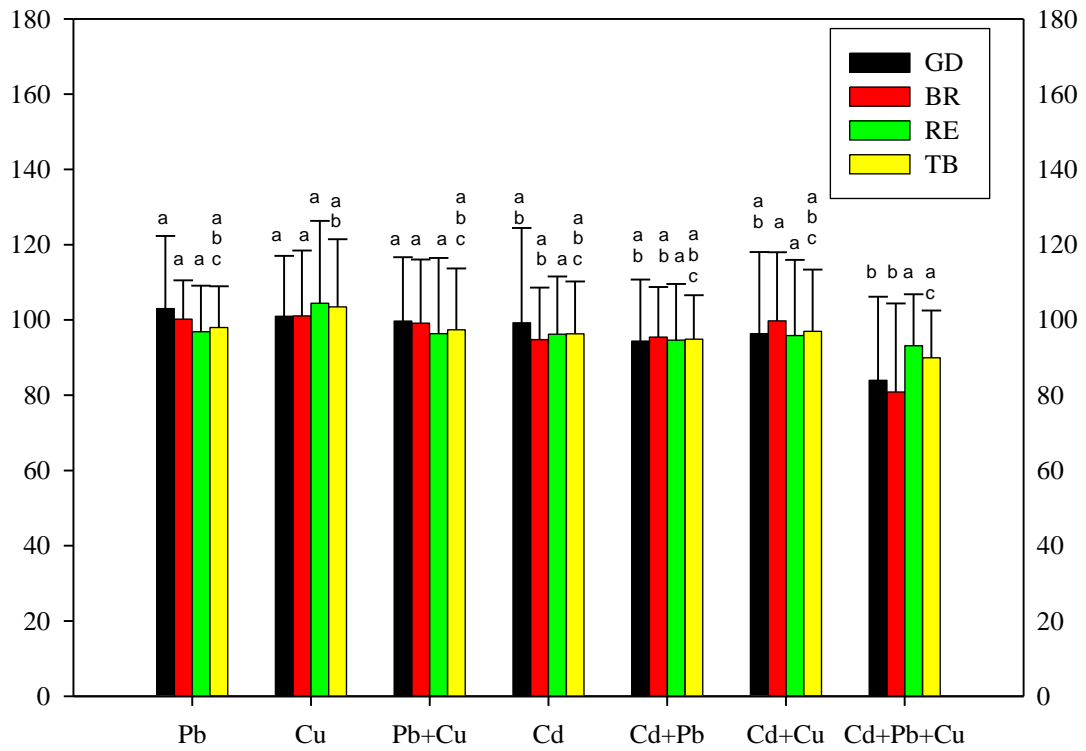
**Figura 16.** Estado reproductor de los mejillones durante las fases experimentales. Aspecto de la gónada posterior al desove.

### IV.3.1. Efectos sobre el peso de los tejidos

#### IV.3.1.1. Efecto directo

Con relación a los pesos de los tejidos solo observamos diferencias estadísticamente significativas entre la mezcla ternaria y su control, tanto en el peso de la glándula como en el de la branquia (inferiores en la mezcla ternaria), siendo marginalmente significativo en el peso del resto ( $p=0.08$ ); y por consiguiente, también fue significativo en el peso total de los tejidos blandos (Tabla 31). Al revisar la bibliografía publicada al respecto, solo encontramos un estudio en el que se hacía referencia a los pesos de los tejidos como indicadores de cambios fisiológicos en mejillones expuestos a contaminantes (Sze y Lee, 2000), concretamente en un bioensayo de exposición crónica a Cu sobre *P. viridis* ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$  durante 3 meses). En dicho estudio, el peso total de los tejidos blandos se mantenía a niveles similares al grupo control al inicio de la exposición (una semana), poniendo en evidencia la existencia de una alta plasticidad fisiológica de la especie junto a una alta tolerancia a la contaminación por Cu. Según esto, en nuestro estudio podría estar produciéndose igualmente una tolerancia en el caso de la exposición a los metales en forma individual y en mezclas binarias, pero no en la ternaria.

Por otro lado, para poder comparar el efecto sobre el peso pero entre los distintos tratamientos, procedimos a relativizar los resultados, obteniendo así el porcentaje de peso de cada tejido y del total de tejidos blandos con respecto a su control (Tabla 32, Figura 17). De esta manera comprobamos que existía una disminución de peso de la glándula digestiva ( $p<0.05$ ) en el grupo tratado con la mezcla ternaria con respecto a los grupos tratados con Pb, Cu y Pb+Cu, por lo que podemos decir que los tratamientos con Cd, se encontraban en un punto intermedio de efecto (sin diferencias significativas frente a ningún otro tratamiento) en lo referente al peso de la glándula digestiva (Figura 17). Igualmente encontramos el mismo resultado al comparar los pesos de la branquia, aunque en este caso también encontramos diferencias significativas entre la mezcla ternaria y el grupo expuesto a Cd+Cu, por lo que es posible que la presencia de Cu ejerza algún efecto amortiguador en este tejido, lo cual podría vincularse a la inducción de metalotioneínas descrita en branquias de organismos expuestos a estos metales (Baraj *et al.*, 2011; Lemus *et al.*, 2014).



**Figura 17.** Pesos de los tejidos relativizados con respecto a los grupos control. Comparación entre grupos de exposición. Para cada tejido, las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (ANOVA). GD=glándula digestiva, BR=branquias, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos.

	Tejido / Índice	N	media	SD	Mín.	Máx.
<b>Pb</b>	GD	36	103.02	19.29	56.49	138.10
	BR	35	100.22	10.28	73.13	117.50
	RE	36	96.88	12.22	68.64	119.49
	TB	36	97.98	10.97	66.98	117.57
	IHS	36	103.83	17.13	78.60	163.32
	IB	35	101.95	10.82	81.40	122.62
	IR	36	99.28	4.40	85.38	111.85
	IC val	36	101.30	13.32	76.59	137.81
	IC vol	36	98.51	10.04	66.46	117.70
	IC	36	100.85	9.14	82.63	124.10
<b>Cu</b>	GD	35	100.97	16.06	49.69	139.14
	BR	35	101.05	17.38	70.63	132.81
	RE	35	104.42	21.89	66.86	147.29
	TB	35	103.46	18.00	67.52	142.13
	IHS	35	97.32	12.33	71.62	121.40
	IB	35	99.26	17.54	68.18	141.65
	IR	35	100.83	5.60	87.98	109.45
	IC val	35	106.98	19.90	61.65	156.38
	IC vol	35	100.24	11.18	79.41	138.82
	IC	35	104.32	13.51	69.90	134.10
<b>Pb + Cu</b>	GD	36	99.71	16.95	52.83	137.05
	BR	36	99.16	16.90	55.63	131.56
	RE	36	96.38	20.09	59.41	147.88
	TB	36	97.35	16.32	69.23	139.35
	IHS	36	102.31	17.14	68.12	152.84
	IB	36	103.14	16.83	70.83	143.24
	IR	36	98.95	6.40	79.67	111.27
	IC val	36	98.89	18.20	68.47	160.46
	IC vol	36	101.33	10.20	75.81	117.99
	IC	36	98.86	12.38	75.86	136.16
<b>Cd</b>	GD	36	99.24	25.19	37.98	151.90
	BR	36	94.80	13.80	73.13	121.88
	RE	36	96.18	15.38	70.49	126.59
	TB	36	96.28	13.94	72.17	122.05
	IHS	36	101.96	17.86	52.46	136.07
	IB	36	98.66	11.96	77.42	123.79
	IR	36	100.16	4.94	88.68	107.86
	IC val	36	97.04	13.32	73.84	124.50
	IC vol	36	99.51	9.57	80.41	117.31
	IC	36	98.02	10.18	79.51	117.98
<b>Cd + Pb</b>	GD	36	94.39	16.35	63.92	142.41
	BR	36	95.45	13.32	67.50	126.88
	RE	36	94.62	14.93	67.68	127.56
	TB	36	94.87	11.69	72.55	119.82
	IHS	36	99.43	13.08	78.69	137.71
	IB	36	100.76	13.19	70.97	124.19
	IR	36	99.81	6.13	89.35	111.37
	IC val	36	96.03	13.21	76.01	121.48
	IC vol	36	99.08	8.76	79.48	117.69
	IC	36	97.25	10.10	81.38	115.94
<b>Cd + Cu</b>	GD	35	96.33	21.73	38.61	142.41
	BR	35	99.78	18.21	64.38	162.19
	RE	35	95.87	20.09	56.95	147.56
	TB	35	96.96	16.40	66.15	132.92
	IHS	34	100.48	14.21	66.39	131.97
	IB	35	103.74	17.30	70.16	136.29
	IR	35	98.68	7.32	86.19	115.47
	IC val	35	100.58	15.75	69.64	128.77
	IC vol	35	102.36	9.47	82.79	122.45
	IC	35	100.57	11.91	75.87	120.78
<b>Cd + Pb + Cu</b>	GD	29	83.94	22.24	34.81	123.42
	BR	28	80.86	23.51	30.63	118.44
	RE	29	93.16	13.64	55.24	120.12
	TB	28	89.93	12.57	58.91	111.26
	IHS	28	91.98	17.45	52.46	127.87
	IB	27	90.25	17.63	51.21	119.76
	IR	29	106.70	9.82	86.75	125.60
	IC val	29	90.42	19.78	32.73	127.93
	IC vol	29	98.66	9.37	84.56	117.65
	IC	28	94.29	13.06	67.64	120.26

**Tabla 32.** Medidas biométricas de los mejillones para cada tratamiento, relativizadas con respecto a su control. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos, IHS=índice hepatosomático, IB=índice branquial, IR=índice de resto de tejidos blandos, IC=índice de condición, ICval=índice de condición con valvas, ICvol=índice de condición volumétrico.

Por su parte, en el resto de tejidos blandos no existían diferencias significativas entre ninguno de los grupos expuestos, y en el caso del peso total de los tejidos blandos observamos que en la exposición a la mezcla ternaria se producía una disminución del peso ( $p < 0.05$ ) con respecto al grupo tratado con Cu (Figura 17). A la vista de estos resultados podríamos afirmar que existe una diferente respuesta de los mejillones a este nivel como consecuencia de la exposición a estos metales. Sin embargo, no hemos encontrado bibliografía relativa a cambios de peso en invertebrados marinos como consecuencia de la exposición a mezclas de metales pesados, por lo que sería conveniente realizar nuevos estudios que ayuden a comprender las diferencias observadas.

#### IV.3.1.2. Efecto interactivo

Una vez efectuado el estudio estadístico para comprobar la existencia de efectos aditivos, sinérgicos o antagónicos sobre el peso de los tejidos (Tabla 33), comprobamos que el único efecto distinto a la aditividad fue el de la sinergia, y que la mayor frecuencia de efectos sinérgicos se producía en el grupo tratado con la mezcla ternaria, seguido de la mezcla Cd+Pb y Pb+Cu, no apareciendo este efecto en el caso de la mezcla Cd+Cu. La sinergia está considerada como un efecto derivado de la cooperación de dos o más agentes a un mismo fin. Según la ATSDR (2004b), se trata de una interacción en la que el efecto de la mezcla es mayor que el estimado para la aditividad en base a la toxicidad de los componentes de la mezcla, siendo un efecto poco descrito en la literatura (Ince *et al.*, 1999). La sinergia se dio en el peso de la totalidad de tejidos blandos (excepto en la mezcla Cd+Cu), en el peso de glándula y branquia (mezcla ternaria) y en el peso del resto de tejidos (Cd+Pb), no existiendo como puede apreciarse, un patrón común para todas los tejidos y combinaciones ensayadas. A este respecto cabe señalar que las interacciones de los metales pueden estar influenciadas por factores como la especie sobre la que se está probando, la combinación de metales o la calidad del agua (Comisión Asesora Europea sobre Pesca, 1980; Kraak *et al.*, 1994b; Preston *et al.*, 2000; Hagopian-Schlekat *et al.*, 2001; Otitoloju, 2002).

En la literatura científica hay algunos ejemplos de esta variabilidad. Así, Spehar y Fiantt (1986) indicaron que para una misma combinación de metales (As, Cd, Cr, Cu, Hg y Pb), había diferentes efectos interactivos en función tanto de las especies expuestas como del punto final de la prueba. En peces de la especie *Pimephales promelas* (carpita cabezona),

la exposición aguda a mezclas de metales provocaba efectos sinérgicos, mientras que en exposiciones crónicas el efecto era antagónico, mientras que cuando se utilizaron dáfidos como organismo de ensayo, los efectos fueron casi estrictamente aditivos para exposiciones agudas y crónicas. En bivalvos como la almeja *Ruditapes decussatus*, se han observado efectos ligeramente sinérgicos para la mezcla Cd+Pb en embriogénesis y desarrollo larvario (Fathallah *et al.*, 2013); y también en otras especies marinas como los erizos de mar, *Chironomus calligraphus* (Iannacone y Salazar, 2007) y *Strongylocentrotus intermedius*, donde además se producía efectos aditivos para las mezclas Cu+Cd y Cd+Pb+Cu y antagónicos para la mezcla Cu+Pb (Xu *et al.*, 2011). Por el contrario la mezcla Cd+Cu tenía efectos antagónicos en el caracol de agua salobre *Tympanotonus fuscatus* (Otitoloju, 2002). En los dáfidos *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia carinata*, los estudios de toxicidad aguda demostraron un efecto sinérgico para la mezcla Cu+Pb (Cooper *et al.*, 2009), mientras que en la fotobacteria *Vibrio fischeri* (test Microtox) el efecto fue aditivo (Tsiridis *et al.*, 2006). Como puede apreciarse, son variados los efectos descritos, siendo preciso pues, profundizar más en este aspecto en mejillones, donde las referencias son escasas.

	Tejido / Índice	Efecto Observado		Efecto Esperado		Diferencia	p	Efecto interactivo
		(media ± SD)	(media ± SD)	(media ± SD)	(media ± SD)			
Pb + Cu	GD	99.71 ± 4.21	99.96 ± 0.06	-0.26	0.51 *	ADT		
	BR	99.16 ± 5.49	99.99 ± 0.02	-0.83	0.81	ADT		
	RE	96.37 ± 2.52	100.02 ± 0.18	-3.65	0.13	ADT		
	TB	97.35 ± 0.61	100.01 ± 0.12	-2.67	0.05 *	SNG		
	IHS	102.30 ± 5.73	100.05 ± 0.14	2.26	0.53	ADT		
	IB	103.14 ± 6.53	99.98 ± 0.02	3.16	0.45	ADT		
	IR	98.95 ± 2.33	99.99 ± 0.03	-1.04	0.52	ADT		
	IC val	98.89 ± 3.24	99.78 ± 0.49	-0.88	0.69	ADT		
	IC vol	101.33 ± 1.92	99.97 ± 0.08	1.37	0.34	ADT		
	IC	98.86 ± 2.27	99.90 ± 0.21	-1.04	0.47	ADT		
Cd + Pb	GD	94.39 ± 7.46	100.03 ± 0.23	-5.64	0.32	ADT		
	BR	95.45 ± 4.92	100.03 ± 0.09	-4.58	0.25	ADT		
	RE	94.62 ± 3.31	99.81 ± 0.21	-5.18	0.05	SNG		
	TB	94.87 ± 1.31	99.85 ± 0.13	-4.98	0.02	SNG		
	IHS	99.43 ± 7.27	100.08 ± 0.10	-0.65	0.89	ADT		
	IB	100.76 ± 6.07	100.02 ± 0.09	0.75	0.51 *	ADT		
	IR	99.81 ± 2.01	100.04 ± 0.07	-0.23	0.87	ADT		
	IC val	96.03 ± 0.48	99.97 ± 0.10	-3.94	0.00	SNG		
	IC vol	99.08 ± 2.03	99.99 ± 0.01	-0.91	0.48	ADT		
	IC	97.25 ± 0.41	99.99 ± 0.04	-2.74	0.00	SNG		
Cd + Cu	GD	96.14 ± 8.56	100.01 ± 0.10	-3.87	0.52	ADT		
	BR	99.74 ± 7.12	100.10 ± 0.16	-0.36	0.93	ADT		
	RE	95.77 ± 7.89	100.11 ± 0.03	-4.34	0.44	ADT		
	TB	96.86 ± 4.67	100.08 ± 0.07	-3.21	0.36	ADT		
	IHS	100.40 ± 3.09	100.11 ± 0.26	0.29	0.88	ADT		
	IB	103.80 ± 11.31	99.99 ± 0.08	3.81	0.59	ADT		
	IR	98.67 ± 3.85	100.03 ± 0.04	-1.36	0.58	ADT		
	IC val	100.51 ± 5.83	100.10 ± 0.09	0.41	0.91	ADT		
	IC vol	102.42 ± 1.94	99.99 ± 0.01	2.44	0.16	ADT		
	IC	100.52 ± 4.21	100.03 ± 0.04	0.49	0.86	ADT		
Cd + Pb + Cu	GD	84.26 ± 3.36	100.00 ± 0.00	-15.74	0.02	SNG		
	BR	81.33 ± 5.87	100.00 ± 0.00	-18.67	0.03	SNG		
	RE	93.72 ± 6.32	100.00 ± 0.01	-6.28	0.23	ADT		
	TB	90.34 ± 5.59	100.00 ± 0.00	-9.66	0.04	SNG		
	IHS	91.91 ± 2.28	100.00 ± 0.00	-8.09	0.03	SNG		
	IB	90.33 ± 3.26	100.00 ± 0.00	-9.67	0.01	SNG		
	IR	106.59 ± 1.48	100.00 ± 0.00	6.59	0.00	ATG		
	IC val	91.18 ± 7.32	100.00 ± 0.01	-8.81	0.11	ADT		
	IC vol	98.96 ± 3.24	100.00 ± 0.00	-1.04	0.63 *	ADT		
	IC	94.62 ± 4.02	100.00 ± 0.00	-5.38	0.15	ADT		

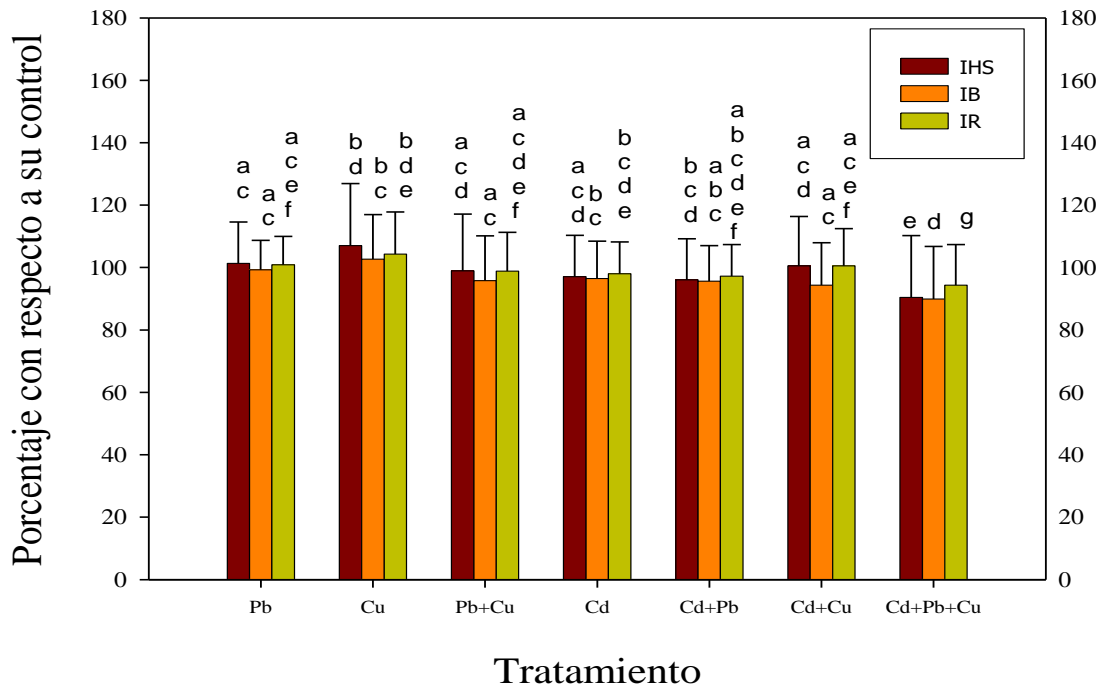
**Tabla 33.** Evaluación de efecto interactivo (ADT=aditivo, SNG=sinérgico; ATG=antagónico) sobre las medidas biométricas. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos, IHS=índice hepatosomático, IB=índice branquial, IR=índice de resto de tejidos blandos, ICval=índice de condición con valvas, ICvol=índice de condición volumétrico, IC=índice de condición.  $p$ =t-Student o \*U de Mann Whitney.



#### IV.3.2. Efectos sobre los índices de cada tejido (glándula, branquia y resto)

##### IV.3.2.1. Efecto directo

Los índices específicos para cada tejido (IHS, IB e IR) confirmaron lo ya observado en el estudio relativo al peso de los tejidos (Tablas 30 y 31), apareciendo diferencias significativas solo en el caso de la mezcla ternaria al compararla con su grupo control. No hemos encontrado publicaciones en las que se evalúen estos índices en estudios de laboratorio (bioensayos) sobre exposición a metales, reduciéndose su mención a escasos trabajos en estudios de monitorización, en los que se indica que el IHS es muy sensible a los ciclos de gametogénesis y a las reservas metabólicas, estando fuertemente relacionados con el IC y los niveles de glucógeno y lípidos de las gónadas (Cartier *et al.*, 2004; Palais *et al.*, 2011; González-Fernández *et al.*, 2015a). En el estudio estadístico una vez relativizados los datos con respecto a los grupos control (Tabla 32, Figura 18), observamos que los mejillones expuestos a la mezcla ternaria tenían una disminución estadísticamente significativa de los tres índices con respecto al resto de grupos de exposición; y que en el caso del IHS, los mejillones expuestos a Cu y a Pb también presentaron diferencias significativas entre ellos, consistentes en un aumento del IHS en el caso del grupo expuesto a Cu. Quizá el hecho de que en nuestro estudio los individuos hubieran desovado previamente a la realización de las fases experimentales, junto a la hipotética tolerancia a las formas menos complejas de exposición comentada en el apartado anterior, haya contribuido a las escasas diferencias observadas en estos índices en exposiciones simples y mezclas binarias. Y de nuevo la alta plasticidad frente al Cu quizá contribuya a marcar las diferencias en el IHS tras la exposición a este metal.



**Figura 18.** Índices de condición tisulares relativizados con respecto a los grupos control. Comparación entre grupos de exposición. Para cada índice, las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (Kruskal-Wallis). IHS=índice hepatosomático, IB=índice branquial, IR=índice de resto de tejidos blandos.

#### IV.3.2.2. Efecto interactivo

En el estudio de efectos interactivos (Tabla 33) observamos que el efecto en todas las combinaciones binarias era el aditivo, mientras que en el caso de la mezcla ternaria era el sinérgico (IHS e IB) y el antagonístico (IR). Estos resultados coinciden con lo observado en los pesos de la glándula, branquia y resto, excepto en el caso del peso del resto y del IR para los tratamientos Cd+Pb y Cd+Pb+Cu, cambiando el efecto sinérgico por aditivo (Cd+Pb) y el aditivo por antagonístico (Cd+Pb+Cu). Como se puede apreciar, los pesos de glándula y branquia mantienen el mismo efecto que sus índices correspondientes, no ocurriendo así en el caso del resto, lo cual nos indica que el estado fisiológico en base a la biometría de estos tejidos (glándula y branquia) puede aportar una información bastante sólida respecto al efecto provocado por metales en combinación. Por otro lado, el IR del grupo expuesto a la mezcla ternaria fue el único índice en el que encontramos un efecto antagonístico, lo cual contrasta con el efecto aditivo producido en el peso del resto tras la exposición a esta mezcla. Según la ATSDR (2004b), el efecto antagonístico se produce

cuando el efecto de la mezcla es menor que el estimado para la aditividad en base a la toxicidad de los componentes de la mezcla. Dada la similitud en los efectos interactivos, lo dicho en el apartado de efectos sobre el peso de los tejidos es considerado también aquí.

### IV.3.3. Efectos sobre los índices de condición total

#### IV.3.3.1. Efecto directo

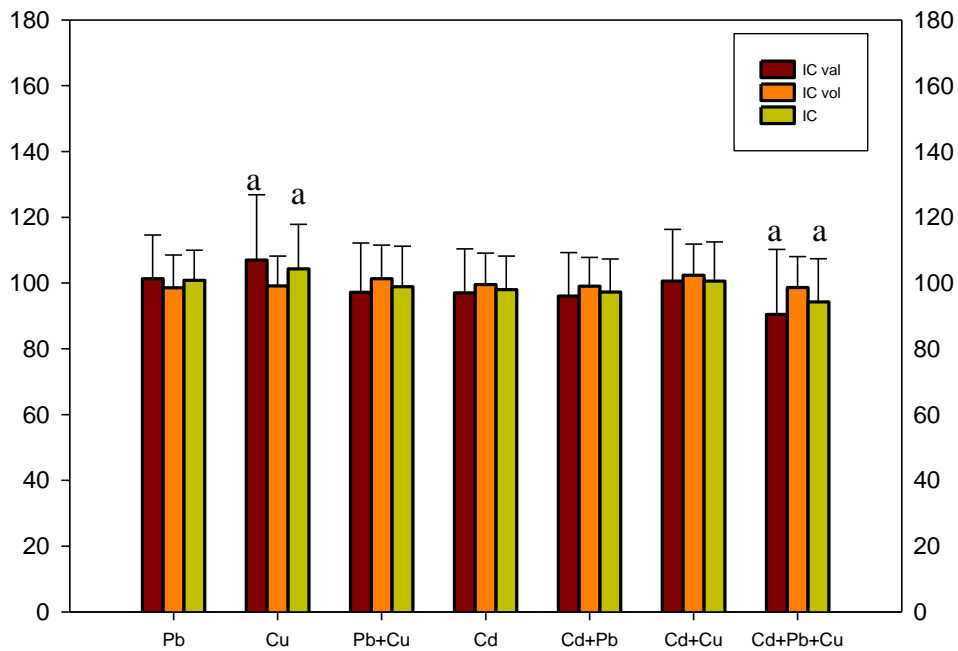
Con relación a los índices de condición citados en la bibliografía (Tabla 29), los evaluados en nuestro estudio fueron el denominado índice de condición comercial (IC), el índice de condición volumétrico ( $IC_{vol}$ ) y el índice de condición de la concha ( $IC_{valvas}$ ) (Tablas 30 y 31). En general, el IC se utiliza en mejillones como una estimación de su condición fisiológica (Smolders *et al.*, 2004; Pampanin *et al.*, 2005; Fernández, 2012b), teniendo una mayor aplicación que otros índices (Lucas y Beninger, 1985), ya que facilita la estandarización de las metodologías de estudio, lo cual es esencial para comparar programas de monitoreo (Filgueira *et al.*, 2013). Sin embargo, este índice no tiene en cuenta las posibles variaciones en la capacidad de la cavidad interna (Mann, 1978), por lo que según algunos autores (Crosby y Gale, 1990), no se trata del mejor indicador del estado nutritivo. Por este motivo creímos oportuno valorar además, el segundo de los índices citados ( $IC_{vol}$ ). Finalmente, aunque los tejidos blandos es quizá el factor determinante en la determinación del estado fisiológico, las características biométricas de las conchas aportan un valor importante en estudios de monitorización, por lo que con la inclusión del  $IC_{valvas}$  consideramos que el estudio biométrico en la totalidad de las estructuras de la especie estaba garantizado. En lo que respecta a estos tres índices, nuestros resultados no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos tratados con metales y sus respectivos controles (Tablas 30 y 31), incluso en el caso de la mezcla ternaria, no estando pues este grupo en consonancia con los resultados descritos en pesos e índices de los tejidos (diferencias significativas en todos los pesos e índices de tejidos con respecto al grupo control). En este sentido podríamos pues considerar que el estudio de los índices de tejidos puede aportar información que de otra forma podría quedar ignorada si solo se considerara el IC como indicador biométrico en estudios de exposición a contaminantes como los metales pesados, sobre todo en forma de mezclas.

Al comparar estos resultados con otros estudios en los que solo se valoraba el IC, comprobamos que en el caso del Cu, Brooks *et al.* (2015) no encontraron diferencias significativas con respecto al control en estudios de 21 días de exposición en *M. galloprovincialis*, aunque sí aparecieron en otras especies (*M. edulis* y *M. trossulus*), donde el IC fue más bajo que en los controles. Esto coincide con lo descrito sobre *P. viridis* por Krishnakumar y Damodaran (1991) y Sze y Lee (2000), y sobre *Macoma balthica* (Hummel *et al.*, 1996), por lo que opinamos que es posible que existan diferencias interespecíficas en cuanto a la sensibilidad a este elemento.

En un estudio efectuado sobre *M. edulis* expuesto a  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de Cd durante 24 horas, Sheir *et al.* (2013) observaron una disminución estadísticamente significativa del IC con respecto al grupo control. Esto no coincide con nuestros resultados, pudiendo deberse a diferentes motivos, como por ejemplo al hecho de que los mejillones utilizados por dichos autores fueron tomados de zonas contaminadas, y que por tanto, podrían tener lesiones tisulares o perturbaciones en el peso de la concha o en el peso de los tejidos blandos como resultado de la acumulación de metal, siendo estos hallazgos descritos también por otros autores (Roesijadi *et al.*, 1984; Kljaković-Gašpić *et al.*, 2006). Además, el tiempo de exposición también era diferente (24 horas vs 7 días), pudiendo haberse producido en nuestro caso una cierta adaptación inicial a la presencia de los contaminantes con el paso de los días. En este sentido, otros bioensayos realizados con *M. galloprovincialis* durante 15 días de exposición, tampoco mostraron diferencias significativas entre los grupos control y los expuestos a varias mezclas de productos farmacéuticos (González-Rey *et al.*, 2014). En otros moluscos, como *Macoma balthica*, la exposición a  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  de Cd durante 35 días no produjo cambios en el IC (Duquesne *et al.*, 2004), produciéndose los cambios en el IC a partir de  $300 \mu\text{g}$  de Cd  $\text{L}^{-1}$ , una concentración bastante superior a la utilizada en nuestro estudio.

En el caso de exposiciones a Pb, diversos autores muestran la inexistencia de diferencias estadísticamente significativas en los índices TCI (índice de condición de la concha) y SCI (índice de condición referido a la longitud de las valvas) en otras especies de mejillones, como *Dreissena polymorpha* y *Elliptio complanata* (Mersch y Pihan, 1993; Kilgour *et al.*, 1994; Smolders *et al.*, 2002; Martel *et al.*, 2003; Roméo *et al.*, 2003; Rahnama *et al.*, 2011), aunque otros autores (Mersch *et al.*, 1996; Smolders *et al.*, 2002) sí las encontraron en TCI de mejillones de agua dulce y salobre (mejillón cebra).

Finalmente, al comparar todos los tratamientos entre sí (Figura 19), comprobamos que los tres índices evaluados eran inferiores en el grupo expuesto a la mezcla ternaria, siendo estadísticamente significativo en el caso del IC y el IC<sub>val</sub> de la mezcla ternaria frente a los expuestos a Cu, lo cual coincide con lo anteriormente expuesto sobre las diferencias de peso de la totalidad de los tejidos blandos.



**Figura 19.** Índices de condición total relativizados con respecto a los grupos control. Comparación entre grupos de exposición. Para cada índice, las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (ANOVA). IC<sub>val</sub>=índice de condición de las valvas, IC<sub>vol</sub>=índice de condición volumétrico, IC=índice de condición.

#### IV.3.3.2. Efecto interactivo

Para estos índices, el efecto aditivo fue el que apareció en todas las mezclas, excepto en el caso de la combinación Cd+Pb, en la que el IC y el IC<sub>val</sub> presentaron un efecto sinérgico. Según Lares (1995), el IC tiene una gran influencia en la correlación de ambos metales en los mejillones. Sin embargo no hemos encontrado estudios referidos al efecto sinérgico sobre el IC de la mezcla de estos metales, aunque sí para otros marcadores de toxicidad como la CL50 o las Unidades Tóxicas (TU) sobre larvas de *Chironomus calligraphus* (Iannacone *et al.*, 2007) y sobre erizo de mar *Strongylocentrotus intermedius* (Xu *et al.*, 2011).

En resumen, y tal y como afirman Nicholson y Lam (2005), los procesos de desintoxicación tras la exposición a contaminantes conllevan un agotamiento de las reservas de energía que fueron potencialmente destinadas para el crecimiento. A la vista de nuestros resultados, podemos pensar que en tejidos como glándula digestiva y branquia de los mejillones expuestos a la mezcla ternaria podrían estar produciéndose dichos fenómenos de desintoxicación, aunque este gasto energético se vea compensado de alguna manera al mantenerse el índice de condición global del individuo.

#### IV.4. Actividad fenoloxidasas

La actividad PO forma parte de la respuesta inmune de muchas especies de moluscos (Hellio *et al.*, 2007), estando considerada en el caso de los mejillones como una respuesta inicial o temprana ante la contaminación, ya que actúa como un sistema de reconocimiento de elementos extraños (Asokan *et al.*, 1997). Se trata pues de un buen biomarcador, capaz de detectar señales derivadas de la contaminación ambiental (Luster *et al.*, 1989; Bernier *et al.*, 1995; Luna-Acosta, 2010). Sin embargo, esta actividad no es incluida habitualmente en los programas de biomonitorización de ecosistemas marinos, aunque cada vez se utiliza más en la evaluación del estado de salud de bivalvos, proporcionando una buena información tanto en estudios de campo como en bioensayos (Baier-Anderson y Anderson, 2000; González-Fernández *et al.*, 2015b; Beltrí, 2015).

En nuestro estudio, la actividad PO aumentó de forma significativa en la hemolinfa de los grupos expuestos a Cu y Pb+Cu (Tabla 34A), siendo marginalmente significativo en el caso de los mejillones expuestos a Pb. Si bien esta actividad también aumentó en el caso de la exposición a Cd+Pb, este aumento no fue significativo. Es sabido que la actividad PO varía en función de la presencia de contaminantes (Luna-Acosta, 2010), aunque también es una actividad sometida al efecto de otros factores ambientales, como son el aporte de nutrientes, la estacionalidad y el estado reproductor (Ferrer *et al.*, 1989; Hauton *et al.*, 1997; Travers *et al.* 2008; Luna-Acosta *et al.*, 2010; Beltrí, 2015; González-Fernández *et al.*, 2015b).

Según la bibliografía consultada (Tabla 35), es difícil establecer un patrón de comportamiento en esta actividad en función de la especie, contaminante y tiempo de exposición. Analizando los resultados publicados por algunos autores, observamos que esta actividad se inhibe por compuestos tan variados como el tributil estaño, fueloil pesado, triclorfón, 5,5'-dibromohemibastadin-1 (DBHB), y por metales como Pb, Cu y Hg, todo ello sobre especies como *Mytilus edulis*, *Crassostrea gigas*, *Macrobrachium rosenbergii*, *Pinctada fucata* y *Perna viridis*, y con tiempos de exposición que variaban entre 24 horas y 9 días (Zentz *et al.*, 2002; Chang *et al.*, 2006; Thiagarajan *et al.*, 2006; Jing *et al.*, 2007; Bado-Nilles *et al.*, 2009, 2010; Bayer *et al.*, 2011). En la misma línea observamos que el incremento de la actividad PO también ha sido descrito por exposiciones a semimetales, metales, hidrocarburos y nanopartículas, sobre especies como *Lamellidens marginalis*, *Crassostrea gigas*, *Mytilus edulis*, *Scrobicularia plana* y *Perna viridis* en tiempos de exposición comprendidos entre 24 horas y más de 60 días (Coles *et al.*, 1994; Bouilly *et al.*, 2006; Thiagarajan *et al.*, 2006; Bado-Nilles *et al.*, 2008; Luna-Acosta *et al.*, 2010; Chakraborty *et al.*, 2013; Buffet *et al.*, 2014; Haberkorn *et al.*, 2014).

Respecto a la información publicada sobre los metales como contaminantes, nuestros resultados coinciden con lo indicado por Thiagarajan *et al.*, 2006, ya que estos autores describen un aumento de la actividad PO en *P. viridis* tras la exposición a Cu durante periodos de exposición superiores a 5 días. Sin embargo no coinciden con lo descrito por Haberkorn *et al.* (2014) para la combinación Cd+Cu, aunque el tiempo de exposición en este caso fue de 4 días y la especie, una ostra (*Crassostrea gigas*). El estudio experimental más parecido a nuestro bioensayo fue el realizado por Pipe *et al.* (1999) sobre *M. edulis*

expuesto durante 7 días a Cu, en el que no hubo diferencias con respecto al control, aunque en este caso las concentraciones de estudio estaban comprendidas entre 0.02 y 0.5 mg L<sup>-1</sup>, como vemos, muy por debajo de las utilizadas en nuestro estudio (100 mg L<sup>-1</sup>). Por otro lado, la actividad observada tras la exposición a Cd (sin diferencias significativas con respecto al grupo control) tampoco coincide con los resultados descritos por Bouilly *et al.*, 2006 (incremento de la actividad PO), aunque en este caso la exposición fue durante mucho más tiempo (66 días). Finalmente, en un estudio de campo realizado sobre *M. galloprovincialis* (Beltrí, 2015), observamos que los mejillones obtenidos de zonas contaminadas con altas concentraciones de metales como Pb y Cd, tenían una actividad PO superior a la detectada en mejillones procedentes de zonas limpias. Por consiguiente, y a tenor de los resultados obtenidos, podríamos pensar en una cierta asociación entre el Cu y el Pb y el incremento de esta actividad inmunitaria, aunque no tendríamos explicación para el caso del Cd y sus mezclas. En este sentido, cabe decir que la fenoloxidasa es una enzima dependiente de Cu, lo que podría explicar su incremento en los grupos expuestos a Cu y Pb+Cu. Sin embargo, la escasa diferencia de actividad con respecto a los grupos control en los mejillones expuestos a Cd+Cu y Cd+Pb+Cu, junto al similar efecto ocasionado tras la exposición a Cd y la tendencia al aumento en los grupos expuestos a Pb y Cd+Pb podría indicar un posible efecto inhibitor por parte del Cd, y hasta cierto punto, estimulante del Pb.

Según algunos autores, la estación del año (y por consiguiente el estado reproductor de los moluscos bivalvos) asociado a la presencia de contaminantes ambientales en el medio marino, afecta a la respuesta de esta actividad inmune. Así, Luna-Acosta *et al.* (2010) indican que la actividad PO en *Crassostrea gigas* procedente de zonas contaminadas es baja en verano y otoño, aumentando en invierno, lo cual no coincide con nuestros resultados, ya que nuestro estudio fue realizado en verano tras el desove y con temperatura propia de esta época. Sin embargo, en el citado estudio de Beltrí (2015), también se analizó la actividad PO según la época del año, observándose que los mejillones muestreados en los meses de marzo y mayo fueron los que mayor actividad PO presentaron, aunque eran valores (UA mg prot<sup>-1</sup>) muy por debajo de los encontrados en nuestro estudio, lo cual podría asociarse también a que las temperaturas estivales de las zona de muestreo (Mar Cantábrico y Océano Atlántico) son inferiores a las registradas en nuestro estudio (15-18° vs 24-25°C).



Otro de los aspectos que ha sido relacionado con esta actividad es el estado nutritivo de los mejillones. En un estudio reciente (González-Fernández *et al.*, 2015b) se indica que la actividad PO aumenta cuando la ración alimenticia es reducida, aportando esto un mayor peso en las alteraciones observadas tras la exposición a fluoranteno. En nuestro estudio la ración de microalgas fue la misma para todos los grupos de exposición (0.1% de materia orgánica de t-ISO por peso vivo de mejillón), si bien los mejillones de los grupos expuestos a la mezcla ternaria presentaron una disminución estadísticamente significativa del peso de los tejidos y de los índices de condición, mientras que los individuos expuestos a Pb, Cu y Pb+Cu no presentaron diferencias significativas con respecto al grupo control (Tablas 30 y 31), por lo que es posible que en nuestro caso, la ración no influyera sobre el efecto de los metales en la actividad PO.

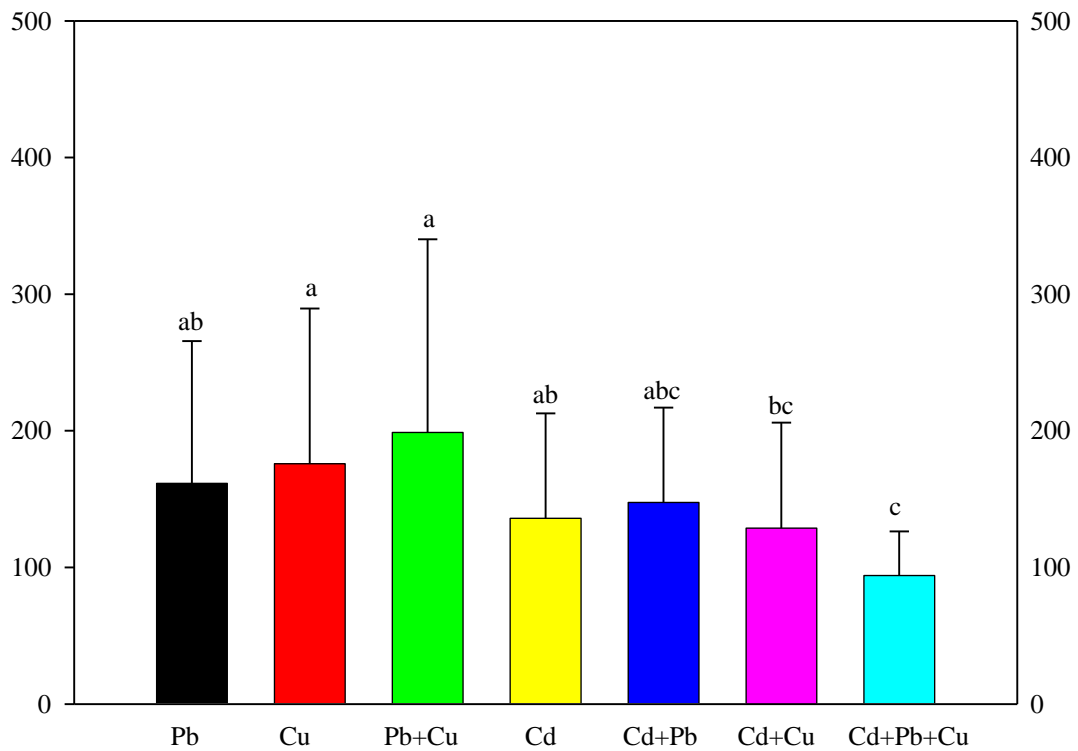
Con objeto de valorar la respuesta en la actividad PO entre grupos de exposición, procedimos a relativizar los resultados con respecto a los grupos control (Tabla 34B, Figura 20), comprobando que las diferencias más marcadas estaban entre el grupo expuesto a la mezcla ternaria y el resto de grupos exposición (a excepción del grupo expuesto a Cd+Cu). La actividad PO fue similar ( $p > 0.05$ ) entre los grupos expuestos a Cd, a sus mezclas binarias y a Pb, mientras que también encontramos similitud entre los grupos expuestos a los metales de forma individual y a las mezclas binarias a base de Pb, lo cual nos podría estar indicando por un lado un cierto efecto asociado a la presencia de Cd, por otro lado una secuencia de efecto en función de la complejidad de la exposición por número de metales (menor efecto en exposiciones complejas), y por otro, una respuesta asociada al Cu, lo cual se vería corroborado por los resultados obtenidos en el estudio de los efectos interactivos (Tabla 36).

		Tratamiento	n	Mediana	Mín.	Máx.	p
<b>A</b>	<b>FE1</b>	<b>CONTROL</b>	15	68.330	51.770	120.651	-
		<b>Pb</b>	14	90.488	50.748	310.761	0.097
		<b>Cu</b>	14	100.254	38.967	348.000	0.021
		<b>Pb+Cu</b>	13	103.323	59.321	391.188	0.013
	<b>FE2</b>	<b>CONTROL</b>	14	82.609	44.228	306.104	-
		<b>Cd</b>	14	85.808	54.531	285.929	0.927
		<b>Cd+Pb</b>	14	109.874	50.975	266.805	0.383
		<b>Cd+Cu</b>	14	80.131	44.130	250.685	0.679
		<b>Cd+Pb+Cu</b>	11	82.856	40.313	132.364	0.412
<b>B</b>	<b>Pb</b>	14	132.427	74.269	454.794		
	<b>Cu</b>	14	146.720	57.028	509.293		
	<b>Pb+Cu</b>	12	151.212	86.816	572.499		
	<b>Cd</b>	14	103.872	66.011	346.124		
	<b>Cd+Pb</b>	14	133.005	61.706	322.973		
	<b>Cd+Cu</b>	14	97.000	53.420	303.459		

**Tabla 34. A.** Actividad fenoloxidasa (UA mg proteína<sup>-1</sup>) en hemolinfa de los mejillones para cada tratamiento. p=comparación de cada tratamiento con su grupo control (U de Mann-Whitney). **B.** Datos relativizados de la actividad fenoloxidasa para cada tratamiento.

Especie	Contaminante	Tiempo	Actividad PO	Referencia
<i>Lamellidens marginalis</i>	As	4	Aumenta con la concentración, disminuye a partir de las 96 horas	Chakraborty <i>et al.</i> , 2013
<i>Styela plicata</i>	TBT y Cu		Aumento	Tujula <i>et al.</i> , 2001
<i>Mytilus edulis</i>	Oxido de tributilestaño (TBTO)		Inhibición	Zent <i>et al.</i> , 2002
<i>Crassostrea gigas</i>	Benzo [b] fluoranteno	1	Aumento	Bado-Nilles <i>et al.</i> , 2008
<i>Crassostrea gigas</i>	Aceites lubricantes de ciclo ligero (LCO)	7	Inhibición	Bado-Nilles <i>et al.</i> , 2010
<i>Mytilus edulis</i>	Fluoranteno 200 y 400 µg L <sup>-1</sup>	7	Aumento	Coles <i>et al.</i> , 1994
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Triclorfon (0,2 y 0,4 mg L <sup>-1</sup> )	2	Inhibición	Chang <i>et al.</i> , 2006
<i>Crassostrea gigas</i>	Zonas de referencia	(*)	Sin cambios en zona de referencia	Luna-Acosta <i>et al.</i> , 2010
	Zonas contaminadas		Baja en verano y otoño, Aumenta en invierno	
<i>Crassostrea gigas</i>	Hg		Inhibición en hemocitos in vitro	Gagnaire <i>et al.</i> , 2004
<i>Crassostrea gigas</i>	Cd	66	Aumenta	Bouilly <i>et al.</i> , 2006
<i>Scrobicularia plana</i>	Ag	21	Aumenta	Buffet <i>et al.</i> , 2014
<i>Mytilus edulis</i>	5,5'-dibromohemibastadin-1 (DBHB)	2 (**)	Inhibición	Bayer <i>et al.</i> , 2011
<i>Pinctada fucata</i>	Pb y Cu	1, 2 y 3	Inhibición(Pb)	Jing <i>et al.</i> , 2007
			Sin diferencias (Cu)	
<i>Perna. viridis</i>	Cu y Hg (10, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 y 160 l µL <sup>-1</sup> )	5	Inhibición	Thiagarajan <i>et al.</i> , 2006
		5-15 a 25	Aumento	
<i>Crassostrea gigas</i>	Cd+Cu	4	Aumento	Haberkorn <i>et al.</i> , 2014
<i>Mytilus edulis</i>	Cu (0.02, 0.05, 0.2 y 0.5 ppm)	7	Sin diferencias	Pipe <i>et al.</i> , 1999
<i>Pinctada maxima</i>	(***)	4	Alteración	Kuchel <i>et al.</i> , 2012
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Zonas contaminadas	(*)	Aumento	Beltrí, 2015
	Periodos de gametogénesis y desove (marzo-mayo)			
<i>Mytilus. edulis</i>	5,5'-dibromohemibastadin-1 (DBHB)	2 (**)	Inhibición	Niermann <i>et al.</i> , 2015
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Fluoranteno	21	Sin diferencias	González-Fernández <i>et al.</i> , 2015b

**Tabla 35.** Actividad fenoloxidasa en bioensayos y en estudios de monitorización sobre diferentes especies marinas.\*=estudios de monitorización; resto=bioensayos; (\*\*)=horas; resto de tiempo=días; (\*\*\*)=situaciones de stress.



**Figura 20.** Actividad fenoloxidasa relativizada con respecto a los grupos control. Comparación entre grupos de exposición. Las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra (Kruskal Wallis).

	Efecto observado	Efecto calculado (esperado)	Diferencia	<i>p</i>	Efecto interactivo
<b>Pb+Cu</b>	159.50	90.44	69.06	0.01	<b>ATG</b>
<b>Cd+Pb</b>	149.96	77.67	72.29	0.10	<b>ADT</b>
<b>Cd+Cu</b>	100.25	92.77	7.48	0.59	<b>ADT</b>
<b>Cd+Pb+Cu</b>	86.40	100.00	-13.60	0.33	<b>ADT</b>

**Tabla 36.** Evaluación del efecto interactivo (ADT=aditivo, SNG=sinérgico; ATG=antagónico) sobre la actividad fenoloxidasas. *p*=ANOVA. El efecto ANT (Pb+Cu) es considerado sobre la base de inhibición de la actividad PO.

#### IV.5. Acumulación y distribución tisular de Pb, Cd y Cu

Debido a su gran actividad filtradora, los mejillones del género *Mytilus* poseen una elevada capacidad de bioacumular metales pesados en sus tejidos. El proceso de bioacumulación determina la capacidad de concentrar estos elementos a partir del agua, del sedimento y/o del alimento, llegándose a un equilibrio entre los mejillones y el medio que los rodea (Boudjema *et al.*, 2014), y siendo la acumulación posible cuando el flujo de entrada en el organismo supera el de metabolismo y excreción (Casas y Bacher, 2006). Así, la bioacumulación proporciona conocimientos acerca de cómo se enriquecen los organismos vivos de elementos procedentes de su entorno (Kaoud y El-Dahshan, 2010).

##### IV.5.1. Grupos control

Los tejidos blandos de los grupos control, tanto en su globalidad como en cada uno de los tejidos considerados (glándula digestiva, branquia y resto), presentaron una mayor concentración de Cu que de Cd y Pb, siendo similares las concentraciones de estos dos últimos elementos (ligeramente superiores para el caso del Cd) (Tablas 37 y 38, Figura 21). Esto coincide con lo descrito en diferentes estudios realizados en zonas consideradas como limpias de la demarcación Noratlántica y de la costa mediterránea (Tabla 39).

Por su parte, la glándula digestiva fue el órgano con mayor concentración de cada uno de estos elementos (Tablas 37 y 38, Figura 21), lo cual coincide con los resultados encontrados en otros estudios (Richir, 2012; Richir y Gobert, 2014). Según los criterios establecidos por la US National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA, Mussel Watch Program) (Kimbrough *et al.*, 2008), una concentración inferior a 3 mg kg<sup>-1</sup> de Pb y Cd, y de 16 mg kg<sup>-1</sup> de Cu en tejidos blandos (sobre peso seco) se considera “nivel bajo de contaminación”, por lo que las concentraciones encontradas en los grupos control (Tabla 39), nos permiten considerar una situación de partida óptima para el desarrollo del proceso experimental.

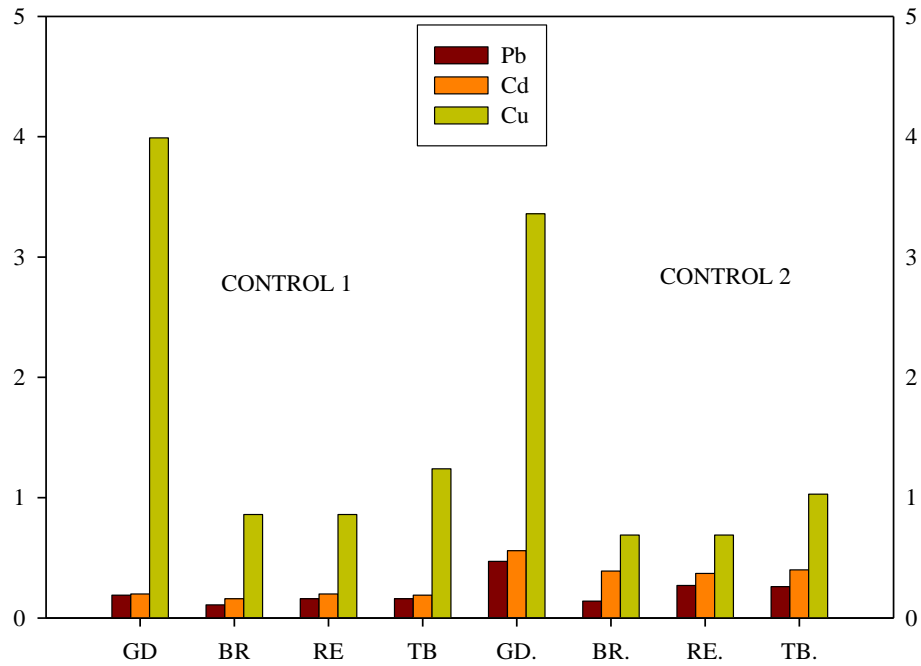
		CONTROL					Pb						Cu						Pb + Cu					
		n	x	SD	Min.	Máx.	n	x	SD	Mín.	Máx.	p	n	x	SD	Mín.	Máx.	p	n	x	SD	Mín.	Máx.	p
GD	Pb	9	0.19	0.10	0.04	0.33	9	4.16	1.03	3.15	6.24	0.00	9	0.23	0.08	0.03	0.32	0.39	9	3.56	0.84	2.33	4.62	0.00
	Cd	9	0.20	0.11	0.11	0.47	9	0.24	0.08	0.15	0.39	0.20*	8	0.21	0.10	0.06	0.39	0.56*	9	0.19	0.09	0.09	0.42	0.93*
	Cu	9	3.99	0.91	3.15	5.91	9	4.08	0.57	3.28	5.03	0.80	9	4.12	0.96	3.03	6.17	0.77	9	5.18	2.08	3.95	10.66	0.05*
BR	Pb	9	0.11	0.05	0.05	0.22	9	1.08	0.21	0.83	1.43	0.00	9	0.12	0.04	0.08	0.17	0.58	9	1.54	0.61	0.94	2.96	0.00
	Cd	9	0.16	0.14	0.01	0.42	9	0.31	0.31	0.01	0.78	0.45*	9	0.17	0.20	0.02	0.55	0.83*	9	0.07	0.04	0.02	0.14	0.11
	Cu	9	0.86	0.10	0.69	1.03	9	0.87	0.12	0.68	1.09	0.90	9	0.88	0.10	0.76	1.12	0.80*	9	1.17	0.47	0.70	2.23	0.09
RE	Pb	9	0.16	0.06	0.06	0.23	9	1.00	0.25	0.74	1.51	0.00	9	0.19	0.05	0.09	0.24	0.27	9	0.91	0.13	0.69	1.07	0.00
	Cd	9	0.20	0.04	0.15	0.28	9	0.26	0.08	0.13	0.38	0.05	9	0.22	0.07	0.11	0.33	0.55	9	0.20	0.08	0.13	0.36	0.97
	Cu	9	0.86	0.18	0.57	1.11	9	0.92	0.10	0.79	1.10	0.34	9	1.02	0.17	0.72	1.24	0.06	9	0.88	0.20	0.65	1.31	0.81
TB	Pb	9	0.16	0.05	0.06	0.20	9	1.41	0.27	1.07	1.82	0.00*	9	0.18	0.04	0.12	0.23	0.23*	9	1.35	0.21	0.94	1.64	0.00*
	Cd	9	0.19	0.06	0.14	0.34	9	0.27	0.11	0.12	0.47	0.10*	9	0.20	0.09	0.09	0.34	0.90*	9	0.17	0.06	0.11	0.27	0.57*
	Cu	9	1.24	0.27	0.89	1.71	9	1.30	0.13	1.13	1.50	0.55	9	1.34	0.18	1.10	1.58	0.37	9	1.44	0.29	1.21	2.06	0.15*

Tabla 37. Concentración de Pb, Cd y Cu (mg kg<sup>-1</sup>) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos, p=comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).

Tejido	Metal	CONTROL					Cd					
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	x	SD	Mín.	Máx.	p
GD	Pb	9	0.47	0.21	0.29	0.87	9	0.38	0.25	0.10	0.87	0.25*
	Cd	9	0.56	0.20	0.32	0.84	9	14.09	3.25	9.90	19.59	0.00
	Cu	9	3.36	0.41	2.61	4.04	9	3.44	0.52	2.61	4.46	0.74
BR	Pb	9	0.14	0.08	0.07	0.33	9	0.19	0.07	0.09	0.30	0.12*
	Cd	9	0.39	0.26	0.14	0.96	9	16.02	12.70	5.27	39.46	0.00*
	Cu	9	0.69	0.06	0.60	0.82	9	0.82	0.14	0.67	1.02	0.03
RE	Pb	9	0.27	0.16	0.06	0.54	9	0.24	0.13	0.07	0.52	0.65
	Cd	9	0.37	0.11	0.19	0.55	9	7.14	3.31	3.12	13.01	0.00
	Cu	9	0.69	0.09	0.58	0.81	9	0.72	0.15	0.53	0.95	0.65
TB	Pb	9	0.26	0.12	0.10	0.47	9	0.25	0.09	0.08	0.43	0.78
	Cd	9	0.40	0.13	0.20	0.64	9	10.27	5.49	4.68	19.39	0.00*
	Cu	9	1.03	0.11	0.80	1.17	9	1.09	0.18	0.77	1.33	0.45

Tejido	Metal	Cd + Pb						Cd + Cu					Cd + Pb + Cu						
		n	media	SD	Mín.	Máx.	p	n	media	SD	Mín.	Máx.	p	n	media	SD	Mín.	Máx.	p
GD	Pb	9	5.17	2.26	2.45	10.64	0.00*	9	0.38	0.17	0.21	0.71	0.17*	9	21.43	7.27	12.04	31.00	0.00*
	Cd	9	15.68	3.11	10.27	19.85	0.00*	9	10.12	3.23	6.01	16.09	0.00	9	52.06	13.66	32.39	82.47	0.00
	Cu	9	2.87	0.47	2.08	3.30	0.03	9	4.54	1.19	2.90	6.94	0.01	9	7.81	2.34	5.04	12.16	0.00
BR	Pb	9	3.42	1.82	1.90	7.95	0.00*	9	0.24	0.16	0.05	0.61	0.17*	9	21.61	7.02	12.75	33.42	0.00*
	Cd	9	11.75	4.97	4.45	20.79	0.00*	9	8.35	3.83	4.09	16.54	0.00*	9	16.63	3.89	10.17	21.20	0.00*
	Cu	9	0.75	0.12	0.61	0.93	0.19	9	0.92	0.29	0.64	1.63	0.01*	9	5.35	1.65	2.30	7.69	0.00
RE	Pb	9	2.06	1.02	1.25	4.58	0.00*	9	0.41	0.48	0.08	1.56	0.83*	9	9.62	3.42	5.17	15.84	0.00
	Cd	9	6.05	1.18	4.28	8.08	0.00	9	5.28	1.23	3.32	7.32	0.00	9	13.49	2.13	10.24	17.87	0.00
	Cu	9	0.60	0.12	0.41	0.84	0.09	9	0.80	0.19	0.61	1.16	0.16	9	2.32	0.85	1.44	4.05	0.00
TB	Pb	9	2.82	1.41	2.04	6.49	0.00*	9	0.37	0.31	0.13	1.14	0.57*	9	13.23	4.03	8.17	20.69	0.00
	Cd	9	8.74	1.75	5.67	11.02	0.00	9	6.69	1.53	3.96	8.86	0.00	9	18.06	2.18	13.90	21.60	0.00
	Cu	9	0.92	0.14	0.77	1.19	0.09	9	1.29	0.27	0.99	1.76	0.02	9	3.55	1.20	1.83	6.08	0.00

Tabla 38. Concentración de Pb, Cd y Cu (mg kg<sup>-1</sup>) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos, p=comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).



**Figura 21.** Concentración de Pb, Cd y Cu ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón (grupos control). GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos.

Zona de muestreo	Cd	Pb	Cu	Referencia
Galicia y Costa Cantábrica	0.4-2.3	1.1-13.3	9.1-20.6	Bartolomé <i>et al.</i> , 2010
Costa mediterránea	0.46-2.89	0.5-8.3	NA	Benedicto <i>et al.</i> , 2011
Galicia y Cantabria	0.38-4.54	0.57-26.6	3.89-10.1	Besada <i>et al.</i> , 2011
Galicia y Cantabria (Cabo Home)	0.37-1.86 (0.72)	0.50-22.91 (0.98)	3.92-10.43 (3.85)	Albentosa <i>et al.</i> , 2012
Costa Mediterránea	0.3-1.7	1.8-57.8	6.0-11.3	Fernández <i>et al.</i> , 2012b
Galicia y Cantabria	0.36-2.01	0.66-28.1	3.94-9.92	Besada <i>et al.</i> , 2014
Córcega (Este)	0.34 *	0.28 *	4.03 *	Richir y Gobert, 2014
Galicia y País Vasco	NE	1.77	4.75	Vidal-Liñán <i>et al.</i> , 2014
Galicia y Cantabria (Cabo Home)	0.39-2.9 (1.26)	0.66-33.40 (1.58)	4.56-9.17 (4.56)	González-Fernández <i>et al.</i> , 2015
Galicia (Cabo Home)	0.14-0.64	0.06-0.47	0.80-1.71	Nuestro estudio Peso húmedo
	1.01-4.61	0.43-3.39	5.76-12.32	Peso húmedo

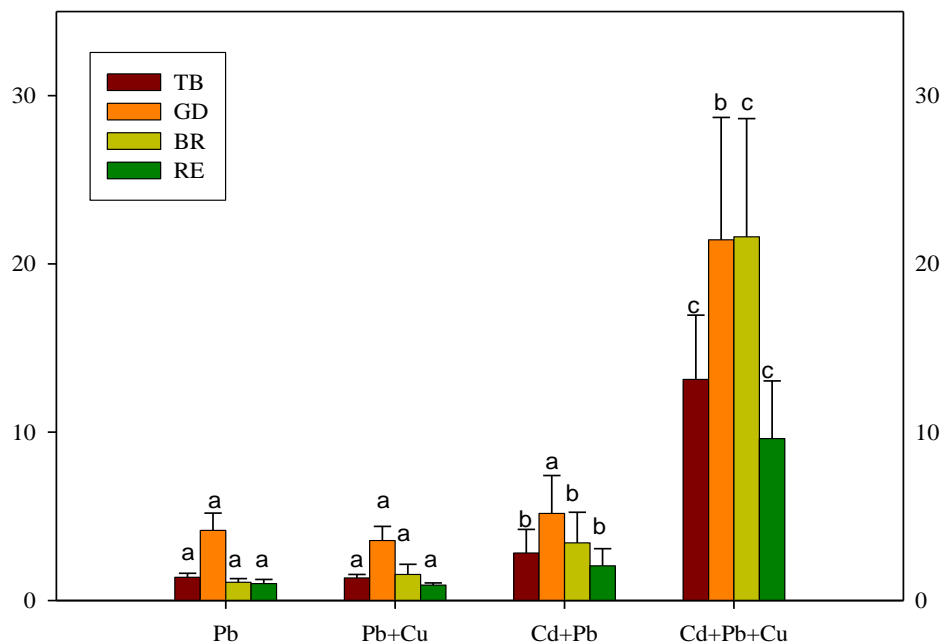
**Tabla 39.** Concentración de Pb, Cd y Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ , peso seco) descritos en estudios de monitorización en *Mytilus galloprovincialis*. (\*)=mediana; NA=no analizado; resto de datos=medias y rangos.



## IV.5.2. Pb en grupos de exposición

## IV.5.2.1. Total de tejidos blandos

La concentración de Pb en la totalidad de tejidos blandos fue similar en los grupos expuestos a Pb y a Pb+Cu, incrementándose en el caso de la exposición a la mezcla Pb+Cd y siendo máximas en el caso de la exposición a la mezcla ternaria (Tablas 37 y 38, Figura 22). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas entre la mezcla ternaria y el resto de exposiciones (Figura 22), así como entre la mezcla binaria Cd+Pb y las exposiciones a Pb y Pb+Cu.



**Figura 22.** Concentración de Pb ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para los grupos de exposición a base de Pb. Para cada tejido, las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos (Test de Dunn).

Si analizamos detenidamente estos datos, comprobamos que en el grupo expuesto exclusivamente a Pb la concentración de este metal aumentaba con respecto al control, coincidiendo con lo observado en similares estudios de exposición (Tabla 40). Sin embargo, tras la exposición simultánea con Cd, la concentración de Pb en la totalidad de tejidos blandos se incrementó al doble, lo cual deberíamos atribuir a un efecto derivado

de la presencia de Cd. Esta mayor acumulación de Pb tras la exposición a la mezcla binaria Cd+Pb también fue observada por Yaqin *et al.* (2014) sobre *P. viridis*, aunque estos autores describen una concentración 2.6 veces superior a la detectada por nosotros. Esta circunstancia probablemente se deba al mayor tiempo de exposición (14 días), ya que la concentración de Pb utilizada fue la misma ( $1,000 \mu\text{g L}^{-1}$ ), aunque no se debe descartar el hecho de que en dicho estudio, la dosis de exposición a Cd fue igualmente de  $1,000 \mu\text{g L}^{-1}$  (10 veces por encima de la utilizada por nosotros). En otras especies como la almeja *A. ventricosus*, la concentración de Pb en la mezcla Cd+Pb duplicaba a la exposición simple con Pb (Sobrino, 2001).

Especie	Dosis ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Tiempo (días)	Pb	Referencia
<i>P. perna</i>	0	3	<20	Boudjema <i>et al.</i> , 2014
	50		<20	
	200		80.12	
	1,000		325.26	
	2,000		481.80	
	4,000		982.14	
	8,000		922.72	
<i>P. viridis</i>	2,950	4	240 *	Yap <i>et al.</i> , 2004a
<i>P. viridis</i>	0	1	2.30	Yap <i>et al.</i> , 2004b
	1.50		52.91	
	2.50		143.7	
	3.50		16.60	
	5.00		9.39	

**Tabla 40.** Concentración de Pb ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso seco) descritos en tejidos blandos de diferentes especies de moluscos de la familia Mytilidae (bioensayos). GD=glándula digestiva, BR=branquia; (\*)=peso húmedo.

En el caso del grupo expuesto a Cd no encontramos diferencias significativas con respecto al grupo control en las concentraciones de Pb (y Cu), lo cual podría parecer normal. Sin embargo, Liu *et al.* (2012) describen en *P. viridis* diferencias significativas en estas concentraciones, aunque la dosis y el tiempo de exposición a Cd fueron superiores.

Por otro lado, no observamos diferencias significativas entre la concentración de Pb en la exposición a la mezcla Pb+Cu y la exposición a Pb de forma exclusiva. Por tanto cabría

esperar que tras la exposición a la mezcla ternaria se mantuvieran las concentraciones detectadas en la mezcla Cd+Pb, no siendo así, ya que en este caso, la acumulación de Pb fue casi 5 veces mayor que en esta última.

No hemos encontrado estudios sobre exposiciones a mezclas de metales en mejillones, que avalen el aumento de concentración de Pb encontrado tras la exposición a la mezcla ternaria. Sin embargo, un estudio realizado sobre peces (*Salmo salar*) expuestos a una mezcla compleja (Cu, Zn, Ni, Cr, Pb, Cd), demostró que la acumulación de algunos metales en los grupos expuestos a la mezcla superaba significativamente la de los peces expuestos a los metales de forma individual, siendo uno de estos, el Pb (Svecevičius *et al.*, 2014).

#### IV.5.2.2. Glándula digestiva, branquia y resto de tejidos

Al igual que en la totalidad de los tejidos blandos, la concentración de Pb en glándula digestiva, branquia y resto fue similar en los grupos expuestos a Pb y a Pb+Cu, mayor en la exposición a la mezcla Pb+Cd y máxima en el caso de la exposición a la mezcla ternaria (Tablas 37 y 38, y Figura 22). En el estudio de comparación de medias, observamos la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre la mezcla ternaria y el resto de grupos de exposición; y en el caso de la branquia y del resto de tejidos, también entre la mezcla Cd+Pb y las exposiciones a Pb y Pb+Cu (Figura 22). En el caso de estos tejidos, y al igual que se ha comentado para la totalidad de tejidos blandos, podríamos afirmar que la unión a Cd produce una mayor acumulación de Pb, mucho más evidente en la exposición a la mezcla ternaria, donde la concentración era 5, 10 y 20 veces superior (glándula digestiva, branquia y resto de tejidos, respectivamente).

Al comparar la acumulación entre tejidos, comprobamos que las concentraciones de Pb en glándula digestiva fueron mayores que en branquia en todos los casos excepto en la mezcla ternaria: 3.9 veces en el caso de los individuos expuestos exclusivamente a Pb, 2.3 en la mezcla Pb+Cu y 1.5 en la mezcla Cd+Pb (Tablas 37 y 38). Al hacer el estudio de comparación de medias, comprobamos que en estos casos, la diferente concentración entre ambos órganos era estadísticamente significativa (Tabla 41).

Tratamiento	Metal	Orden de concentración	<i>p</i>
<b>Control-1</b>	Pb	GD>RE>BR	0.041
	Cd	GD=RE>BR	0.310*
	Cu	GD>RE=BR	0.000
<b>Pb</b>	Pb	GD>BR>RE	0.000
	Cd	BR>RE>GD	0.627*
	Cu	GD>RE>BR	0.000
<b>Cu</b>	Pb	GD>RE>BR	0.003
	Cd	RE>GD>BR	0.290*
	Cu	GD>RE>BR	0.000*
<b>Pb+Cu</b>	Pb	GD>BR>RE	0.000
	Cd	RE>GD>BR	0.001*
	Cu	GD>BR>RE	0.000*
<b>Control-2</b>	Pb	GD>RE>BR	0.000*
	Cd	GD>BR>RE	0.058*
	Cu	GD>BR=RE	0.000
<b>Cd</b>	Pb	GD>RE>BR	0.047
	Cd	BR>GD>RE	0.508*
	Cu	GD>BR>RE	0.000
<b>Cd+Pb</b>	Pb	GD>BR>RE	0.015*
	Cd	GD>BR>RE	0.062
	Cu	GD>BR>RE	0.000*
<b>Cd+Cu</b>	Pb	RE>GD>BR	0.097
	Cd	GD>BR>RE	0.307
	Cu	GD>BR>RE	0.000*
<b>Cd+Pb+Cu</b>	Pb	BR=GD>RE	0.958
	Cd	GD>BR>RE	0.000
	Cu	GD>BR>RE	0.020

**Tabla 41.** Orden de mayor a menor concentración de Pb, Cd y Cu en los diferentes tejidos analizados (GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos) para los distintos tratamientos. *p*=comparación de concentración entre GD y BR (t-Student o \* U Mann-Whitney).

No hemos encontrado estudios donde se comparen estas concentraciones tisulares en *M. galloprovincialis*, no coincidiendo nuestros resultados con lo observado en otras especies de invertebrados marinos. Así, Jing *et al.* (2007) muestran una mayor concentración de Pb en la branquia de ostras de la especie *Pinctata fucata* cuando fueron expuestas a Pb (0.05 µM), mientras que Yap *et al.* (2004a) encuentran el mismo resultado con *P. viridis* procedentes de zonas contaminadas, siendo a la inversa cuando la procedencia era de zonas limpias.

Los mejillones asimilan los metales a través de diferentes vías: por ingestión de la materia particulada que se encuentra en suspensión en el agua, por la ingestión de alimento y a través de las branquias en forma disuelta (Langston y Spence, 1995), la cual ha sido sugerida como vía principal de entrada en este tipo de organismos (Marasinghe *et al.*,

2014b). En nuestro estudio, el Pb fue disuelto y administrado en el agua a una concentración muy por debajo de su límite de solubilidad ( $52 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$  a  $20^\circ\text{C}$ ) por lo que *a priori* es posible considerar la asimilación a través de branquias y una posterior distribución del Pb a la glándula digestiva, tal y como han propuesto diferentes autores (Marigómez *et al.*, 2002; Mosher, 2008; Sánchez-Marín *et al.*, 2011). En este sentido, aunque las branquias sean la principal puerta de entrada, el Pb absorbido rápidamente es redistribuido al resto de órganos, observándose concentraciones parecidas de Pb en branquia que en el resto de tejidos (Sánchez-Marín, 2011).

Una vez en el organismo, los metales suelen acumularse en mayor concentración en la glándula digestiva (Mosher, 2008; Marigómez *et al.*, 2002; Richir, 2012), debido a la diferente distribución de gránulos entre tejidos y a las diferentes actividades metabólicas y de desintoxicación que allí se producen (Jones y Walker, 1979; Das y Jana, 1999; Canli, 2000; Li *et al.*, 2015), además de que la distribución del Pb ha sido descrita como órgano-específica (Labrot *et al.*, 1999). Según lo dicho, cabría esperar que se mantuviera la proporción de 4:1 entre glándula y branquia en todas las exposiciones, pero como ya se ha indicado, la proporción fue disminuyendo en favor de la branquia, hasta llegar a equilibrarse en el caso de la mezcla ternaria (1:1). Por otro lado, la relación entre la concentración de Pb en glándula y resto de tejidos también fue disminuyendo, aunque no se llegó a igualar como en la branquia en el caso de la mezcla ternaria; y la relación entre la concentración de Pb en branquia y resto fue aumentando.

Todo ello se traduce en una disminución de la concentración de Pb en la glándula a favor de la branquia y del resto de tejidos blandos, más evidente cuanto más tóxica es la mezcla (Cd+Pb) o más componentes tiene (Cd+Pb+Cu). La presencia simultánea de varios elementos tóxicos con diferente grado de toxicidad podría estar ocasionando una saturación o fracaso de los mecanismos de transporte de la branquia a la glándula, de la capacidad de retención en la glándula o de la acción desintoxicante de la misma. No hemos encontrado ninguna referencia a este respecto en la bibliografía consultada, por lo que consideramos oportuno considerar esta hipótesis en futuras investigaciones.

Otro aspecto que consideramos interesante contrastar fue la distribución del Pb entre los compartimentos estudiados, ya que como ya se ha explicado, se produjeron cambios en los pesos de los tejidos, lo cual unido a la diferente concentración detectada, podría

determinar una diferente distribución en función de las distintas combinaciones de metales en las exposiciones. Esta compartimentación es considerada una herramienta útil en la interpretación de las consecuencias ecotoxicológicas que la distribución de estos elementos ocasiona en organismos marinos (Wallace y Luoma, 2003; Wallace *et al.*, 2003), además de que juega un papel decisivo en la monitorización de estos compuestos, concretamente en la elección de los órganos a analizar, aunque no se use de forma frecuente (Richir, 2014). Así, si nos fijamos en la cantidad de Pb y su porcentaje sobre el total del mismo en el organismo (Tablas 42 y 43, Figura 23), comprobamos que en la glándula digestiva había un mayor porcentaje de Pb que en la branquia en el caso de la exposición individual a Pb y en la mezcla Pb+Cu, mientras que dicho porcentaje disminuía a favor de la branquia en la mezcla Cd+Pb y en la ternaria; y apenas había cambios en la cantidad total de Pb en el resto de tejidos. Estos resultados no coinciden con lo observado por Yap *et al.* (2004a) con una concentración de Pb casi tres veces superior a la utilizada en nuestro estudio, donde la branquia retuvo el 51% del Pb total frente al 28.3% de la glándula, aunque este estudio se realizó tras 4 días de exposición. El carácter conservador de la compartimentación de elementos traza ya ha sido descrito por diferentes autores (Gabbott, 1975; Lobel y Wright, 1982), los cuales indican la existencia de una regulación interna y una redistribución cuantitativa entre tejidos asociada a la pérdida de peso por el desove. En nuestro estudio se produjo una pérdida de peso de todos los tejidos en el grupo expuesto a la mezcla ternaria, estadísticamente significativo con respecto a su control (marginamente en el peso del resto), y una disminución marginamente significativa del peso total de los tejidos blandos en el caso del grupo expuesto a Cd+Pb, lo cual podría justificar el cambio en la distribución tisular observado en estos grupos.

		CONTROL				
Tejido	Metal	n	x	SD	m	M
GD	Pb	9	13.58	4.99	6.34	20.67
	Cd	9	11.67	4.03	6.99	17.30
	Cu	9	37.27	5.07	30.76	46.16
BR	Pb	9	13.83	6.04	5.41	22.95
	Cd	9	13.84	9.93	1.27	25.82
	Cu	9	13.55	1.85	10.86	15.36
RE	Pb	9	72.58	4.25	62.79	76.10
	Cd	9	74.48	9.51	58.71	86.61
	Cu	9	49.19	4.53	42.98	57.11

Tejido	Metal	Pb						Cu						Pb + Cu					
		n	x	SD	m	M	p	n	x	SD	m	M	p	n	x	SD	m	M	p
GD	Pb	9	34.76	5.58	27.40	44.83	0.00	9	14.13	7.08	2.08	23.74	0.85	9	30.74	7.67	19.13	43.54	0.00
	Cd	9	10.93	3.60	5.58	16.17	0.76*	9	10.52	7.65	0.00	22.89	0.63*	9	13.04	4.80	7.70	23.17	0.35*
	Cu	9	36.84	4.17	28.51	40.99	0.85	9	33.33	5.04	26.86	41.31	0.12	9	41.11	10.79	31.19	62.45	0.35
BR	Pb	9	15.48	2.75	11.25	19.20	0.47	9	13.75	5.87	6.33	22.78	0.98	9	20.60	7.75	13.97	36.05	0.07*
	Cd	9	18.62	15.04	1.32	41.87	0.44	9	12.74	10.08	2.18	32.02	0.82	9	7.39	4.06	2.81	14.40	0.10
	Cu	9	13.28	1.50	11.40	16.14	0.75	9	13.44	2.95	9.43	19.00	0.93	9	15.02	6.94	6.40	30.79	0.55
RE	Pb	9	49.75	5.96	38.98	57.58	0.00*	9	72.12	11.87	54.07	86.94	0.69*	9	48.66	5.00	42.49	57.53	0.00
	Cd	9	70.45	13.61	50.44	89.81	0.48	9	76.73	11.00	62.05	94.56	0.65	9	79.57	5.57	72.53	87.13	0.19
	Cu	9	49.88	4.64	42.87	57.03	0.75	9	53.23	7.09	42.98	62.36	0.17	9	43.87	8.02	31.15	55.72	0.10

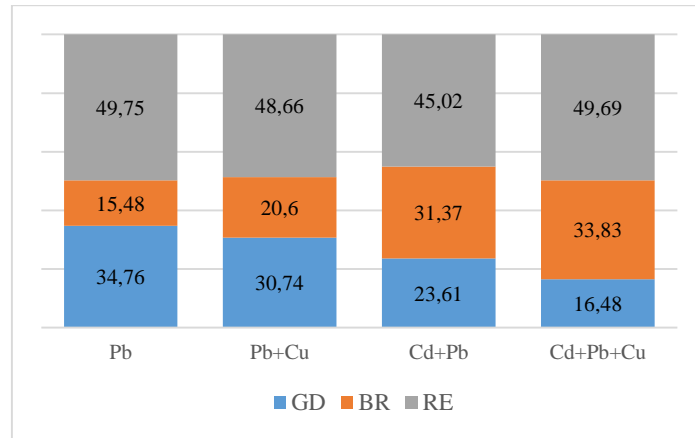
Tabla 42. Porcentaje de Pb, Cd y Cu en cada tejido tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, p=comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).

		CONTROL				
Tejido	Metal	n	x	SD	m	M
GD	Pb	9	24.48	8.64	13.79	43.61
	Cd	9	18.01	4.86	9.57	23.29
	Cu	9	41.14	5.84	29.87	48.06
BR	Pb	9	14.70	5.36	4.38	20.67
	Cd	9	23.72	8.73	16.60	41.74
	Cu	9	17.32	1.99	13.78	20.14
RE	Pb	9	60.82	11.83	36.37	78.28
	Cd	9	58.27	7.90	42.32	71.44
	Cu	9	41.55	5.03	36.07	49.98

Tejido	Metal	Cd						Cd + Pb						Cd + Cu						Cd + Pb + Cu					
		n	media	SD	Mín.	Máx.	p	n	media	SD	Mín.	Máx.	p	n	media	SD	Mín.	Máx.	p	n	media	SD	Mín.	Máx.	p
GD	Pb	9	19.07	9.37	8.27	36.20	0.24	9	23.61	5.23	14.81	32.17	0.75	9	17.06	9	2.85	29.66	0.08	9	16.48	5.30	8.43	27.59	0.03
	Cd	9	20.14	7.66	6.84	27.85	0.49	9	23.64	7.97	14.46	37.45	0.10	9	19.06	8.07	7.07	32.07	0.79	9	29.00	8.07	16.31	37.45	0.00
	Cu	9	39.34	6.30	31.41	48.70	0.57	9	39.36	5.75	29.97	46.29	0.47	9	42.65	10.6	18.63	54.44	0.77	9	22.23	3.91	16.24	26.76	0.00
BR	Pb	9	21.23	8.81	8.17	35.02	0.08	9	31.37	5.75	22.4	41.47	0.00	9	26.78	15.5	0.72	47.9	0.06	9	33.83	4.89	26.43	41.70	0.00
	Cd	9	35.07	10.29	21.32	50.40	0.02 *	9	33.45	8.18	21.26	48.46	0.05*	9	32.92	8.74	19.94	49.57	0.04*	9	19.05	3.98	13.45	25.53	0.31*
	Cu	9	19.09	4.15	13.22	24.49	0.26	9	21.07	1.51	19.01	23.08	0.00	9	19.45	4.12	14.66	28.46	0.21	9	31.92	7.84	22.11	45.79	0.00
RE	Pb	9	59.69	16.32	34.02	80.03	0.87	9	45.02	8.81	26.35	54.83	0.01	9	56.16	22.5	31.9	96.43	0.62	9	49.69	5.04	43.50	60.51	0.02
	Cd	9	44.79	4.48	36.01	52.53	0.00	9	42.91	6.46	30.99	49.72	0.00	9	48.01	7.14	35.45	60.01	0.01	9	51.96	8.36	43.98	68.85	0.12
	Cu	9	41.57	6.10	35.01	54.00	0.97	9	39.57	5.14	32.69	48.28	0.53	9	37.9	9.62	29.6	61.9	0.05*	9	45.84	9.57	33.19	59.99	0.28

Tabla 43. Porcentaje de Pb, Cd y Cu en cada tejido tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, p=comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).



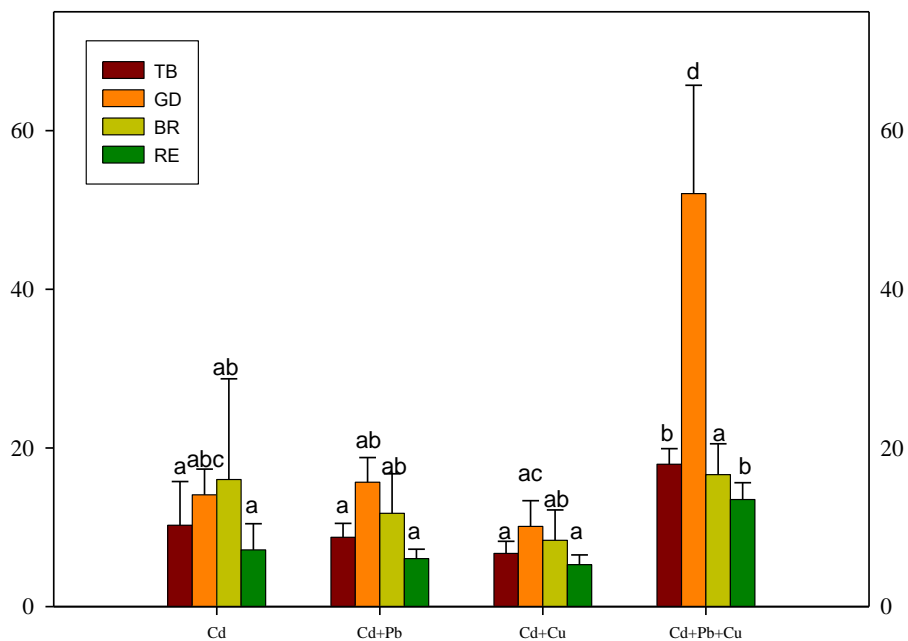


**Figura 23.** Porcentaje de Pb en los diferentes compartimentos analizados para los grupos de exposición a base de Pb. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

## IV.5.3. Cd en grupos de exposición

## IV.5.3.1. Total de tejidos blandos

La mayor concentración de Cd en la totalidad de tejidos blandos se produjo en los grupos expuestos a la mezcla ternaria (18.06 mg kg<sup>-1</sup>), seguida de los expuestos a la exposición simple (10.27 mg kg<sup>-1</sup>), a la mezcla Cd+Pb (8.74 mg kg<sup>-1</sup>) y Cd+Cu (6.69 mg kg<sup>-1</sup>) (Fig. 24), siendo estadísticamente significativa la diferencia de la mezcla ternaria con el resto de grupos de exposición a Cd. La acumulación de Cd en tejidos blandos de moluscos bivalvos ha sido estudiada mediante bioensayos por diversos autores (Tabla 44), pudiendo comprobarse la existencia de una cierta similitud con respecto a nuestros resultados en el caso de la exposición individual.



**Figura 24.** Concentración de Cd (mg Kg<sup>-1</sup>, peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para los grupos de exposición a base de Cd. Para cada tejido, las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con la misma letra. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos (Test de Dunn).

Especie	Dosis ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Tiempo (días)	Cd	Referencia
<i>Perna viridis</i>	0	8	8.24±1.47	Acosta <i>et al.</i> , 2013
	50		49-50	
	80		67-72	
<i>P. viridis</i>	0	7	1.91±0.43	Narváez <i>et al.</i> , 2005
	0.04		10.84±1.15	
<i>P. perna</i>	0	3	<3	Boudjema <i>et al.</i> , 2014
	50		<3	
	200		10.68±0.0013	
	1000		72.46±0.0007	
	2000		73.45±0.0012	
	4000		249.01±0.0016	
	8000		381.57±0.0016	
<i>M. edulis</i>	0	3	2.5±0.4	Fokina <i>et al.</i> , 2013
	10		6.7±0.8	
	100		39.5±6.1	
	500		89.1±4.5	
<i>M. galloprovincialis</i>	0	15	NA	Pytharopoulou <i>et al.</i> , 2013
	100		220 (GD)	
<i>P. viridis</i>	0	15	0.3±0.2 *	Liu <i>et al.</i> , 2012
	20		6.4±1.8 *	
	200		51.3±4.9 *	
<i>P. viridis</i>	0	1	0.30	Yap <i>et al.</i> , 2004b
	0.5		20.45	
	1.00		27.05	
	1.50		32.27	
	3.00		21.71	
<i>M. galloprovincialis</i>	0	9	NA	Zorita <i>et al.</i> , 2007
	200		412±77(GD), 239±50(BR), 75±21(MN)	
<i>P. viridis</i>	0	7	0.326±0.095	Blackmore y Wang, 2002
	50		11.7±3.26	
	0	7	0.187±0.061	
	100		25.9±11.8	
0	21	0.391±0.159		
50		10.2±1.73		
<i>M. edulis</i>	0	11	2.15±0.17(GD) y 1.21±0.19(BR)	Sheir y Handy, 2010
	20		57.2±5.56(GD) y 27.64±9.43(BR)	
	50		101.1±11.44(GD) y 49.06±5.29(BR)	
<i>M. californianus</i>	0	60	7.41±0.37(GD) y 8.10±0.76 (BR)	Dorantes, 2001
	1		7.23±0.79(GD) y 6.99±1.41(BR)	
	5		13.45±1.02(GD) y 14.21±0.56(BR)	
	20		28.82±5.33(GD) y 27.10±1.12(BR)	

**Tabla 44.** Concentración de Cd ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso seco) descritos en tejidos blandos de diferentes especies de moluscos de la familia Mytilidae (bioensayos). GD= glándula digestiva, BR=branquia, MN=manto, resto de datos=total de tejidos blandos; (\*)=peso húmedo, NA=no analizado.

Respecto a la acumulación de Cd en los mejillones expuestos a mezclas binarias podemos decir que si bien estos grupos concentraron algo menos de Cd, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas con respecto a la exposición simple (Figura 24). Algunos elementos esenciales pueden interferir en la retención y acumulación de elementos tóxicos, lo cual podría pensarse en el caso de la exposición a la mezcla binaria Cd+Cu. A este respecto Holwerda (1991) mostró que la acumulación de Cu aceleraba la eliminación del Cd acumulado previamente en *Anodonta cygnea*, sugiriendo que la competencia entre los iones metálicos por los mismos sitios de unión celular haría promover la excreción de metales, lo cual podría ser válido también y según nuestros resultados, en el caso de la combinación Cd+Pb. Sin embargo otros autores han mostrado un aumento en la retención de Cd vía metalotioneínas en *P. viridis*, pero cuando la exposición a Cu era previa (Lemus *et al.*, 2014).

El caso de la mezcla ternaria de nuevo nos encontramos con un incremento en la concentración de Cd con respecto a la exposición individual (casi el doble), por lo que lo explicado en el caso de la exposición a Pb podría extenderse a este caso.

Con respecto a la relación Cd:Pb comprobamos que en el grupo expuesto a la mezcla binaria Cd+Pb la relación era aproximadamente de 3:1, aun siendo la concentración de exposición de Cd 10 veces menor que la del Pb, y aun siendo esta relación en los grupos control de aproximadamente 1:1. Esta mayor acumulación de Cd con respecto al Pb podría tener su explicación en el hecho de que los iones  $Cd^{+2}$  pueden imitar los iones de  $Ca^{+2}$  en términos de radio y potencial eléctrico (Adams *et al.*, 2011), siendo más fácilmente absorbido que el Pb. El Cd utilizado en nuestro estudio fue en forma de cloruro ( $CdCl_2$ ), una sal que fácilmente se divide en iones  $Cd^{+2}$  en el medio marino (Neff, 2002), lo cual hace que su acumulación en las células bloquee la entrada y acumulación de Pb. En el caso de la mezcla ternaria, la concentración de Cd se multiplicó por dos con respecto a la binaria Cd+Pb, mientras que la concentración de Pb se multiplicó por casi 5, por lo que la relación Cd:Pb disminuyó a 1.4:1. Es posible que en el caso de mezclas complejas, los mecanismos de entrada del Ca y por consiguiente del Cd, se vean parcialmente alterados, no ocurriendo igual en los mecanismos de entrada del Pb. No obstante, esta hipótesis necesitaría de la realización de nuevos estudios para corroborarla o refutarla, ya que tampoco hemos encontrado bibliografía que nos ayude a entender este fenómeno.

#### IV.5.3.2. Glándula digestiva, branquia y resto de tejidos

Los mejillones expuestos a la mezcla ternaria fueron los que más Cd acumularon en glándula y resto de tejidos (Tabla 38), con diferencias estadísticamente significativas con respecto al resto de grupos de exposición (Figura 24), siendo la concentración en branquia ( $16.63 \text{ mg kg}^{-1}$ ) muy similar a la del grupo expuesto exclusivamente a Cd ( $16.02 \text{ mg kg}^{-1}$ ). De nuevo comprobamos un patrón de comportamiento en el que los tejidos de los grupos expuestos a las mezclas binarias acumulan menos Cd que el grupo con la exposición individual a Cd, salvo en el caso de la glándula digestiva, la cual acumuló más Cd en el grupo expuesto a Cd+Pb ( $15.68 \text{ mg kg}^{-1}$ ) que en el expuesto solo a Cd ( $14.09 \text{ mg kg}^{-1}$ ), pero sin diferencias significativas en ningún caso; y dentro de las mezclas binarias, fue el grupo expuesto a Cd+Cu el que acumuló menor cantidad de Cd, aunque solo presentó diferencias estadísticamente significativas con otra mezcla binaria, en concreto con el grupo expuesto a Cd+Pb en glándula digestiva (Figura 24). No hemos encontrado estudios de acumulación en tejidos tras exposiciones a mezclas binarias y ternarias, por lo que lo indicado para la totalidad de tejidos blandos podría ser extrapolable a estos tejidos concretos.

Respecto a los tejidos analizados comprobamos que en branquia y en el resto de tejidos blandos también había una menor concentración de Cd que en la glándula digestiva (estadísticamente significativa en el caso de la mezcla ternaria), salvo en el caso de la exposición individual a Cd, donde era la branquia el tejido que presentaba mayor concentración (Tabla 41), aunque las diferencias no eran estadísticamente significativas. Esta mayor acumulación en branquia coincide con lo mostrado por Serra *et al.* (1999) en un estudio realizado sobre la misma especie y tiempo de exposición, aunque a una dosis 5 veces superior. No obstante hemos encontrado en la bibliografía numerosas referencias donde se muestra a este órgano como el de mayor acumulación de Cd: moluscos bivalvos de agua salobre como *Anodonta cygnea* (Hemelraad *et al.*, 1986), *Unio pictorum* *manicus* y *A. cygnea* (Ravera *et al.*, 2003), *A. grandis* (Tessier *et al.*, 1993), bivalvos marinos como *Anadara granosa* (Chan *et al.*, 2002) y *A. trapezia* (Taylor y Maher, 2012) y de agua dulce como *Anodonta woodiana* (Li *et al.*, 2015) o *Hyridella australis* (Marasinghe *et al.*, 2014a); otras en los que los valores son similares (Dorantes, 2001); y otras en los que es la glándula el órgano de mayor acumulación, como en nuestro caso en exposiciones binarias y ternaria (Viarengo *et al.*, 1990; Roesijadi *et al.*, 1994; Zorita *et al.*, 2007; Sheir y Handy, 2010; Fernández, 2012a, Vasanthi *et al.*, 2012; Sheir *et al.*, 2013).

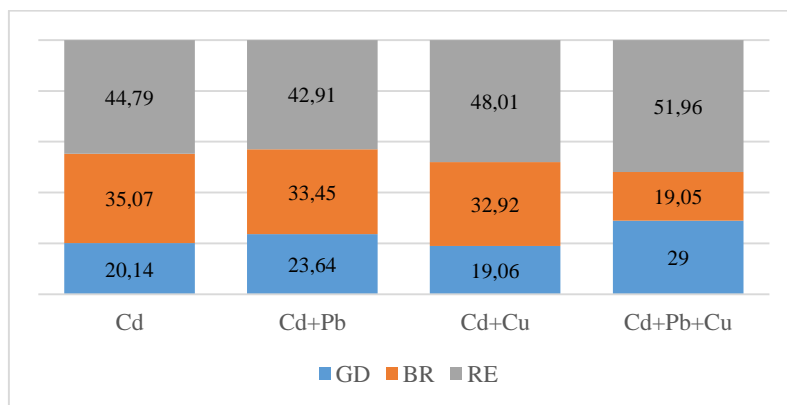
Otros estudios muestran que los metales no esenciales como Cd, Hg o Pb, se acumulan rápidamente y en grandes cantidades en las branquias de mejillón (Marigómez *et al.*, 2002; Domouhtsidou *et al.*, 2004; Dragun *et al.*, 2004; Geffard *et al.*, 2004; Shi y Wang, 2004; Kopecka-Pilarczyk, 2010), siendo esto una acumulación gradual que se estabiliza a los 10 días de exposición (Amachree *et al.*, 2013), y en el caso del Cd, aumentando en glándula a partir de los 8 días (Sheir y Handy, 2010). En vista de todo esto, se podría asumir que el tiempo utilizado de exposición en nuestro estudio estaba en el límite para el paso a una mayor acumulación en glándula digestiva, al menos en la exposición simple a Cd.

Si bien la branquia es el primer órgano de contacto, los metales pasan a través de la hemolinfa al hepatopáncreas y a otros tejidos, donde se acumulan para su posterior quelación y eliminación, siendo considerado el órgano diana para exposiciones a más largo tiempo (Serra *et al.*, 1999). En nuestro estudio, tanto los grupos expuestos a las mezclas binarias como a la ternaria presentaron mayor concentración de Cd en glándula digestiva que en branquia, aun siendo el mismo el tiempo de exposición. A la hipótesis anteriormente indicada y relativa a que la competencia entre los iones metálicos podría ser la responsable de la excreción de metales (Holwerda, 1991), y por tanto, de una menor concentración de Cd en ambos tejidos, se le uniría el hecho de que el mismo área de superficie branquial que está en contacto con los metales retendría no solo el Cd sino también el Pb y el Cu, lo cual originaría una saturación más rápida y por tanto, un adelanto en la distribución, en este caso del Cd, a la glándula digestiva. En este sentido, algunos autores afirman que las diferencias en las concentraciones tisulares pueden ser atribuidas precisamente a diferencias en las áreas de superficie de los tejidos que están en contacto con el Cd (Yap *et al.*, 2008).

Con respecto a la relación Cd:Pb comprobamos que al igual que pasaba en la totalidad de tejidos blandos, la relación en glándula, branquia y resto se mantuvo en la misma proporción, aunque fue algo mayor en el caso de la branquia (3.4:1). Sin embargo esta relación no se mantuvo en el caso de los individuos expuestos a la mezcla ternaria: 1.4:1 en el resto de tejidos blandos y 2.4:1 en la glándula, mientras que la branquia acumuló más Pb que Cd, siendo la relación inferior a 1 (0.8:1). También en esta mezcla, aunque de forma menos uniforme, la concentración de Pb en los tejidos fue de 4.1 a 6.3 veces más que en la exposición individual a Pb, mientras que en el caso del Cd esta cantidad fue de 1.4 a 3.3. De nuevo nos encontramos con una mayor facilidad de acumulación de

Cd que de Pb en casi todos los tejidos estudiados, pero un mayor incremento de la concentración de Pb cuando este va unido a otros metales. En este sentido, podríamos asumir lo indicado para la totalidad de tejidos blandos a este respecto, aunque la mayor variabilidad tisular en el caso de la mezcla más compleja debería ser objeto de estudio.

Al estudiar la distribución del Cd entre tejidos observamos que en los individuos expuestos a Cd de forma individual y a las mezclas binarias, la branquia tenía un mayor porcentaje de este elemento que la glándula digestiva, mientras que en la mezcla ternaria esta relación se invertía (Figura 25); y el porcentaje de Cd en el resto de tejidos blandos se incrementó en los grupos expuestos a Cd+Cu y a la mezcla ternaria. Además, en las mezclas binarias se observó una leve disminución del porcentaje de Cd en la branquia con respecto al grupo expuesto solo a Cd. Estas tendencias fueron completamente opuestas a las observadas en el caso de la compartimentación del Pb, donde disminuía en la glándula a favor de la branquia, aunque en ambos casos lo que se produjo fue una redistribución del metal, disminuyendo en el compartimento en el que más había en la exposición individual y aumentando en el que menos, y siendo esta redistribución mayor en el grupo expuesto a la mezcla ternaria que en el expuesto a la binaria Cd+Pb. No hemos encontrado estudios que muestren esta relación, salvo uno realizado en *P. viridis* en el que se indica el porcentaje de Cd acumulado en glándula (aproximadamente 30%), aunque no indica el porcentaje de este metal en branquia (Blackmore y Wang, 2002). Ante la falta de información, de nuevo podemos asumir el carácter conservador de la compartimentación de elementos traza, indicado anteriormente como consecuencia de la disminución del peso de los tejidos (Gabbott, 1975; Lobel y Wright, 1982).



**Figura 25.** Porcentaje de Cd en los diferentes compartimentos analizados para los grupos de exposición a base de Cd. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

#### IV.5.4. Cu en grupos de exposición

##### IV.5.4.1. Total de tejidos blandos

La acumulación de Cu en la totalidad de tejidos blandos de mejillón presentó un patrón diferente al descrito en el caso del Pb y Cd, ya que no existían diferencias en la acumulación de Cu entre el grupo control y el grupo expuesto a Cu, siendo escasamente superior esta acumulación en el grupo expuesto a Pb+Cu con respecto a su control (Tabla 37).

En este sentido, autores como Brooks *et al.* (2015) tampoco observaron diferencias significativas tras la exposición a  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  durante 4 y 21 días en la bioacumulación de Cu en *M. galloprovincialis*, mientras que en otras especies del mismo género (*M. edulis* y *M. trossulus*), las concentraciones se incrementaron casi el doble. Tal y como puede apreciarse en la Tabla 45, el aumento en la acumulación de Cu ha sido descrito en diferentes estudios, aunque en algunos de estos casos las condiciones ambientales eran diferentes (Bayne *et al.*, 1976; Wright y Zamuda, 1987; Amiard-Triquet *et al.*, 1991; Höher *et al.*, 2013), así como los tiempos de exposición.



Especie	Dosis ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Tiempo (días)	Cu	Referencia
<i>P. perna</i>	0	3	$31.92 \pm 0.0001$	Boudjema <i>et al.</i> , 2014
	5		$51.48 \pm 0.0002$	
	15		$78.64 \pm 0.0001$	
	25		$91.99 \pm 0.0001$	
<i>P. viridis</i>	0	1	1.59	Yap <i>et al.</i> , 2004b
	100		2.65	
	200		5.13	
	300		10.03	
	400		10.22	
<i>M. edulis</i>	0	3	$6.6 \pm 0.8$	Fokina <i>et al.</i> , 2013
	5		$7.6 \pm 1.1$	
	50		$13.9 \pm 2.1$	
	250		$52.0 \pm 6.1$	
<i>Lampsilis siliquoidea</i>	0	7 a 28	$27.9 \pm 9.4$	Jorge <i>et al.</i> , 2013
	2		$63.8 \pm 5.2$ a $164.9 \pm 35.8$	
	12		$56.2 \pm 31.0$ a $158 \pm 25.4$	
<i>M. galloprovincialis</i>	40	9	$102 \pm 12$ (BR)	Zorita <i>et al.</i> , 2007
			$46 \pm 10$ (GD)	
			$10 \pm 1$ (MN)	
<i>M. galloprovincialis</i>	100	15	31 (GD)	Pytharopoulou <i>et al.</i> , 2013
<i>M. galloprovincialis</i>	0	7	$1.03 \pm 0.11$ a $1.24 \pm 0.27$	Nuestro estudio
			$7.42 \pm 0.79$ a $8.93 \pm 1.95$	
	100		$1.34 \pm 0.18$	
		$9.65 \pm 1.30$	Peso húmedo	

**Tabla 45.** Concentración de Cu ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso seco) descritos en tejidos blandos de diferentes especies de moluscos bivalvos (bioensayos). GD=glándula digestiva, BR=branquia, MN=manto, resto de datos=total de tejidos blandos.

En el caso de la exposición a la mezcla binaria Cd+Cu, sí que hubo un aumento significativo de la concentración de Cu respecto al control, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Shuhaimi-Othman y Pascoe (2007). En base a esto, diversos autores (Shuhaimi-Othman y Pascoe, 2007; Baraj *et al.*, 2011) plantean la hipótesis de una posible relación entre ambos metales, de manera que el Cd podría estimular la

acumulación de Cu, estando más relacionado con la reducción de la eliminación que con el aumento de la absorción.

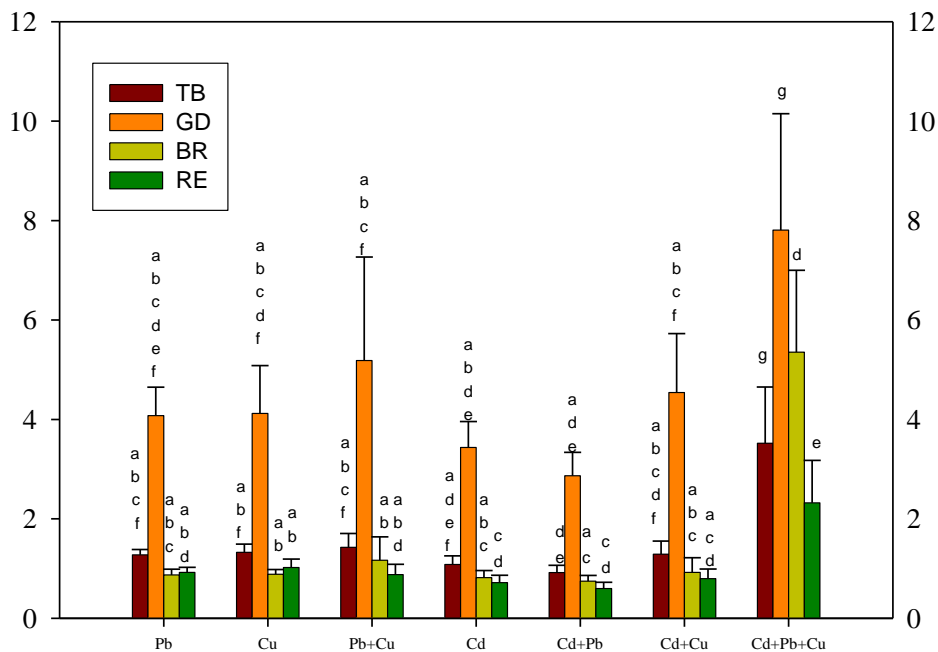
En el caso de los individuos expuestos a la mezcla ternaria también se produjo un aumento estadísticamente significativo en la concentración de Cu, tanto con respecto a su control como con respecto a los grupos de exposición a Cu, Pb+Cu y Cd+Cu, lo cual indica (al igual que en los casos de acumulación de Pb y Cd), la existencia de un fracaso en los mecanismos reguladores de la concentración de elementos traza cuando el grado de toxicidad (mezcla ternaria como mezcla más compleja) es alto.

#### IV.5.4.2. Glándula digestiva, branquia y resto de tejidos

Si bien en los casos de exposición a Pb y a Cd no fue necesario analizar las diferencias encontradas entre los grupos tratados con estos metales y sus respectivos grupos control, en el caso del Cu este análisis se hace necesario al ser un elemento esencial y estar presente de forma normal en los tejidos del mejillón. Así pues comprobamos que aunque todos los tejidos de los mejillones expuestos a Cu presentaron un ligero aumento en la concentración de este elemento con respecto al control, este no fue significativo (Tabla 37). Este resultado no coincide con otros estudios realizados sobre *M. galloprovincialis* (Canesi *et al.*, 1999; Pytharopoulou *et al.*, 2013), aunque en estos casos las condiciones experimentales fueron diferentes en cuanto a dosis y tiempos de exposición.

En el caso de exposiciones en las que el Cu no era uno de los elementos de exposición, nos encontramos que la branquia del grupo expuesto solo a Cd acumuló más Cu que los individuos del grupo control; y que tras la exposición a Cd+Pb también había diferencias estadísticamente significativas con respecto al control (disminución en la glándula y en el resto, y aumento en la branquia). Según la bibliografía consultada, la exposición a elementos como Cd provoca alteraciones en la concentración tisular de Cu. En este sentido, Yang *et al.* (1996) muestran un aumento de la concentración de Cu en *P. viridis* tras una exposición a  $1\mu\text{g ml}^{-1}$ , coincidiendo con nuestros resultados, aun siendo una especie diferente, una concentración de Cd inferior y un menor tiempo de exposición (4 días). Sin embargo, otros autores (Sheir *et al.*, 2013), no observaron diferencias significativas en glándula digestiva y branquia de mejillones *M. edulis* expuestos durante 8 días a  $20\mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{CdCl}_2$ .

En el resto de grupos expuestos a Cu comprobamos que también todos los tejidos presentaban un leve aumento en la concentración de este elemento respecto a los grupos control, aunque solo fue estadísticamente significativo en glándula de los grupos expuestos a las mezclas binarias y la ternaria, en la branquia de los grupos expuestos a la mezcla Cd+Cu y ternaria, y en el resto de tejidos del grupo expuesto a la mezcla ternaria (Tablas 37 y 38). Como era de esperar, al comparar los grupos de exposición entre sí (Figura 26), observamos que la acumulación de Cu en los grupos expuestos a la mezcla ternaria era significativamente mayor que en los expuestos solo a Cu y a sus mezclas binarias, tanto en glándula como en branquia y resto.



**Figura 26.** Concentración de Cu ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. Para cada tejido, las letras minúsculas señalan que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos (Test de Dunn).

El Cu es un metal esencial para los mejillones, con  $10 \mu\text{mol Kg}^{-1}$  ( $0.6 \text{ mg Kg}^{-1}$ ) de su peso corporal (Nugroho *et al.*, 2012a, b). Este elemento forma parte de los sitios activos de algunos metaloenzimas y sirve como principio de unión al oxígeno en la hemocianina, el pigmento respiratorio en la hemolinfa de moluscos (Birge y Black, 1979; Demayo y Taylor, 1981; Julshamn *et al.*, 2001). Cuando los mejillones filtran el agua, el Cu presente

en forma disuelta entra en la cavidad del manto y llega a todas las partes del cuerpo en contacto con el agua, para ser absorbidos a través de las branquias y el manto. Además cuando Cu se asocia con el alimento (algas y materia particulada en suspensión), es absorbido a través de la boca hasta el tracto digestivo. Ambos caminos conducen a la acumulación de Cu en diversos compartimentos corporales (Nugroho y Frank, 2011b). Sin embargo, su exceso puede ser perjudicial para multitud de organismos marinos, interrumpiendo procesos respiratorios (Spicer y Weber, 1991; Soegianto *et al.*, 1999; Frías-Espericueta *et al.*, 2008), reduciendo el área de superficie disponible para el intercambio de gases (Nonnotte *et al.*, 1993) e inhibiendo los cilios de las branquias (Brown y Newell, 1972). Por lo tanto, la regulación de las concentraciones de este elemento esencial a nivel tisular es esencial para el adecuado mantenimiento de funciones respiratorias, hecho que al parecer se altera en los diferentes grupos de exposición, sobre todo en la mezcla ternaria, por lo que al hilo de lo comentado, un estudio acerca de las tasas respiratorias podría aportar información sobre diferentes efectos entre los grupos de exposición.

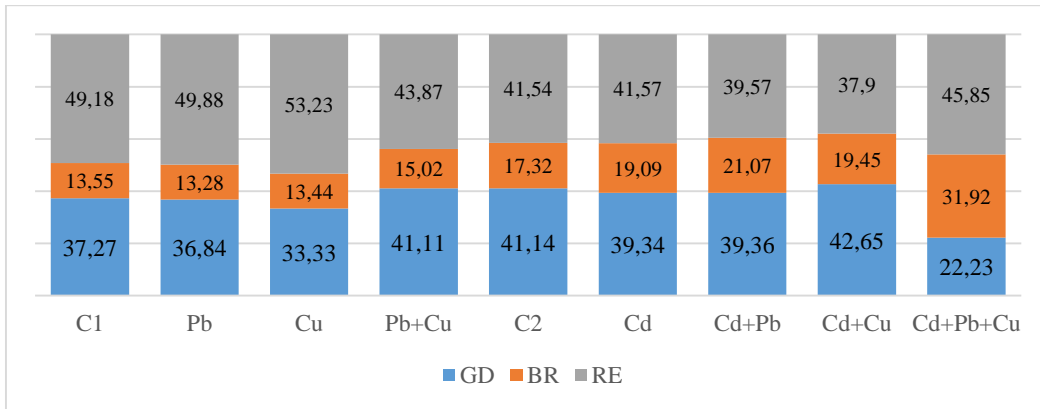
La concentración de Cu en glándula fue mayor que en branquia para todos los grupos de exposición ( $p < 0.05$ ), sobre todo en la mezcla ternaria, donde se alcanzó la máxima concentración de Cu ( $7.81 \pm 2.34 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Tablas 38 y 41). Sin embargo, la bibliografía consultada sobre la acumulación tisular de Cu en bioensayos con *M. galloprovincialis*, *M. edulis* y *M. mactroides* nos muestra otros resultados (Zorita *et al.*, 2007; Al-Subiai *et al.*, 2011; Raftopoulou *et al.*, 2011; Jorge *et al.*, 2014), los cuales podrían ser asociados a las diferentes concentraciones y tiempos de exposición, además de a la diferente especie utilizada.

Del mismo modo, tampoco coinciden nuestros resultados con los descritos por otros autores que describen una acumulación de Cu mayor en branquia cuando los organismos son expuestos a otros metales, como Cd (Yang *et al.*, 1996 sobre *P. viridis*) y Pb (Sánchez-Marín *et al.*, 2012 sobre *M. edulis*), aunque también en estos casos el tiempo de exposición fue muy reducido (24 horas). Además, la relación existente entre la concentración de Cu en glándula y branquia fue de 4.5-5:1, tanto en controles como en las exposiciones individuales y en las mezclas binarias a base de Cu, mientras que en la mezcla binaria Cd+Pb se redujo a 3.8:1, estando próxima al equilibrio en el grupo expuesto a la mezcla ternaria (1.5:1). *A priori*, el organismo parece controlar bien el exceso de Cu presente en el medio, tanto cuando es el único metal de exposición como

cuando va asociado a un segundo elemento tóxico. Sin embargo, no parece que ocurra esto en el caso de las exposiciones a las mezclas más tóxicas y complejas (Cd+Pb y Cd+Pb+Cu), donde se produce, al igual que en el caso de la exposición a Pb, una incapacidad material para retenerlo en glándula, desplazándose hacia la branquia.

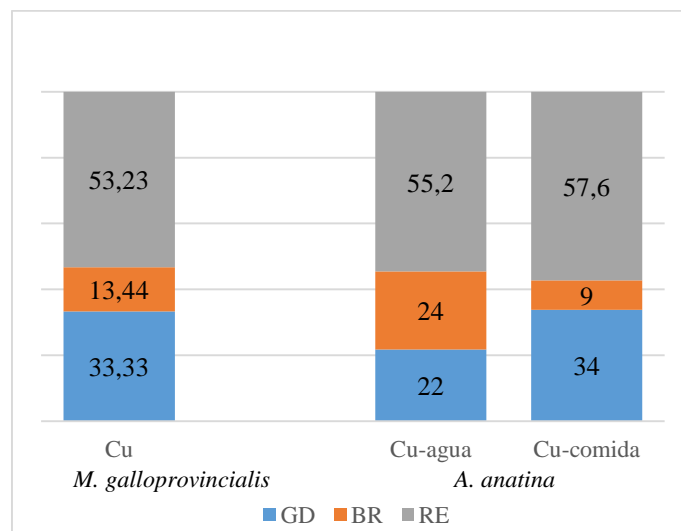
La relación Cu/Pb en la mezcla binaria Pb+Cu fue similar (con pequeñas oscilaciones) en todos los tejidos, y similar a la descrita para la totalidad de tejidos blandos (Tabla 37). Esta relación se incrementó hasta 4 veces en el caso de la exposición a la mezcla ternaria, por lo que podemos decir que en este caso el organismo tiende a acumular más Pb que Cu con respecto a la exposición a la mezcla binaria. Sin embargo, la relación Cu/Cd fue mucho más dispar, con grandes oscilaciones entre tejidos para cada mezcla (Tabla 38). Curiosamente la relación de 5:1 que se observa en la totalidad de tejidos blandos, tanto para la mezcla binaria Cd+Cu como para la ternaria, no se mantiene en el resto de tejidos, no pudiendo apreciarse un patrón claro en esta relación.

En cuanto a la distribución del Cu por tejidos (Tabla 42, Figura 27) en primer lugar comprobamos que tras la exposición a Cu no había grandes diferencias con respecto al grupo control. Por otro lado observamos que en las exposiciones binarias aumentó la cantidad total de Cu acumulada en branquia con respecto a la exposición única a Cu, siendo máxima en el caso de la exposición a la mezcla ternaria y coincidiendo con lo observado en el caso de la distribución del Pb (Figura 23). En la glándula digestiva el porcentaje de Cu aumentó en las exposiciones binarias, similar a lo que ocurría en el caso de la distribución del Cd (Figura 25), pero disminuyó en la ternaria (igual que en el caso de la distribución del Pb). Finalmente, el porcentaje en el resto de tejidos disminuyó en las mezclas binarias, aumentando en el caso de la mezcla ternaria, no coincidiendo con lo que ocurría en el caso del Pb, donde se mantenía estable, ni con las mezclas binarias de Cd, donde este porcentaje aumentaba. Como podemos apreciar este comportamiento presenta un patrón en el que la branquia parece ser el órgano que regula la redistribución interna indicada por Gabbott (1975) y por Lobel y Wright (1982), mientras que tanto la glándula como el resto de tejidos blandos participan en la compartimentación aumentando o disminuyendo su porcentaje en el caso de las exposiciones a las mezclas binaria, pero alterándose esta tendencia en el caso de la exposición a la mezcla más tóxica (Cd+Pb+Cu).



**Figura 27.** Porcentaje de Cu en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

Si bien en el caso de Pb y Cd son escasos los estudios en bioensayos por su carácter de no esencialidad, en el caso del Cu sí se han realizado experiencias en este sentido. Así, Nugroho y Frank (2011) estudiaron la compartimentación de este metal usando el isótopo estable  $\text{Cu}^{63}$  sobre mejillones de la especie *Anodonta anatina* a través de la comida ( $1.5 \text{ mg L}^{-1}$  Cu en algas, equivalente a  $0.06 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  Cu) durante 24 días, obteniendo resultados similares a los obtenidos por nosotros (Figura 28).



**Figura 28.** Comparación de la distribución tisular de Cu entre *Anodonta anatina* (Nugroho y Frank, 2011) y *Mytilus galloprovincialis* (nuestro estudio). GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

#### IV.6. Efectos sobre la concentración y distribución de elementos traza mayoritarios (ETM) y minoritarios (ETm)

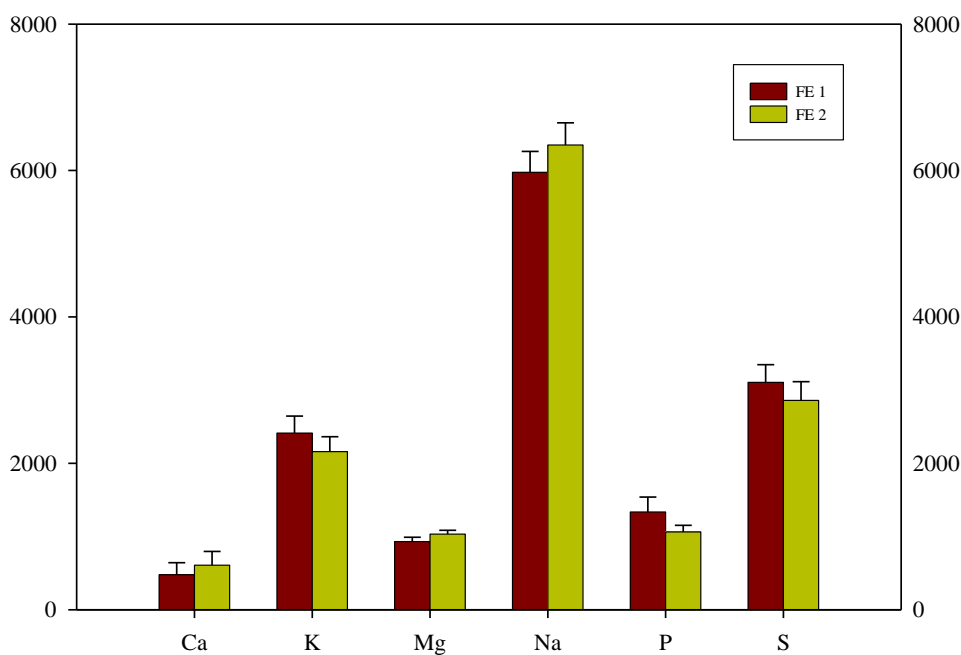
Existen diversos motivos por los que resulta de gran interés el estudio de las posibles variaciones en las concentraciones de minerales de los tejidos blandos. Por un lado, estudios recientes en *M. edulis* y *P. viridis* muestran una gran variabilidad en macronutrientes (C, N, P, S) y grandes cationes (Na, Mg, K, Ca) en sus tejidos, así como su potencial relación con la bioacumulación de diversos elementos traza, entre los que se citan al Pb, Cd y Cu (Liu y Wang, 2015). Por otro lado, en numerosos organismos acuáticos se han descrito, entre cationes químicamente similares, efectos competitivos por los lugares de absorción y unión (Hinkle *et al.*, 1987; Blažka y Shaikh, 1991; Roesijadi y Unger 1993; Di Toro *et al.*, 2001), así como la posibilidad de compartir rutas metabólicas similares (Liu *et al.*, 2012). Además, algunos elementos como los utilizados en nuestro estudio, son capaces de unirse a las membranas celulares y obstaculizar los procesos naturales de transporte a través de la pared celular (Boran y Altinok, 2010). Finalmente, desde el punto de vista de la defensa celular, el daño oxidativo producido por metales pesados puede controlarse mediante sistemas antioxidantes, representado por enzimas capaces de eliminar especies reactivas de oxígeno, algunas de las cuales son dependientes de elementos como Cu, Se, Fe, Mn y Zn (Passi *et al.*, 2002).

En su entorno natural, los organismos marinos están expuestos simultáneamente a complejas mezclas de metales. Si bien existen numerosas evidencias experimentales sobre interacciones entre elementos (Popham y D'Auria, 1982; Calabrese *et al.*, 1984; Blackmore y Wang, 2002; Fraysse *et al.*, 2002), los mecanismos fisiológicos y bioquímicos que subyacen a dicha interacción aún no están bien explicados (Shi y Wang, 2004).

## IV.6.1. Concentración y distribución de ETM

## IV.6.1.1. Grupos control

En todos los tejidos analizados así como en la totalidad de tejidos blandos (Tablas 46 y 47, Figura 29) observamos que el elemento de este grupo presente en mayor cantidad fue el Na, seguido del S y del K, siendo similares las concentraciones de P y Mg (excepto en el caso de la glándula digestiva, donde la concentración de P era mayor que la de Mg). Por su parte, el Ca fue el elemento de este grupo presente en menor concentración. Si bien algunos autores muestran similitudes con este orden (Fuentes *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2014; Bongiorno *et al.*, 2015), otros estudios indican ciertas diferencias, asociadas a la especie de bivalvo, zona geográfica y estación del año (Li *et al.*, 2010b; Chi *et al.*, 2012). Respecto a las concentraciones detectadas, nuestros resultados fueron similares a los encontrados en esta especie por diversos autores (Tabla 48), excepto en un estudio realizado en Sudáfrica (Fatoki *et al.*, 2012).



**Figura 29.** Concentración de elementos traza mayoritarios (mg Kg<sup>-1</sup>, peso fresco) en el total de tejidos blandos de mejillón (grupos control). FE1=fase experimental, FE2=fase experimental 2.



		GD						BR					
		Ca	K	Mg	Na	P	S	Ca	K	Mg	Na	P	S
CONTROL	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	437.74	3,485.74	720.32	5,270.73	2,103.37	4,626.95	330.28	1,823.25	1,030.83	8,746.88	908.82	2,587.1
	SD	115.78	1,178.64	137.38	986.09	419.4	725.45	65.82	76.1	40.85	628.68	52.5	60.31
	mín.	298.27	2,657.59	606.85	4,262.83	1,721.72	3,963.24	288.32	1,746.99	991.3	7,868.91	847.02	2,514.79
	Máx	685.68	6,571.58	1,066.39	7,406.64	3,170.12	6,467.84	500.75	1,964.15	1,131.19	9,746.57	980.15	2,686.17
Pb	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	480.06	3,502.53	708.92	5,080.05	2,078.86	4,829.02	305.55	1,850.28	1,028.33	8,538.92	937.41	2,660.55
	SD	118.39	1192.28	181.94	1,018.13	364.69	578.46	12.27	95.47	27.69	344.09	78.3	136.49
	mín.	339.28	2925.6	579.11	3,981.91	1,780.81	4340.85	287.66	1,681.83	976.54	8,011.27	811.98	2,445.55
	Máx	647.4	6,659.79	1,184.97	7,510.32	2,984.31	6218	334.08	1,990.11	1,071.64	9,044.83	1,041.47	2,837.87
	p	0.68	0.86*	0.72*	0.82*	0.89*	0.18*	0.32*	0.62	0.54*	0.39	0.92*	0.21
Cu	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	383.45	3,410.64	723.26	5,352.9	2,056.7	4818.1	308.85	1,756.89	1,048.33	8,918.36	868.57	2,562.59
	SD	108.7	921.55	146.96	943.59	290.07	634.68	14.96	78.02	27.11	495.02	59.31	105.67
	mín.	303.21	2,894.07	636.42	4,737.58	1,855.16	4,395.22	288.76	1,643.85	1,014.61	8,253.01	794.04	2,388.02
	Máx	663.67	5,855.08	1,109.2	7,788.46	2,756.18	6,434.07	331.91	1,896.59	1,090.73	9,573.3	984.61	2,725.9
	p	0.14*	0.59*	1.00*	0.89*	0.68*	0.18*	0.32*	0.06	0.13*	0.48	0.17*	0.45
Pb + Cu	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	453.26	3,503.39	731.21	5,453.4	2,107.48	4,748.01	312.07	1,830.42	1,042.52	9623	911.11	2614.37
	SD	177.63	1,016.95	168.12	1,227.23	317.06	573.38	17.7	69.64	30.92	1,717.68	46.32	118.36
	mín.	328.75	3,002.72	632.95	4,603.04	1,926.6	4,310.29	287.62	1,704.4	981.25	8686.91	840.03	2,378.18
	Máx	909.15	6,200.52	1,174.56	8,676.18	2,922.78	6,212.85	341.18	1,910.29	1,071.51	1,4160.23	981.95	2,724.66
p	0.39*	0.82*	0.61*	0.37*	0.86*	0.29*	0.32*	0.85*	0.05*	0.13*	0.27*	0.31*	

**Tabla 46.** Concentración de elementos traza mayoritarios (mg Kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. p=comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).

		GD						BR					
		Ca	K	Mg	Na	P	S	Ca	K	Mg	Na	P	S
CONTROL	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	516.01	2,394.28	953.17	5,339.05	1,307.91	2,994.43	477.14	2,411.79	932.53	5,975.17	1,334.94	3,106.86
	SD	238.06	166.34	57.41	365.78	248.88	261.71	164.27	232.97	56.8	286.05	204.29	239.67
	mín	362.31	2,094.88	892.45	4,794.61	996.33	2,553.37	382.75	2,187.66	880.08	5,675.53	1,123.77	2,721.66
	Máx	1,121.21	2,577	1,056.62	5,873.23	1,775.96	3,288.05	899.09	2,953.34	1,042.03	6,419.08	1,681.36	3,471.29
Pb	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	489.31	2,496.05	916.17	4,917.43	1,283.9	3,104.42	450.91	2,498.79	927.8	5,640.78	1,295.52	3,211.75
	SD	235.49	135.2	66.54	542.54	161.41	243.32	171.57	250.77	66.28	449.34	110.54	182.81
	mín.	307.83	2,253.15	770.13	4,123.9	1,126.44	2,703.27	312.68	2,255.18	816.28	4,900	1,157.18	2,907.91
	Máx	1,084.62	2,664.82	991.28	6,148.46	1,547.23	3513	890.18	3,117.1	1,027.86	6,574.41	1,454.73	3,461.79
	p	0.46*	0.17	0.96*	0.06	0.67	0.41	0.35*	0.31*	0.87	0.08	0.62	0.31
Cu	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	547.69	2,337.03	977.34	5,336.73	1,315.81	3,003.32	479.6	2,328.83	9,49.35	6,061.26	1,314.88	3,104.03
	SD	374.46	134.84	80.41	659.44	188.05	166.08	263.16	65.31	70.43	516.32	130.94	159.14
	mín.	348.51	2,040.4	840.14	4,279.97	976.37	2,807.54	300	2,254.01	836.9	5,007.67	1,057.6	2,939.16
	Máx	1,490.7	2,539.38	1,064.63	6,226.63	1,638.32	3,308.23	1,141.04	2,442.4	1,042.38	6,894.57	1,517.61	3,429.14
	p	0.39*	0.30*	0.63*	0.97	0.92	1.00	0.047*	0.45*	0.59	0.67	0.81	0.98
Pb + Cu	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	703.68	2,391.51	952.77	5,406.28	1,305.45	2,997.57	604.81	2,409.35	942.31	6,145.77	1,324.43	3,114.18
	SD	645.75	169.15	68.9	502.86	152.62	365.12	470.96	227.79	73.17	565.39	127.75	325.82
	mín.	330.17	2,138.87	844.63	4,716.06	1,144.76	2,490.58	308.41	2,152.81	818.34	5,369.82	1,171.33	2,650.66
	Máx	1,958	2,614.85	1,068.47	6,344.49	1,578.46	3,520.23	1,546.76	2,903.01	1,062.83	7,272.69	1,535.18	3,675.43
p	0.45*	0.90	0.92*	0.83	1.00	0.88	0.15*	0.97*	0.76	0.43	0.90	0.96	

Tabla 46. (Continuación)

		GD						BR					
		Ca	K	Mg	Na	P	S	Ca	K	Mg	Na	P	S
CONTROL	n	7	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	1,151.95	2,713.57	750.24	5,432.9	1,878.82	4018.23	507.66	1,608.47	1,091.44	8,380.03	867.64	2,271.63
	SD	853.09	215.26	41.94	377.4	123.42	251.74	67.43	123.97	54.11	452.66	81.07	131.53
	mín.	545	2,306.34	699.19	5,079.96	1,748.83	3,487.09	428.29	1,307.45	1,013.32	7,631.68	685.91	2,031.21
	Máx	3,373.24	2,930.73	829.11	6,062.21	2,088.95	4,339.62	643.56	1,737.75	1,203.02	8,884.94	975.97	2,476.1
Cd	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	1,046.28	2,686.48	782.32	5,780.93	1,861.41	4,005.85	508.42	1,688.82	1,144.88	8,314.73	936.72	2,380.7
	SD	347.76	199.94	70.35	498.22	71.93	187.83	54.63	192.88	63.75	696.73	106.71	240.36
	mín.	603.44	2,377.45	700.91	5,180.66	1,749.2	3,725.49	432.95	1,498.35	1,053.08	7,591.54	804.04	2,145.05
	Máx	1,680.7	3,061.09	937.09	6,774.51	2,001.88	4,241.38	586.73	2,036.18	1,251.86	9,661.41	1,123.38	2,902.6
	p	0.55*	0.79	0.25	0.06*	0.71	0.90	0.94	0.79*	0.07	0.81	0.15	0.35*
Cd + Pb	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	836.23	2,609.86	705.17	5,224.87	1,913.15	4,422.34	501.02	1,670.57	1,100.48	8,155.18	960.39	2,484.3
	SD	407.88	275.24	88.14	673.7	127.33	413.39	154.65	100.95	100.72	1046.58	103.73	283.59
	mín.	435.74	2,092.76	517.13	3,745.62	1,658.66	3,752.46	277.73	1,516.54	891.54	6,505.43	843.69	2,242.18
	Máx	1,719.9	3,005.22	817.16	6,200.18	2,058.07	5,218.77	781.97	1,848.22	1,205.85	9,542.98	1,124.92	3,087.38
	p	0.27*	0.39	0.20	0.76*	0.55	0.02	0.92	0.35*	0.80	0.57	0.05	0.06*
Cd + Cu	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	1,062.29	2,612.25	782.12	5,704.71	1,770.66	3,970.14	583.33	1,584.04	1,127.11	8,731.47	850.39	2,225.98
	SD	406.64	252.18	100.45	759.15	182.47	429.79	131.13	167.66	48.94	792.89	122.78	177.44
	mín.	540.4	2,105.35	696.7	5,120.3	1,426.42	3,386.87	376.39	1,233.18	1,072.84	7,792.35	638.11	1,933.1
	Máx	1,888.53	2,900.54	1,033.16	7,564.77	1,957.65	4,481.18	788.58	1,789.13	1,215.18	1,0121.2	1,022.1	2,461.67
	p	0.83*	0.37	0.56*	0.40*	0.17	0.77	0.13	0.69*	0.15	0.27	0.72	0.53
Cd + Pb + Cu	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	1,115.46	2,442.45	794.3	5,845.82	1,793.63	3,973.32	656.97	1,526.26	1,113.44	8,985.15	787.56	2,166.53
	SD	513.88	280.27	102	911.95	172.4	411.12	144.52	143.3	101.84	1076.9	102.13	128.62
	mín.	610.86	2,023.48	671.59	4,684.95	1,428.57	3182	488.11	1,292.98	970.58	7,478.39	679.21	2,022.77
	Máx	2,255.45	2,971.87	986.3	7,577.3	2,078.06	4,543.6	926.69	1,761.29	1,273.91	1,0483.36	983.67	2,342.56
	p	0.66*	0.04	0.27	0.23*	0.24	0.78	0.01	0.16*	0.57	0.14	0.08	0.10

**Tabla 47.** Concentración de elementos traza mayoritarios ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos. p=comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).

		RE					TB						
		Ca	K	Mg	Na	P	S	Ca	K	Mg	Na	P	S
CONTROL	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	557.63	2,279.86	1,074.3	5,678.12	978.79	2,855.17	607.94	2,160.13	1,032.5	6,348.3	1,062.45	2,859.25
	S	163.38	230.84	74.62	400.28	98.56	300.33	187.01	203.7	51.61	301.6	89.17	255.03
	D	427.02	1,718.37	970.17	5,013.39	763.99	2,268.82	488.7	1,651.6	964.68	5,927.92	857.35	2,336.56
	M	971.57	2,526.42	1,195.3	6,469.56	1,128.55	3,285.27	1,098.89	2,309.56	1,139.54	6,948.2	1,159.2	3,190.39
Cd	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	575.91	2,217.12	1,065.36	5,845.38	941.59	2,904.39	621.39	2,152	1,056.48	6,459.6	1,054.57	2,911.07
	S	129.47	170.38	64.27	801.63	77.79	330.55	106.82	184.99	36.74	475.56	95.05	296.27
	D	472.98	1,966.9	962.84	4,471.84	850.37	2,420.49	509.33	1,954.42	1,010.82	5,526.3	947.19	2,561.33
	M	901.22	2,550.68	1,187.65	7,002.76	1,087.67	3,425.68	847.75	2,512.1	1,124.55	7,026.79	1,263.57	3,438.49
p	0.19*	0.18*	0.70*	0.56	0.21*	0.77	0.23*	0.57*	0.27	0.56	0.40*	0.70	
Cd + Pb	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	1,015.25	2,203.68	1,073.01	5,606.47	927.91	2,811.35	830.72	2,114.62	1,036.3	6,224.33	1,056.73	2,932.52
	S	1366.93	160	66.3	747.71	91.48	345.13	795.7	156.78	70.1	702.53	84.38	225.4
	D	361.89	2,023.71	979.48	4,577.11	788.45	2,282.52	374.47	1,907.54	906.96	5,370.26	930.22	2,620.96
	M	4,620.88	2,590.2	1,189.34	7,063.51	1,084.23	3,449.76	2,919.2	2,487.95	1,137.99	7,119.21	1,174.1	3,348.53
p	0.85*	0.06*	0.70*	0.82	0.16*	0.72	0.31*	0.09*	0.90	0.63	0.90*	0.53	
Cd + Cu	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	943.51	2,049.6	1,085.9	6,453.83	905.12	2,818.24	848.6	1,985.58	1,060.19	6,980.12	1,003.44	2,783.25
	S	835.91	175.64	79.46	762.77	81.29	255.23	528.19	192.85	68.42	754.52	117.14	280.83
	D	437.14	1,739.86	1,002.59	5,759.88	783.49	2,345.75	492.96	1,570.29	986.66	6,401.09	790.71	2,252.44
	M	2,838.87	2,220.17	1,238.68	8,313.68	1,067.66	3,176.23	2,054.07	2,171.31	1,194.67	8,771.28	1,196.04	3,168.42
p	0.57*	0.01*	0.53*	0.01*	0.16*	0.63	0.40*	0.02*	0.35	0.01*	0.17*	0.56	
Cd + Pb + Cu	n	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	x	587.13	2,074.83	1,071.14	6,263.05	874.76	2,986.6	642.19	1,994.88	1,054.99	6,789.02	955.71	2,915.68
	S	231.45	300.64	77.58	627.42	129.45	334.35	164.95	262.68	72.77	674.56	132.14	274.95
	D	392.36	1,772.43	963.07	5,004.02	754.72	2,583.91	459.74	1,742.32	954.85	5,442.47	851.31	2,641.43
	M	1,108.3	2,753.58	1,178.32	7,194.34	1,154.64	3,588.95	962.5	2,619.01	1,177.25	7,779.9	1,269.33	3,388.03
p	0.92*	0.06*	0.70*	0.04	0.051*	0.39	0.51*	0.047*	0.46	0.09	0.04*	0.66	

Tabla 47. (Continuación)

Zona de muestreo	Ca	K	Mg	Na	P	S	Referencia
Galicia	8	0.03	NA	NA	NA	NA	Taboada <i>et al.</i> , 2008
Galicia	0.04±5	0.036±1	0.056±9	0.218±90	0.314±95	NA	Fuentes <i>et al.</i> , 2009
Delta del Ebro	0.037±6	0.111±7	0.041±1	0.415±32	0.149±70	NA	
Valencia	0.082±4	0.139±5	0.091±10	0.449	0.239±18	NA	
Portugal (estuuario del río Tajo)	0.28-0.71	1.13-1.46	NA	NA	NA	1.81-2.26	Santos <i>et al.</i> , 2014
Italia (Mar Adriático)	0.003-0.007	0.0250-0.081	0.009-0.015	0.045-0.263	0.023-0.055	NA	Bongiorno <i>et al.</i> , 2015
Sudáfrica	3.70±0.05	0.43±0.02	NA	NA	NA	NA	Fatoki <i>et al.</i> , (2012)
Montenegro (Mar Adriático)	0.14-0.59	0.76-0.87	NA	NA	0.51-0.65	0.98-1.40	Jović <i>et al.</i> , (2011)
Galicia (Cabo Home)	0.04-0.11	0.17-0.30	0.09-0.11	0.57-0.66	0.09-0.17	0.23-0.25	Nuestro estudio peso húmedo peso seco
	0.28-0.79	1.19-2.13	0.63-0.82	4.09-4.62	0.62-1.21	1.68-2.50	

**Tabla 48.** Concentración de elementos traza mayoritarios ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ , peso seco) descritos en tejidos blandos de *Mytilus galloprovincialis* en estudios de monitorización. NA=no analizado.

Al comparar las concentraciones de estos elementos entre tejidos (Figura 30), observamos que en la glándula digestiva se encontraban las concentraciones más altas de K, P y S, y en las branquias las más altas de Na, mientras que Ca y Mg presentaban concentraciones similares en los diferentes tejidos, incluso más altas en branquia y resto que en glándula en el caso del Mg.

En cuanto a la distribución tisular (Tablas 49 y 50, Figura 31), todos los ETM se acumulaban principalmente en el resto de tejidos blandos. Por otro lado, la proporción entre glándula y branquia era parecida porcentualmente, excepto en el caso del Mg y Na, donde el porcentaje acumulado en branquia triplicaba al acumulado en glándula. A este respecto, no hemos encontrado en la bibliografía consultada estudios con los que poder comparar nuestros resultados a nivel de distribución en tejidos.

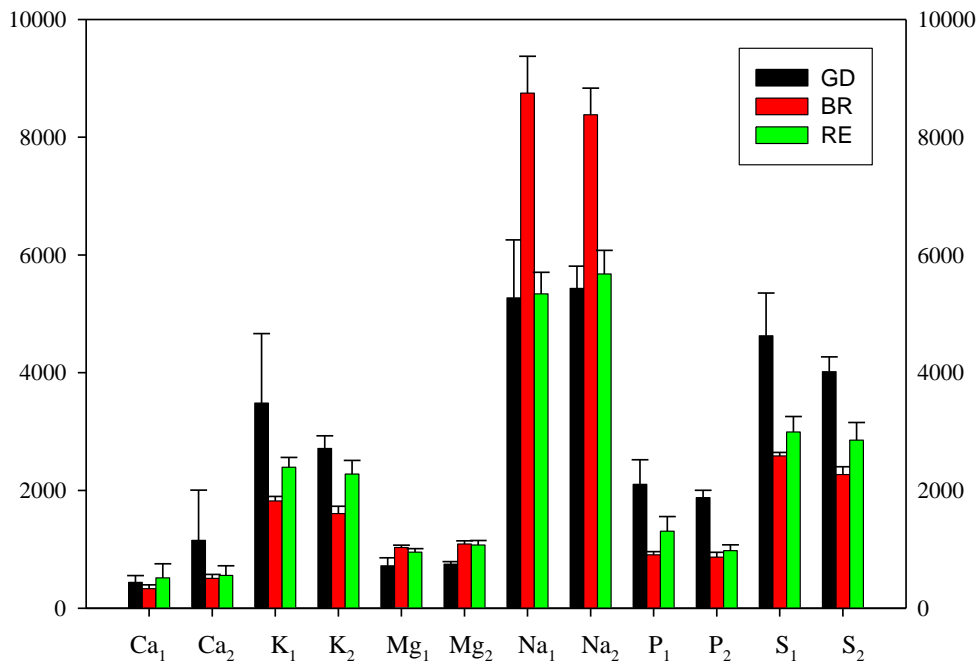
Tejido	Metal	CONTROL					Pb						Cu						Pb+Cu					
		n	x	SD	Mín.	Máy.	n	x	SD	mín.	Máy.	p	n	x	SD	mín.	Máy.	p	n	x	SD	mín.	Máy.	p
GD	Ca	9	11.37	3.15	5.74	17.03	9	12.88	3.55	9.39	19.28	0.35	9	9.98	2.87	4.16	14.50	0.34	9	10.39	3.58	3.28	14.69	0.55
	K	9	16.29	4.36	11.84	26.19	9	16.26	5.37	12.02	29.95	0.76*	9	15.79	3.83	10.78	23.99	0.80	9	16.57	3.99	11.91	25.80	0.89
	Mg	9	8.87	2.26	6.39	13.68	9	9.16	3.04	6.25	16.27	0.90*	9	8.33	2.07	5.54	11.38	0.60	9	9.18	2.72	5.93	14.89	0.80
	Na	9	9.98	1.76	7.63	13.51	9	10.61	3.18	7.10	17.89	0.61	9	9.54	1.70	7.34	12.27	0.60	9	10.24	2.61	6.90	15.51	0.80
	P	9	18.33	4.60	12.44	24.45	9	18.84	4.56	14.10	29.52	0.82	9	17.08	2.65	13.76	20.73	0.49	9	18.12	3.28	12.50	23.56	0.91
	S	9	16.93	2.63	14.56	21.95	9	17.42	3.03	14.80	24.95	0.63*	9	16.75	2.20	12.42	19.54	0.88	9	17.46	2.38	14.27	20.38	0.66
BR	Ca	9	13.63	4.78	6.42	24.35	9	14.16	3.75	5.90	17.55	0.80	9	14.53	5.20	5.00	20.98	0.71	9	12.13	5.30	3.66	18.23	0.54
	K	9	14.36	1.83	11.46	17.09	9	14.67	2.46	10.68	17.95	0.76	9	14.95	2.76	12.13	20.12	0.60	9	13.59	1.74	11.18	16.86	0.38
	Mg	9	20.44	2.50	16.18	23.00	9	21.67	3.10	17.05	25.82	0.37	9	22.05	4.32	16.93	30.18	0.35	9	20.05	2.89	13.84	24.75	0.77
	Na	9	27.48	2.99	21.03	31.39	9	29.63	3.04	25.79	33.43	0.15	9	29.47	5.31	25.75	41.16	0.90*	9	27.65	3.15	24.68	34.61	0.91
	P	9	13.32	2.92	8.37	17.50	9	13.99	2.19	11.23	18.02	0.59	9	13.54	3.43	9.18	20.16	0.89	9	12.04	1.94	9.05	14.90	0.29
	S	9	15.68	1.47	12.80	18.01	9	16.27	2.58	12.79	19.62	0.56	9	16.43	2.84	14.22	21.66	0.76*	9	15.09	2.19	11.86	19.02	0.51
RE	Ca	9	75.00	6.51	64.69	84.45	9	72.95	5.89	63.46	84.71	0.50	9	75.49	7.67	65.43	90.84	0.89	9	77.48	7.98	71.51	92.60	0.83*
	K	9	69.36	4.93	60.77	75.45	9	69.07	4.30	59.38	72.75	0.90*	9	69.26	5.74	61.13	77.09	0.97	9	69.83	4.19	61.87	75.44	0.83
	Mg	9	70.69	3.98	65.90	75.97	9	69.17	2.72	64.09	72.29	0.36	9	69.62	6.20	58.45	76.36	0.67	9	70.78	4.75	63.83	80.04	0.97
	Na	9	62.54	3.46	58.47	70.00	9	59.77	2.72	55.54	63.07	0.08	9	60.99	6.67	47.15	65.98	0.69*	9	62.11	3.97	55.23	66.99	0.81
	P	9	68.35	6.75	59.91	78.45	9	67.18	4.78	58.10	71.16	0.76*	9	69.39	5.76	59.11	77.06	0.73	9	69.84	4.45	64.09	77.10	0.59
	S	9	67.39	3.00	63.63	71.96	9	66.31	2.90	61.39	70.43	0.45	9	66.82	4.66	58.80	73.24	0.76	9	67.45	3.53	63.11	73.87	0.97

**Tabla 49.** Porcentaje de elementos traza mayoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. *p*=comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).

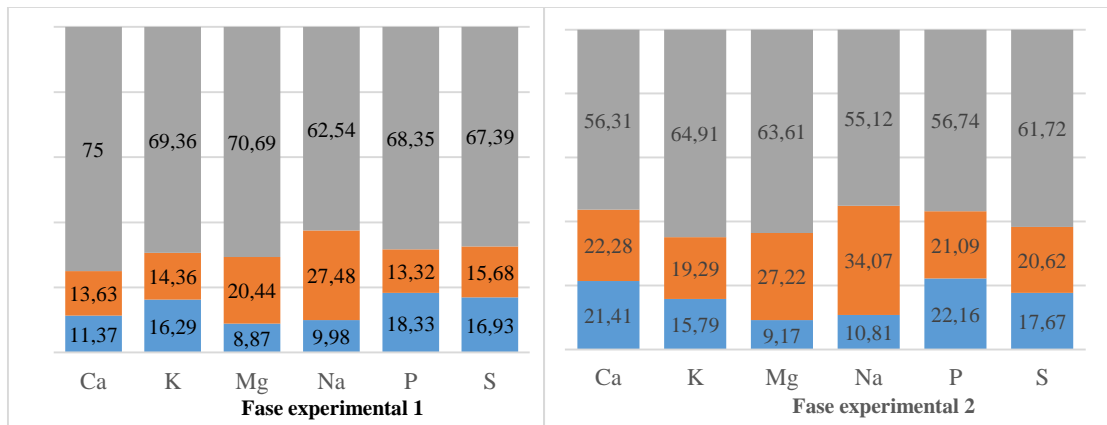
Tejido	Metal	CONTROL					Cd					Cd+Pb					Cd+Cu					Cd+Pb+Cu								
		n	x	SD	mín.	Máx.	n	x	SD	mín.	Máx.	p	n	x	SD	mín.	Máx.	p	n	x	SD	mín.	Máx.	p	n	x	SD	mín.	Máx.	p
GD	Ca	9	21.41	4.04	13.41	27.99	9	20.32	5.17	15.10	30.96	0.62	9	16.03	7.48	4.67	28.11	0.08	9	18.48	10.05	5.42	37.43	0.43	9	16.58	3.67	9.11	21.22	0.02
	K	9	15.79	1.84	12.77	17.99	9	15.57	3.12	9.96	19.71	0.85	9	15.60	2.32	12.57	20.39	0.85	9	15.82	3.16	9.55	21.33	0.98	9	12.29	2.64	8.42	15.86	0.01
	Mg	9	9.17	1.54	6.65	11.56	9	9.21	2.00	7.18	13.12	0.97	9	8.66	1.71	6.24	12.30	0.51	9	8.76	1.43	6.13	11.35	0.57	9	7.50	1.54	4.69	9.31	0.04
	Na	9	10.81	1.92	7.96	14.01	9	11.09	2.18	8.37	15.85	0.77	9	10.76	2.48	7.59	15.15	0.96	9	9.77	1.78	6.13	12.70	0.25	9	8.57	1.73	5.33	10.96	0.02
	P	9	22.16	1.91	18.63	24.27	9	21.90	3.71	15.72	27.99	0.85	9	22.93	2.85	19.38	27.73	0.51	9	21.21	3.74	12.86	24.84	0.51	9	18.71	3.08	13.26	22.17	0.01
	S	9	17.67	1.96	13.63	19.56	9	17.11	2.95	11.25	21.81	0.64	9	19.28	4.05	14.41	25.69	0.30	9	17.10	3.15	10.70	20.58	0.65	9	13.69	3.11	8.83	17.42	0.01
BR	Ca	9	22.28	3.79	13.60	26.12	9	20.56	3.12	15.45	24.82	0.31	9	20.24	6.78	5.63	28.91	0.44	9	22.16	7.06	7.63	32.01	0.96	9	21.79	5.06	14.01	27.47	0.82
	K	9	19.29	1.98	16.75	21.95	9	19.46	2.48	16.23	22.13	0.88	9	20.75	3.05	16.13	25.29	0.25	9	21.99	3.90	14.16	26.47	0.08	9	16.13	3.53	12.42	21.73	0.03
	Mg	9	27.22	2.02	24.35	30.21	9	26.96	3.88	19.63	32.02	0.86	9	27.69	3.24	22.81	33.01	0.72	9	29.29	4.54	19.24	34.52	0.23	9	22.10	4.63	15.90	30.52	0.01
	Na	9	34.07	3.10	28.37	38.75	9	32.28	5.99	21.19	40.55	0.44	9	34.12	3.31	29.30	40.57	0.98	9	34.33	4.62	24.73	39.52	0.89	9	27.79	6.13	19.35	39.75	0.01
	P	9	21.09	2.18	17.23	24.37	9	21.97	2.55	19.02	25.43	0.45	9	23.70	2.73	18.11	26.43	0.04	9	23.23	3.72	15.83	27.36	0.16	9	17.26	3.31	12.79	22.07	0.01
	S	9	20.62	2.43	16.62	23.36	9	20.38	3.01	15.79	24.79	0.86	9	22.11	2.87	17.17	26.90	0.25	9	22.15	4.27	14.28	28.96	0.36	9	15.56	2.89	12.06	20.17	0.00
RE	Ca	9	56.31	4.66	49.63	65.68	9	59.12	5.36	51.95	67.78	0.25	9	63.73	12.37	49.33	89.70	0.11	9	59.36	15.56	37.36	86.95	0.59	9	61.63	6.28	54.12	74.46	0.06
	K	9	64.91	2.13	61.96	69.09	9	64.98	3.50	58.86	70.38	0.96	9	63.65	4.25	58.04	68.91	0.44	9	62.19	4.00	56.64	69.83	0.09	9	71.58	5.59	64.85	78.87	0.01
	Mg	9	63.61	2.43	60.39	67.59	9	63.83	4.69	56.56	72.18	0.90	9	63.65	4.14	57.99	69.13	0.98	9	61.95	4.05	58.83	71.45	0.06*	9	70.40	5.53	61.37	78.29	0.00
	Na	9	55.12	3.87	50.80	60.22	9	56.63	6.62	49.29	68.88	0.56	9	55.12	4.92	49.29	63.11	1.00	9	55.90	4.30	51.82	64.98	0.69	9	63.64	7.02	50.84	73.86	0.01
	P	9	56.74	2.95	53.55	62.37	9	56.13	3.73	49.44	61.08	0.71	9	53.37	4.80	45.83	61.78	0.09	9	55.56	3.90	49.02	59.79	0.48	9	64.03	5.94	55.76	72.23	0.01
	S	9	61.72	3.05	57.94	67.99	9	62.51	3.31	57.66	67.43	0.61	9	58.61	6.27	49.70	66.95	0.21	9	60.75	4.24	55.92	69.47	0.59	9	70.75	5.40	63.72	77.46	0.00

Tabla 50. Porcentaje de elementos traza mayoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición para cada tratamiento. Fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. p=comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student).





**Figura 30.** Concentración de elementos traza mayoritarios ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón (grupos control). Los subíndices hacen referencia a cada fase experimental (1 y 2). GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.



**Figura 31.** Porcentaje de elementos traza mayoritarios en los diferentes compartimentos analizados de los grupos control. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

#### IV.6.1.2. Grupos de exposición

El elemento en el que se observaron más diferencias estadísticamente significativas fue el K, seguido del Na y P, mientras que Ca, S y Mg fueron los que menos diferencias presentaron (Tablas 46 y 47). El grupo expuesto a la mezcla ternaria fue en el que había más ETM con diferencias estadísticamente significativas con respecto a su grupo control, seguido por el grupo expuesto a la mezcla Cd+Cu y Cd+Pb, mientras que en los grupos expuestos a Pb y Cd no se observaron diferencias significativas en las concentraciones de ETM. A nivel de tejidos, la glándula digestiva fue en el que menos diferencias significativas con respecto al control se apreciaron, siendo en la totalidad de los tejidos blandos donde más diferencias se observaron.

Respecto al Ca podemos decir que excepto en la exposición a Pb, su concentración aumentó levemente ( $p>0.05$ ) en el total de tejidos blandos de todos los grupos respecto a los grupos control (Tablas 46 y 47, Figura 32). Con relación a los tejidos cabe decir que la concentración de este mineral solo aumentó de forma significativa ( $p=0.01$ ) en el caso de la branquia de la mezcla ternaria (Tabla 47, Fig. 32). Por otra parte, en algunos tratamientos (Pb, Cu, Pb+Cu y Cd+Pb) las concentraciones de Ca en el resto superaron las encontradas en glándula y branquia, alterando por consiguiente, su distribución tisular (Figura 33).

Son escasos los estudios experimentales en los que se evalúa la interferencia que un metal pesado produce sobre otros elementos esenciales, y menos aún en el caso de exposiciones combinadas. Así pues y para el caso de exposiciones a Cd, nuestros resultados no coinciden por lo descrito por otros autores (Sheir *et al.*, 2013) sobre mejillones de la especie *M. edulis* expuestos a este metal durante 8 días a una dosis 5 veces más baja que la utilizada en nuestro estudio, los cuales indican que se produce una disminución de las concentraciones de Ca, tanto en branquia como en glándula digestiva debido a diferentes lesiones tisulares. Por otro lado, nuestros resultados tampoco coinciden con lo descrito por Jorge *et al.* (2013), los cuales no encontraron diferencias significativas en la concentración de Ca sobre el total de tejidos blandos en mejillones de la especie *Lampsilis siliquoidea* expuestos a Cu. Al hecho de que se trataba de una especie diferente, con tiempos de exposición mayores (28 días) y concentraciones de Cu inferiores (2 y 12 µg

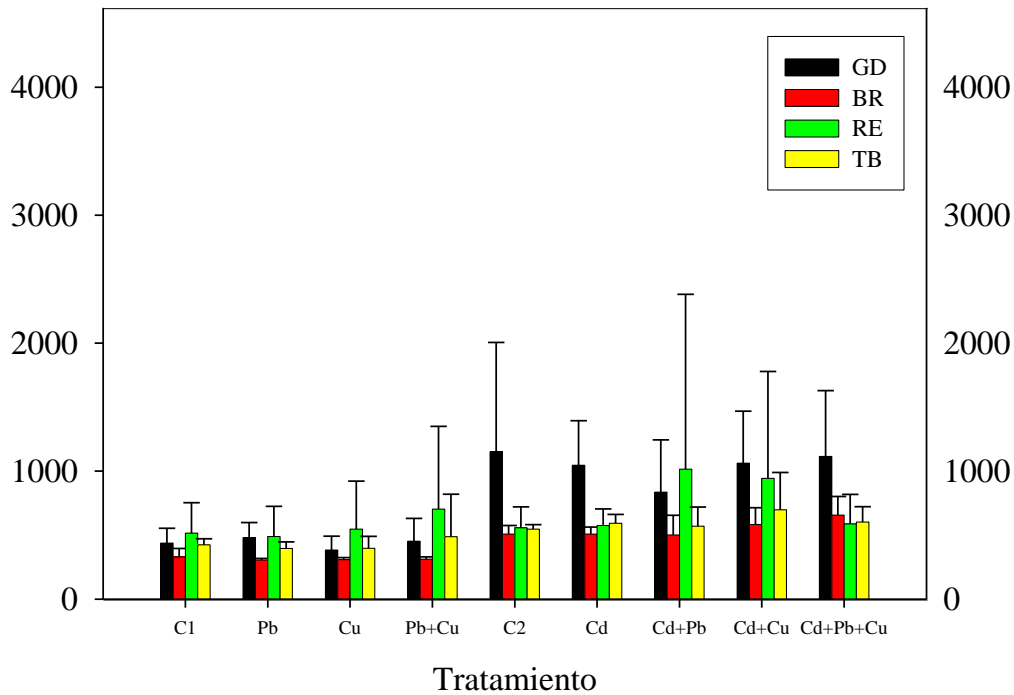
L<sup>-1</sup>), se une la particularidad de que en nuestro estudio las diferencias entre el grupo control y el grupo tratado con Cu eran reducidas.

Cd y Pb son dos metales análogos al Ca, compitiendo con él por los sitios de unión en la branquia de los peces (Macdonald *et al.*, 2002; Rogers *et al.*, 2003; Playle, 2004). Diversos estudios muestran que esta competencia puede conllevar una reducción de la tasa de absorción del Ca (Niyogi y Wood, 2004; Rogers y Wood, 2004; Rainbow y Black, 2005), culminando con disturbios iónicos y osmóticos que contribuyen a la toxicidad de estos metales (Playle, 2004). En ostras, Huanxin *et al.* (2000) describen que el Ca es fácilmente sustituido por el Cd, produciendo incluso necrosis celular, mientras que diferentes estudios en peces y moluscos bivalvos muestran diversas alteraciones asociadas a la homeostasis y fisiología del Ca (Neff *et al.*, 1987; Sunila, 1988; Orrenius *et al.*, 1989; Schoenmakers *et al.*, 1992; Da Ros *et al.*, 1995). Sin embargo en nuestro estudio, tras la exposición a estos metales no se produjo una disminución de la concentración del Ca. En *M. galloprovincialis*, son pocos los estudios que en los que se evalúa la bioacumulación de ETM tras una exposición a metales pesados. No obstante, estudios realizados por nuestro grupo de investigación (datos no publicados) muestran una disminución significativa en la concentración de Ca tras la exposición con Cd en varias combinaciones dosis/tiempo (3 días 50 µg L<sup>-1</sup> y 9 días a 50 y 150 µg L<sup>-1</sup>). La única variable a tener en cuenta que pudiera arrojar alguna luz sobre este comportamiento en la acumulación del Ca es la diferente temperatura a la que se realizaron los experimentos (16 vs 25°C), aunque tampoco hemos encontrado publicaciones sobre estudios a este nivel.

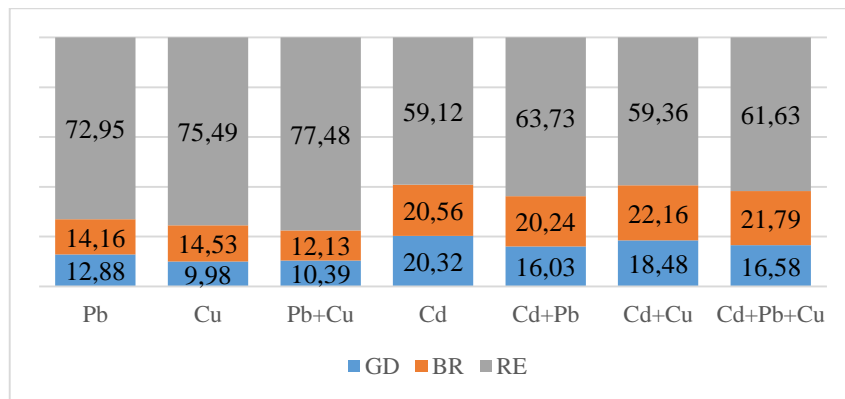
Respecto a las diferencias entre formas de exposición (individual vs mezclas), algunos estudios indican que los desequilibrios iónicos producidos por mezclas binarias de Cd y Pb son mayores que las provocadas por exposiciones simples (Kara, 2000; Clemow *et al.*, 2015; Van Ginneken *et al.*, 2015), lo cual podría justificar el aumento significativo de Ca encontrado en branquia de los grupos expuestos a la mezcla ternaria, aunque sería necesario realizar pruebas a diferentes temperaturas para comprobar si se trata de un efecto modulado por la temperatura o por la complejidad de la mezcla.

Respecto a la distribución tisular del Ca, observamos que los tratamientos con Cd alteraban la distribución entre los tejidos, disminuyendo los porcentajes en glándula y en

branquia y aumentando en el resto, aunque solo fue significativo en glándula de la mezcla ternaria (Figura 33). De acuerdo con estudios realizados por Sheir *et al.* (2013), la necrosis tisular provoca una disminución del peso de la branquia, y aunque la concentración de Ca en este tejido fue mayor, el porcentaje de Ca acumulado sobre el total del organismo era significativamente menor que el grupo control (Figura 31).



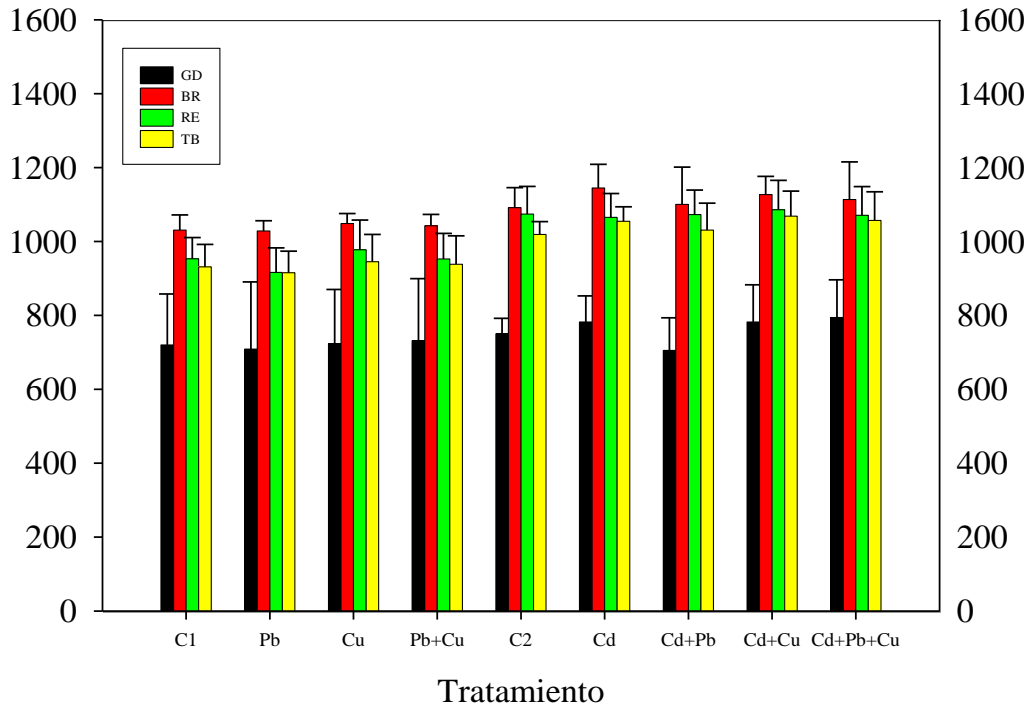
**Figura 32.** Concentración de Ca ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos.



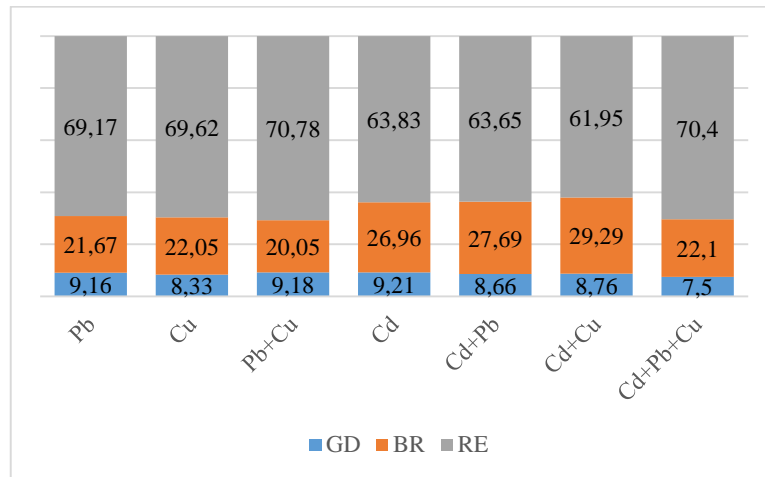
**Figura 33.** Porcentaje de Ca en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

En el caso del Mg observamos que la concentración era muy similar en todos los tratamientos, tanto en el total de tejidos blandos como en cada uno de los tejidos analizados, aunque hubo un ligero aumento ( $p=0.05$ ) en el caso de la branquia del grupo tratado con la mezcla Pb+Cu (Tabla 46). Esto coincide con los resultados obtenidos por Jorge *et al.* (2013) en mejillones juveniles de la especie *Lampsilis siliquoidea*, donde la exposición a Cu tampoco originó variaciones en la concentración de Mg. No hemos encontrado datos relativos a cambios en la concentración de este elemento en experimentos de exposición a Pb o Cd, salvo el ya citado de nuestro grupo. En dicho estudio, la concentración de Mg disminuyó significativamente, lo cual no coincide con nuestros resultados, aunque como ya se ha dicho anteriormente, la temperatura de exposición fue diferente.

Respecto a la distribución de Mg en los diferentes compartimentos seleccionados, sí que encontramos diferencias significativas en todos los tejidos de los individuos expuestos a la mezcla ternaria respecto al grupo control, disminuyendo el porcentaje en glándula y branquia y aumentando en el resto de tejidos blandos (Tabla 50, Figuras 34 y 35). El Mg es un elemento esencial involucrado en diferentes funciones orgánicas y estructurales (Rosenberg y Hughes, 1991; Klein *et al.*, 1996; Stecher *et al.*, 1996; Aranda *et al.*, 2000). Una de las más importantes está relacionada con la musculatura lisa de los moluscos (Hooper *et al.*, 2008), por lo que es posible que en situaciones de exposición a mezclas complejas como la ternaria, se produzca una redistribución del Mg hacia el compartimento que hemos denominado resto, donde está la musculatura del mejillón.



**Figura 34.** Concentración de Mg ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos.

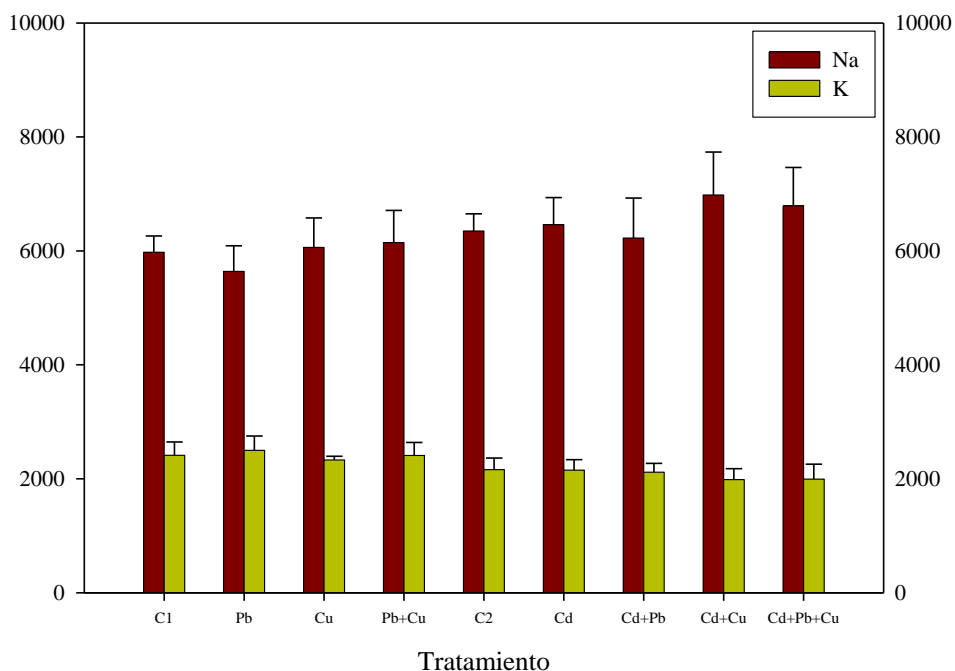


**Figura 35.** Porcentaje de Mg en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

La concentración de K en el total de tejidos blandos disminuyó significativamente en los grupos expuestos a Cd+Cu y a la mezcla ternaria, mientras que la concentración de Na aumentó de forma significativa en el grupo expuesto a Cd+Cu y marginalmente en el grupo expuesto a la mezcla ternaria (Tabla 47, Figura 36). En los tejidos de estos mismos grupos, si bien la tendencia era la misma que la observada en la totalidad de tejidos blandos, solo se observaron diferencias estadísticamente significativas en la glándula digestiva (concentración de K en individuos expuestos a la mezcla ternaria) y en el resto (concentración de Na y K en mejillones expuestos a Cd+Cu, concentración de Na en individuos expuestos a la mezcla ternaria, y marginalmente significativa en la concentración de K en individuos expuestos a la mezcla ternaria) (Tabla 47, Figuras 37 y 38). Sin ser estadísticamente significativo, en el total de tejidos blandos de los mejillones expuestos a Cu y a Cd observamos igual tendencia para ambos elementos, mientras que en el grupo expuesto a Pb la tendencia era a la inversa (aumento de la concentración de K y disminución de la concentración de Na). Esta tendencia se mantuvo también en glándula, branquia y resto en estos grupos, excepto en la branquia del grupo expuesto a Cd. Finalmente, la tendencia en el grupo expuesto a Pb+Cu era al aumento (para ambos elementos) mientras que en el grupo expuesto a Cd+Pb era a la disminución. Como podemos apreciar, parece existir un distinto comportamiento en función de la presencia de Cd y/o Cu, o bien de Pb.

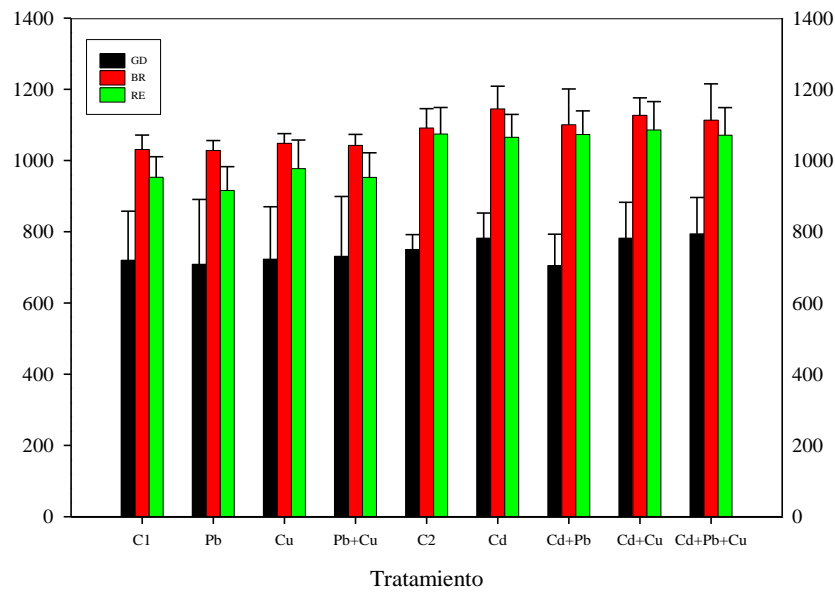
La bomba Na-K es una proteína integral de membrana, fundamental en la fisiología de la célula. Su función es el transporte de los iones más importantes en biología: el Na y el K, y regula por tanto, el balance iónico. La exposición a metales pesados origina desequilibrios iónicos que pueden alterar este equilibrio. Según algunos autores, metales como el Cu y el Pb pueden inhibir la absorción del Na en otras especies marinas como *Oncorhynchus mykiss* y *Daphnia magna* (De Schamphelaere y Janssen, 2002; Grosell y Wood, 2002; Rogers *et al.*, 2005), y metales como el Cd en almejas (*Anodonta cynegea*) y peces (*Platichthys flesus*) pueden disminuir las concentraciones de K (Larsson *et al.*, 1981; Hemelraad *et al.*, 1990). Esto podría explicar parcialmente lo encontrado en nuestro estudio, pues en los grupos expuestos a la mezcla binaria Cd+Cu y a la mezcla ternaria se veía claramente este efecto (disminución significativa de la concentración de K), mientras que la concentración de Na no disminuyó, sino que aumentó de forma significativa o marginalmente significativa, lo cual sí que podría interpretarse igualmente como un desequilibrio iónico. A este respecto cabe mencionar que lo que hacen metales como el

Cu y el Cd es afectar a enzimas como la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa y la anhidrasa carbónica, ambas implicadas en la absorción del Na en la branquia (Postel *et al.*, 1998; Atli y Canli, 2007; Birceanu *et al.*, 2008; Jorge *et al.*, 2013; Nogueira *et al.*, 2013). En nuestro estudio las concentraciones de estos elementos en las branquias de los grupos expuestos a Cd+Cu y a la mezcla ternaria no se alteraron de forma significativa, lo cual podría justificar *a priori* un adecuado funcionamiento de estas enzimas a este nivel y por tanto, que no disminuyera la concentración de Na. Sin embargo, al evaluar la distribución porcentual de estos elementos, sí que observamos una disminución significativa del porcentaje de Na y K en branquia y glándula en el grupo expuesto a la mezcla ternaria (Tabla 50, Figuras 39 y 40), por lo que, aun no pudiendo explicar el aumento de concentración de Na en el grupo expuesto a Cd+Cu, podemos asumir que ciertas alteraciones se están produciendo en branquia, al menos en la exposición a la mezcla más compleja. Esto nos lleva pues a pensar en la utilidad de determinar, no solo concentraciones tisulares, sino también distribución de los elementos en los diferentes compartimentos.

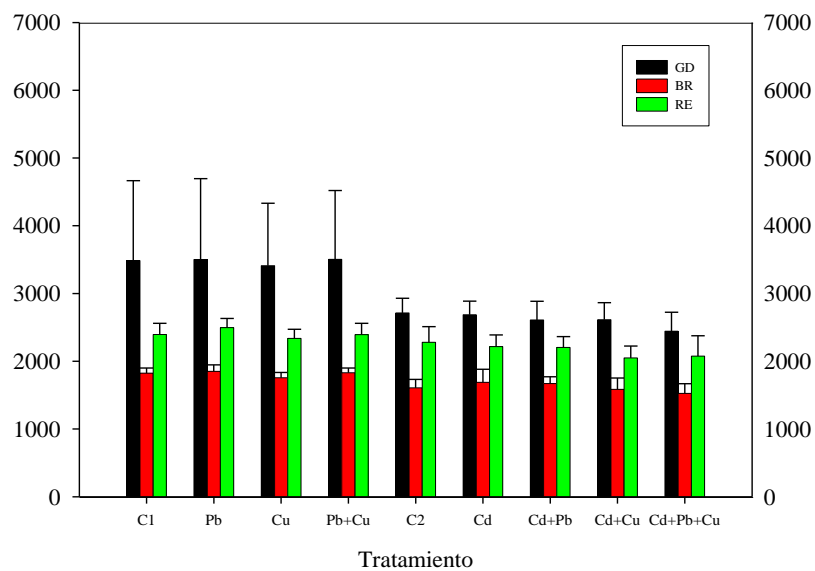


**Figura 36.** Concentración de Na y K ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en el total de tejidos blandos de mejillón, para todos los grupos de exposición.

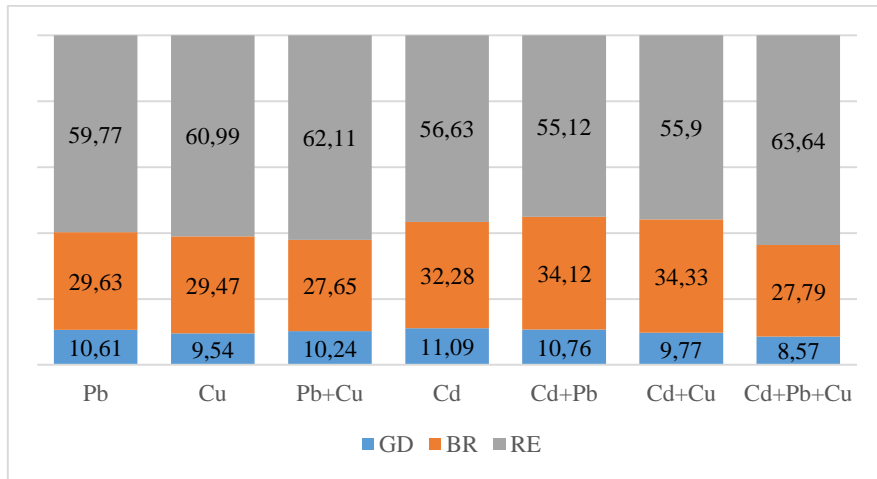




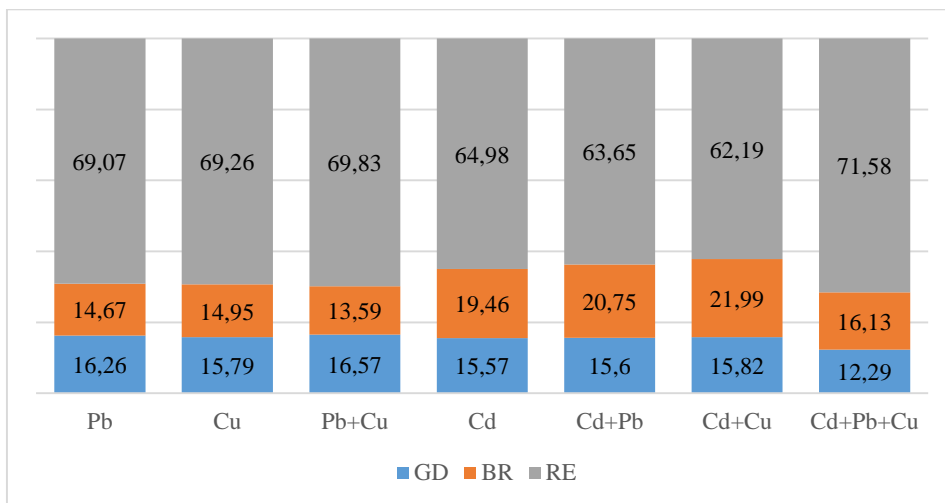
**Figura 37.** Concentración de Na ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.



**Figura 38.** Concentración de K ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.



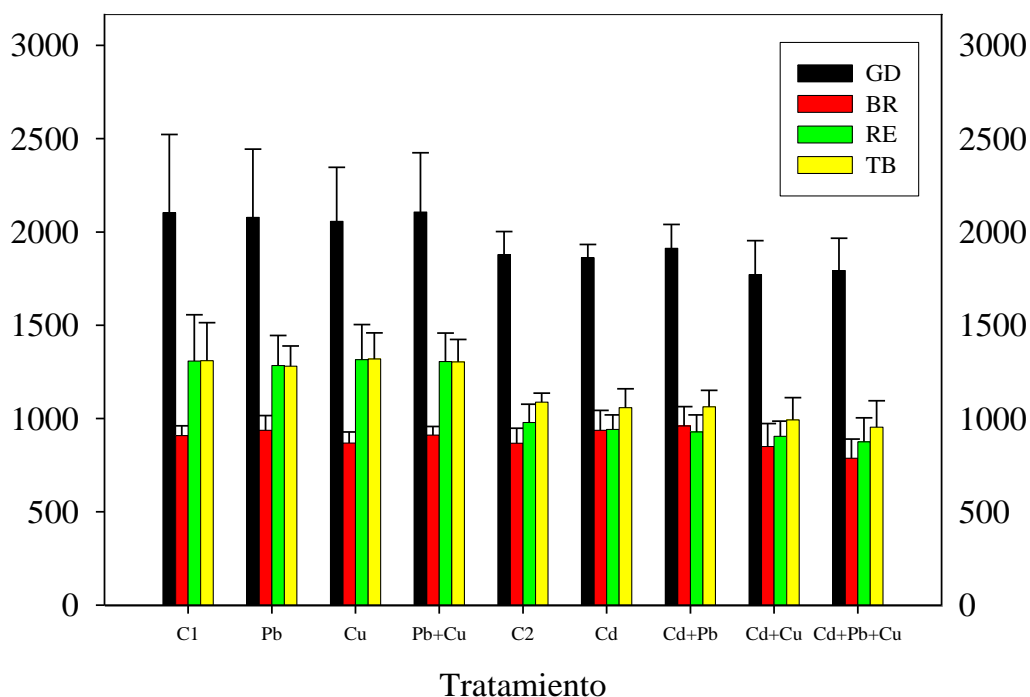
**Figura 39.** Porcentaje de Na en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.



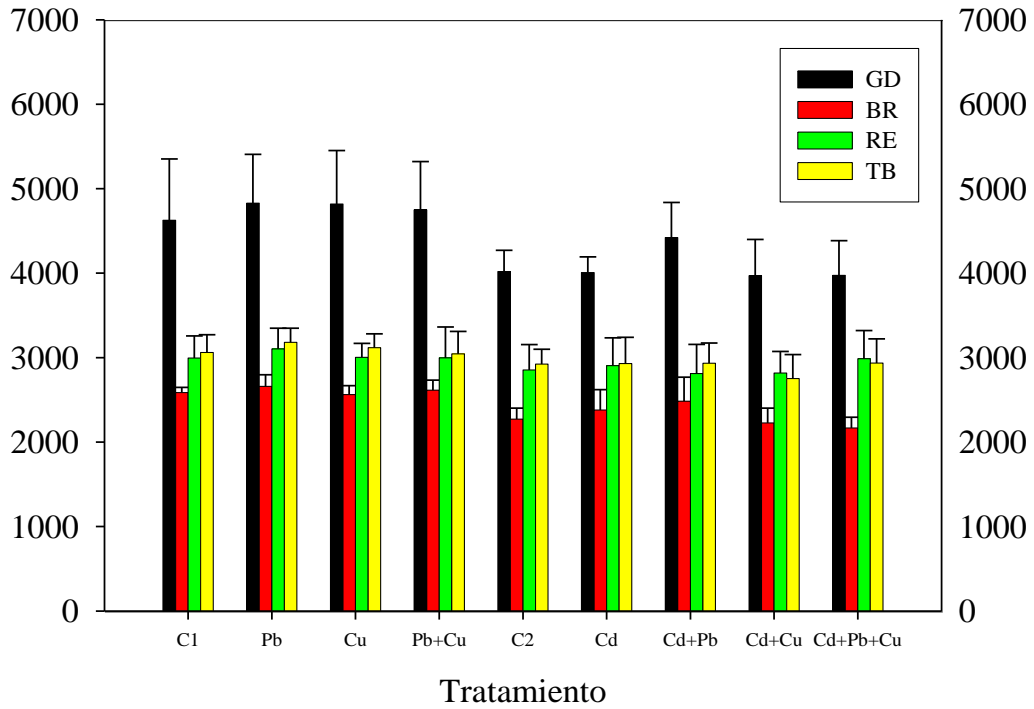
**Figura 40.** Porcentaje de K en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

Fósforo y azufre son dos elementos importantes en los sistemas de desintoxicación por metales pesados en algunos bivalvos (George y Pirie, 1979; Giambérini y Pihan, 1996; Marigómez *et al.*, 2002). En nuestro estudio, las concentraciones de P encontradas sobre la totalidad de los tejidos blandos de los grupos expuestos a metales fueron similares a las de los grupos control, excepto en los individuos expuestos a la mezcla ternaria, donde disminuyeron significativamente ( $p=0.04$ ). En los tejidos, las diferencias fueron marginalmente significativas, tanto en la branquia de los individuos expuestos a la mezcla Cd+Pb (donde la concentración de P aumentó con respecto al grupo control), como en branquia y resto de tejidos blandos de los individuos expuestos a la mezcla ternaria (donde dicha concentración disminuyó) (Tablas 46 y 47, Figura 41). Respecto al S (Figura 42), no encontramos diferencias significativas en cuanto a las concentraciones de este elemento sobre el total de tejidos blandos ni sobre los diferentes tejidos de los diferentes grupos de exposición, excepto en la glándula del grupo tratado con Cd+Pb donde aumentó significativamente su concentración ( $p=0.02$ ). Por tanto, en el grupo expuesto a la mezcla binaria Cd+Pb se produjo un aumento significativo en la concentración de P en branquia y de S en glándula. A este respecto cabe decir que en un estudio experimental efectuado sobre caracol de estanque (*Lymnaea stagnalis*), Desouky (2006) muestra un aumento en la cantidad de ligandos a base de P y S en gránulos de diversos tejidos para el secuestro de metales como el Cd. En nuestro estudio hemos encontrado un aumento no significativo en las concentraciones tisulares de P y S en los tejidos de varios de los grupos expuestos, por lo que podríamos pensar que también en *M. galloprovincialis* se puede estar produciendo un estímulo en la síntesis de gránulos lisosomales a base de P y S para el secuestro de metales, aunque quizá la singularidad de la exposición individual y la presencia de Cd en las otras dos mezclas binarias amortigüen este estímulo, mientras que en la mezcla ternaria, se produce el fracaso del mismo. Si bien esto es mera especulación, podríamos encontrarnos con una especiación tisular en la generación de tales gránulos: P en branquia y S en glándula. A nivel bibliográfico hemos encontrado algunas publicaciones en las que se referencian las cantidades de P en mejillón como aspecto nutricional (Rivero, 2006), pero no hemos encontrado publicaciones relativas a estudios de biomonitorización o a exposiciones experimentales en las que se determine la concentración tisular de estos elementos. Tomando como base dicha composición nutricional, la concentración de P encontrada en nuestro estudio estaba dentro de los valores normales.

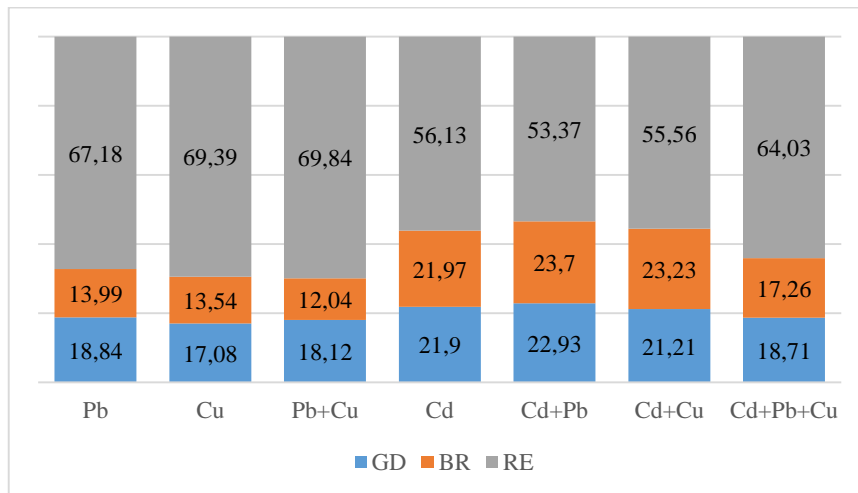
Con respecto a la distribución de estos elementos en los diferentes compartimentos tisulares, comprobamos que para ambos existían diferencias estadísticamente significativas en todos los tejidos del grupo expuesto a la mezcla ternaria, disminuyendo las cantidades totales en glándula y branquia y aumentando en el resto (Tabla 50, Figuras 43 y 44). De nuevo fue la mezcla más compleja la que marcó estas diferencias, no observándose cambios a este nivel en los individuos expuestos a la mezcla binaria Cd+Pb. Al igual que en casos anteriores, quizá la pérdida de peso en los tejidos de los individuos expuestos a la mezcla ternaria explique estos resultados.



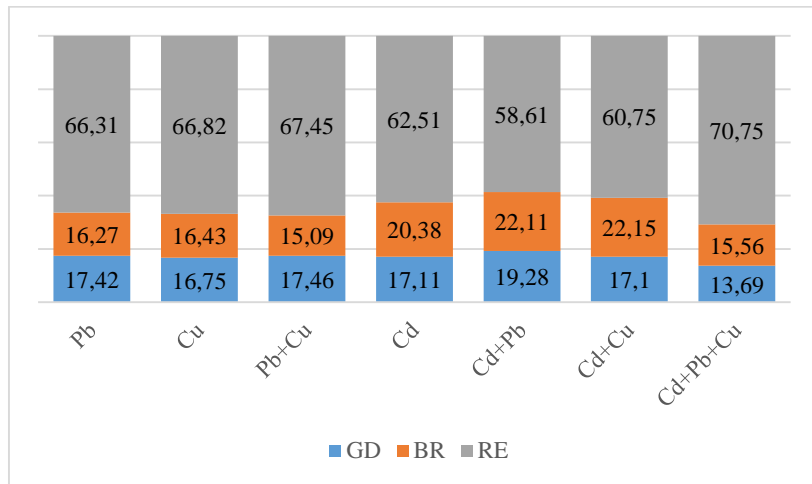
**Figura 41.** Concentración de P (mg Kg<sup>-1</sup>, peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos.



**Figura 42.** Concentración de S ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso fresco) en tejidos blandos de mejillón para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos.



**Figura 43.** Porcentaje de P en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.



**Figura 44.** Porcentaje de S en los diferentes compartimentos analizados para todos los grupos de exposición. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

## IV.6.2. Concentración y distribución de ETm

### IV.6.2.1. Grupos control

De los 19 elementos correspondientes a este grupo, uno de ellos (Bi) no fue detectado en ninguna de las muestras analizadas de los grupos control, mientras que otros (Be y Sb) fueron detectados en un número muy reducido de muestras y en cantidades muy pequeñas (Tablas 51 y 52). El Tl no fue detectado en glándula digestiva y el V se detectó en muy pocas muestras de glándula digestiva y de branquia. Finalmente las cantidades detectadas de Li fueron muy reducidas, no detectándose en tejidos del grupo control de la fase experimental 1. Por todo ello, algunos de estos elementos no han sido considerados en la evaluación de efectos (Be, Bi, Sb), o bien lo han sido con las correspondientes limitaciones de la información disponible (Li, Tl, V).

Con respecto al resto de elementos analizados observamos que en todos los casos, los elementos cuya concentración estaba por encima de  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  mantenían el mismo orden decreciente ( $\text{Zn} > \text{Fe} > \text{Sr} > \text{B} > \text{Mn}$ ), excepto en la branquia, donde el orden de los dos últimos ( $\text{B} < \text{Mn}$ ) se intercambiaba. En el caso del Zn y Fe, la concentración fue superior en glándula digestiva que en branquia, mientras que en el Sr, B y Mn las concentraciones en ambos tejidos fueron similares. El As se mantuvo en todos los casos entre 1 y  $5 \text{ mg kg}^{-1}$ , siendo su concentración ligeramente superior en glándula digestiva, mientras que el Tl lo hizo también en este rango excepto en la glándula digestiva, donde su concentración era inferior a  $1 \text{ mg kg}^{-1}$ . Además, la branquia presentó mayor concentración de este último elemento que la glándula digestiva. En el caso del Se, su concentración estuvo comprendida en todos los casos, entre 0.1 y  $1.0 \text{ mg kg}^{-1}$ , siendo muy similares las concentraciones en branquia y en glándula, aunque ligeramente superiores en ésta. Por su parte, el V fue detectado en concentraciones inferiores a  $0.1 \text{ mg kg}^{-1}$ , siendo también similares las concentraciones en ambos órganos. Las concentraciones del resto de elementos (Al, Co, Cr, Li, Mo, Ni y Ti) fluctuaron entre 5.0 y  $0.01 \text{ mg kg}^{-1}$ , pudiendo observarse que se encontraban en mayor concentración en glándula digestiva, con concentraciones por encima de  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  en el caso del Al y entre 0.1 y  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  en el resto de elementos, aunque el Cr y el Ni llegaron a sobrepasar en algunos casos este valor.

		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	2	ND	9	9	9	9	1	9	9	9	ND	9	9	9	1	2	9
	<b>x</b>	4.98	3.73	0.02	-	5.83	0.24	1.36	43.98	0.17	5.41	0.32	0.38	-	0.60	7.51	0.10	0.68	0.05	55.25
	<b>SD</b>	7.75	0.64	0.01	-	1.45	0.14	2.12	13.38	.	1.47	0.14	0.24	-	0.08	1.87	0.06	.	0.06	19.51
	<b>mín.</b>	1.18	3.21	0.01	-	4.62	0.10	0.36	29.26	0.17	4.57	0.21	0.07	-	0.46	5.62	0.04	0.68	0.01	30.11
	<b>Máx.</b>	25.34	5.24	0.03	-	9.14	0.51	6.89	71.73	0.17	9.24	0.67	0.81	-	0.72	12.27	0.19	0.68	0.09	86.09
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	ND	ND	9	9	9	9	ND	9	9	ND	ND	9	9	9	9	ND	9
	<b>x</b>	0.71	2.02	-	-	4.44	0.02	0.28	13.47	-	5.33	0.02	-	-	0.42	6.71	0.02	3.35	-	24.23
	<b>SD</b>	0.73	0.13	-	-	0.30	0.01	0.11	2.22	-	0.15	0.01	-	-	0.05	0.67	0.01	0.54	-	13.85
	<b>mín.</b>	0.04	1.84	-	-	3.90	0.01	0.19	10.02	-	5.10	0.01	-	-	0.32	6.29	0.01	2.57	-	8.59
	<b>Máx.</b>	2.23	2.26	-	-	4.89	0.02	0.56	17.22	-	5.59	0.04	-	-	0.48	8.38	0.05	4.50	-	45.85
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	ND	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	ND	9	9	9	9	5	9
	<b>x</b>	0.47	2.72	-	-	5.49	0.04	0.31	18.26	0.09	5.06	0.08	0.06	-	0.34	6.61	0.02	3.98	0.02	56.49
	<b>SD</b>	0.66	0.21	-	-	0.43	0.02	0.12	3.29	0.02	0.19	0.01	0.02	-	0.04	1.83	0.02	0.27	0.01	26.94
	<b>mín.</b>	0.06	2.51	-	-	4.83	0.02	0.20	15.22	0.06	4.76	0.06	0.04	-	0.25	5.50	0.01	3.71	0.01	29.51
	<b>Máx.</b>	2.09	3.16	-	-	6.20	0.07	0.54	24.77	0.12	5.32	0.10	0.10	-	0.39	11.38	0.08	4.46	0.03	110.69
<b>TB</b>	<b>n</b>	9	9	NE	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	ND	9	9	9	9	6	9
	<b>x</b>	0.95	2.70	-	-	5.33	0.05	0.41	20.26	0.07	5.15	0.10	0.09	-	0.38	6.74	0.03	3.41	0.01	49.88
	<b>SD</b>	1.05	0.17	-	-	0.49	0.02	0.22	3.51	0.01	0.28	0.02	0.04	-	0.03	1.45	0.02	0.31	0.01	21.51
	<b>mín.</b>	0.26	2.51	-	-	4.62	0.02	0.22	16.05	0.05	4.80	0.07	0.05	-	0.33	5.95	0.01	3.12	0.00	26.88
	<b>Máx.</b>	3.33	2.96	-	-	6.29	0.09	0.89	26.86	0.09	5.80	0.15	0.16	-	0.42	10.54	0.07	3.94	0.03	93.77

**Tabla 51.** Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón. Grupo control, fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; NE= datos no estimados.



		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	4	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	6	9	9	9	ND	4	9
	<b>x</b>	2.97	4.21	0.01	-	7.31	0.52	0.67	44.55	0.25	6.35	0.39	1.82	0.05	0.17	9.75	0.17	-	0.07	145.42
	<b>SD</b>	2.73	0.63	0.00	-	0.83	0.18	0.20	6.77	0.07	0.48	0.06	0.43	0.05	0.16	4.29	0.15	-	0.03	75.15
	<b>mín.</b>	1.50	3.13	0.01	-	6.01	0.29	0.44	35.06	0.13	5.83	0.32	1.00	0.01	0.01	6.51	0.07	-	0.04	57.54
	<b>Máx.</b>	10.12	5.36	0.01	-	8.54	0.80	1.02	57.25	0.33	7.43	0.49	2.37	0.13	0.41	20.76	0.56	-	0.11	290.04
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	1	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	3	9	9	9	9	3	9
	<b>x</b>	1.46	2.08	0.29	-	6.05	0.12	0.28	16.20	0.27	6.58	0.11	0.80	0.11	0.14	6.92	0.07	1.07	0.03	39.64
	<b>SD</b>	2.08	0.24	.	-	0.59	0.02	0.12	2.60	0.15	0.34	0.04	0.22	0.15	0.07	0.32	0.05	0.44	0.03	23.86
	<b>mín.</b>	0.37	1.80	0.29	-	5.29	0.07	0.20	12.07	0.19	5.94	0.09	0.49	0.01	0.03	6.36	0.04	0.24	0.01	12.10
	<b>Máx.</b>	6.86	2.47	0.29	-	7.04	0.16	0.58	20.14	0.66	7.21	0.21	1.08	0.28	0.25	7.55	0.20	1.63	0.07	75.61
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	ND	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	ND	9	9	9	9	7	9
	<b>x</b>	0.25	3.13	-	-	6.10	0.08	0.42	29.35	0.07	5.77	0.10	0.11	-	0.35	7.19	0.02	4.07	0.04	101.60
	<b>SD</b>	0.15	0.35	-	-	0.76	0.04	0.09	5.78	0.02	0.38	0.02	0.08	-	0.09	1.28	0.01	0.36	0.03	50.25
	<b>mín.</b>	0.09	2.59	-	-	4.99	0.02	0.32	21.78	0.04	5.31	0.07	0.05	-	0.23	6.25	0.01	3.56	0.01	32.14
	<b>Máx.</b>	0.46	3.68	-	-	7.21	0.14	0.55	38.18	0.11	6.36	0.13	0.30	-	0.51	10.41	0.05	4.70	0.10	180.03
<b>TB</b>	<b>n</b>	9	9	3	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	7	9	9	9	9	7	9
	<b>x</b>	0.80	2.99	0.03	-	6.24	0.14	0.41	27.83	0.15	6.04	0.14	0.50	0.02	0.27	7.40	0.05	2.79	0.03	90.88
	<b>SD</b>	0.56	0.32	0.04	-	0.62	0.04	0.08	4.42	0.04	0.31	0.02	0.10	0.02	0.08	1.20	0.02	0.31	0.02	38.71
	<b>mín.</b>	0.34	2.49	0.00	-	5.49	0.07	0.31	22.17	0.11	5.63	0.12	0.35	0.00	0.15	6.51	0.03	2.33	0.01	43.51
	<b>Máx.</b>	2.03	3.46	0.07	-	7.21	0.19	0.52	33.84	0.23	6.53	0.17	0.66	0.07	0.42	10.46	0.08	3.28	0.07	156.12

**Tabla 52.** Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup> peso húmedo) en tejidos de mejillón. Grupo control, fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; NE= datos no estimados

Finalmente y con respecto al tercero de los compartimentos analizados (resto de tejidos blandos) cabe decir que las concentraciones de Tl fueron mayores que en glándula y branquia; y en el caso del As, B, Cr, Fe, V y Zn las concentraciones encontradas en el resto superaron las de la branquia. Para el resto de elementos, las concentraciones en este compartimento eran inferiores a las de glándula y branquia, con algunas excepciones (Mo, Se y Sr).

El orden indicado para estos elementos coincide con el descrito por algunos autores (Fuentes *et al.*, 2009), aunque varían en otros estudios. Así por ejemplo, el Fe ha sido encontrado en mayor concentración que el Zn, el Al en mayor cantidad que el As y el Mo y el Al en mayor concentración que el Mn (Taboada *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2010b; Chi *et al.*, 2012; Richir *et al.*, 2012; Bongiorno *et al.*, 2015), lo que demuestra la gran variabilidad existente en esta especie así como la posible influencia que pueda ejercer factores internos como el tamaño de los mejillones, factores externos como la zona de estudio, o la variabilidad estacional (Fuentes *et al.*, 2009; Costas-Rodríguez *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2010b; Bongiorno *et al.*, 2015).

La Tabla 53 recoge los datos de ETm en tejidos blandos de *M. galloprovincialis* obtenidos por diversos autores. Como podemos observar, las concentraciones de Fe, Mn, Cr, Se y Ni, halladas en nuestros grupos control se encuentran dentro de los rangos referenciados, si bien para el caso del As y Zn, se encuentran en mayor concentración al rango medio, y en el caso del Co, Mo y V en un rango inferior. Para otros elementos (Be, Li, Ti y B), no hemos encontrado estudios con los cuales compararlos. En el caso de Al, Sb, Tl y Sr, existen pocas publicaciones en las que se analicen las concentraciones en esta especie, estando nuestros resultados en consonancia con estos, excepto en el caso del Al, donde la única referencia encontrada era muy superior a lo encontrado en nuestro estudio.

No hemos encontrado resultados de bioensayos en los que especifiquen las concentraciones de estos elementos en los diferentes tejidos de esta especie. En estudios de monitorización, solo hemos encontrado dos estudios en los que se referencian concentraciones de algunos de estos ETm (Regoli y Principato, 1995; Richir, 2012). En el primer caso, comprobamos que las concentraciones en branquia de As, Mn y Zn eran inferiores a las detectadas en nuestro estudio, y que las de Fe eran ligeramente superiores. Por otro lado, las concentraciones de As, Be, Co, Ni y Se encontradas en glándula eran

parecidas a las descritas por Richir (2012), aunque superiores en el caso de Cr, Mn Sb y Zn, e inferiores para el Fe, Mo y V. Por su parte, las concentraciones encontradas en branquia eran similares a las descritas por estos autores (As y Se), o superiores (Be, Cr, Mn, Ni, Sb y Zn), e inferiores en el caso de Al, Co, Mo y V.

Respecto a la distribución de estos elementos en los tres compartimentos considerados (glándula digestiva, branquia y resto de tejidos), las tablas 54 y 55 se recogen los resultados obtenidos en nuestro estudio. Como puede apreciarse, los elementos Al, As, Be Co, Cr, Fe, Mo, Ni Sb, Sr, Ti, V y Zn se distribuían preferentemente en glándula, mientras que B, Li, Mn, Se y Tl lo hacían en branquia, y el As se distribuía por igual en ambos compartimentos (Figuras 45 y 46). Tampoco en este caso hemos encontrado estudios con los cuales comparar la diferente distribución entre los compartimentos seleccionados.

Como puede apreciarse en la Tabla 70, en la mayoría de los casos fue la glándula digestiva el órgano que mayor concentración de ETm tenía.

Zona de muestreo	Al	As	Be	B	Co	Cr	Referencia
Mar Tirreno (Norte Italia)		9.65±1.51					Regoli, 1995
Mar Adriático (Montenegro)					11.71-14.63	0.74-2.40	Jović <i>et al.</i> , 2011
Mar Egeo (Turquía)						0.114-0.173	Kucuksezgin <i>et al.</i> , 2008
Mar Mediterráneo (Costa francesa)		20				1	RINBIO (2001) y Andral <i>et al.</i> , 2004
Galicia y Cantabria		6.39-13.3					Besada <i>et al.</i> , 2014
Mar Adriático (Sur de Italia)		6.35-76.17				0.96-9.46	Spada <i>et al.</i> , 2013
Mar Egeo (Turquía)						0.45-6.04	Çayir <i>et al.</i> , 2012
Galicia y Cantabria		14.6-31.5			0.4-69.3	2.6-6.1	Bartolomé <i>et al.</i> , 2010
Costa Mediterránea (España)		13-83					Fernández <i>et al.</i> , 2012b
Islas Baleares		6.02-11.56					Deudero <i>et al.</i> , 2009
Mar Negro (Turquía)						1-3	Çevik <i>et al.</i> , 2008
Mar Adriático (Golfo de Trieste)					0.06-0.53		Favretto <i>et al.</i> , 1997
Mar Tirreno (Este de Córcega)	39-877	17-46	0.005-0.037		0.37-1.37	0.19-1.70	Richir 2012, 2014
Galicia		5.15-17.46			0.12-0.66	0.07-17.53	Costas-Rodríguez <i>et al.</i> , 2010
Estuario Río Tajo (Portugal)		27-31				0.59-0.93	Santos <i>et al.</i> , 2014
Sudáfrica	<LD	9.18±0.13			0.70±0.02	5.98±0.21	Fatoki <i>et al.</i> , 2012
Galicia (Cabo Home)	0.26-3.33 1.87-23.99	2.49-3.46 17.94-24.93	0.00-0.07 0.00-0.27	4.62-7.21 33.29-51.95	0.02-0.19 0.14-1.37	0.22-0.89 1.59-6.41	Nuestro estudio peso húmedo peso seco

**Tabla 53.** Concentración de elementos traza minoritarios ( $\text{mg kg}^{-1}$ , peso seco) descritos en tejidos blandos de *Mytilus galloprovincialis*. (\*)= $\text{ng g}^{-1}$ .

Zona de muestreo	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Referencia
					0.1-3.4		Benedicto <i>et al.</i> , 2011
Mar Tirreno (Norte Italia)	276±140		15.1±3.73				Regoli, 1995
Mar Adriático (Montenegro)	150-680		10.89-28.68		7.20-11		Jović <i>et al.</i> , 2011
Mar Adriático (Golfo de Trieste)	7-19		0.41-0.87		1.2-2.6		Bongiorno <i>et al.</i> , 2015
Mar Mediterráneo (Costa francesa)					2		RINBIO (2001) y Andral <i>et al.</i> , 2004
Mar Adriático (Sur de Italia)					1.02-15.14		Spada <i>et al.</i> , 2013
Mar Egeo (Turquía)	134.49-402.79				1.70-3.52		Çayir <i>et al.</i> , 2012
Mar Egeo (Turquía)	48.63-49.96		2.64-4.75				Kucuksezgin <i>et al.</i> , 2008
Galicia y Cantabria			5.6-55.3		0.8-15.4		Bartolomé <i>et al.</i> , 2010
Mar Adriático (Italia)	45-755		73-83		1.3-7.6		Desideri <i>et al.</i> , 2009
Galicia	114.4		6				Taboada <i>et al.</i> , 2008
Mar Negro (Turquía)	1150-4030		41-59		1-6		Çevik <i>et al.</i> , 2008
Mar Adriático (Golfo de Trieste)	15.5-64.8		0.70-2.42		0.41-2.30		Favretto <i>et al.</i> , 1997
Mar Tirreno (Este de Córcega)	66-656		3.4-20.6	4.8-33.1	0.71-3.39	0.007-0.028	Richir, 2012, 2014
Galicia			2.66-15.76	0.21-4.53	0.25-14.01	1.49-34.51 *	Costas-Rodríguez <i>et al.</i> , 2010
Estuario Río Tajo (Portugal)	690-1,550						Santos <i>et al.</i> , 2014
Sudáfrica	1,149.78±150.61		23,25±1,51	27.31±2.31	1.78±0.02		Fatoki <i>et al.</i> , 2012
Sudáfrica	129.3±163.3		4,2				Sparks <i>et al.</i> , 2014
Galicia Valencia Delta Río Ebro	10±1 a 29±5		0.44-1.7				Fuentes <i>et al.</i> , 2009
Galicia (Cabo Home)	16,05-33,84 115.63-243.80	0,05-0,23 0.36-1.66	4.80-6.53 34.58-47.05	0.07-0.17 0.50-1.22	0.05-0.66 0.36-4.76	0,00-0,07 0.00-0.27	Nuestro estudio peso húmedo peso seco

Tabla 53. (Continuación)

Zona de muestreo	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn	Referencia
Mar Tirreno (Norte Italia)						99.8±19.2	Regoli, 1995
Mar Adriático (Montenegro)					0.10-2.30	190-570	Jović <i>et al.</i> , 2011
Mar Adriático (Golfo de Trieste)	0.03-0.075					4.2-7	Bongiorno <i>et al.</i> , 2015
Mar Mediterráneo (Costa francesa)						116-203	RINBIO (2001) Andral <i>et al.</i> , 2004
Mar Adriático (Montenegro)						119.60	Joksimovic <i>et al.</i> , 2011
Galicia y Cantabria						141-361	Besada <i>et al.</i> , 2014
Mar Adriático (Sur de Italia)					1.16-5.52		Spada <i>et al.</i> , 2013
Mar Egeo (Turquía)						139.03-319.60	Çayir <i>et al.</i> , 2012
Mar Egeo (Turquía)						17.85-28.47	Kucuksezgin <i>et al.</i> , 2008
Galicia y Cantabria	5.4-9.3				1.7-7.1	192.3-300.8	Bartolomé <i>et al.</i> , 2010
Costa Mediterránea (España)						91-431	Fernández <i>et al.</i> , 2012b
Islas Baleares						154.5-289.5	Deudero <i>et al.</i> , 2009
Mar Adriático (Italia)						61-190	Desideri <i>et al.</i> , 2009
Galicia	2.95					78.86	Taboada <i>et al.</i> , 2008
Mar Negro (Turquía)						180-630	Cevik <i>et al.</i> , 2008
Mar Adriático (Golfo de Trieste)						6.9-29.6	Favretto <i>et al.</i> , 1997
Mar Tirreno (Este de Córcega)	1.5-4.3				2.3-12.5	35-224	Richir 2012, 2014
Galicia	1.40-5.34	12.40-95.55		1.94-44.29 *	0.46-3.80	61.40-273.30	Costas-Rodríguez <i>et al.</i> , 2010
Estuario Río Tajo (Portugal)	0.00-0.73	26-52				260-484	Santos <i>et al.</i> , 2014
Sudáfrica		208.9±5.06			3.33±0.29	204.02±15.23	Fatoki <i>et al.</i> , 2012
Sudáfrica						186.2±125.6	Sparks <i>et al.</i> , 2014
Galicia Valencia Delta Río Ebro						17.6-23	Fuentes <i>et al.</i> , 2009
Mar Negro (Turquía)						79-163	Bat <i>et al.</i> , 2012
Galicia						216.6-1,252.4	Vidal-Liñán <i>et al.</i> , 2014
Mar Adriático (Croacia)						158	Kljaković-Gašpić <i>et al.</i> , 2010
Galicia (Cabo Home)	0.15-0.42 1.08-3.03	5.95-10.54 42.87-75.94	0.01-0.08 0.07-0.58	2.33-3.94 16.79-28.39	0.00-0.07 0.00-0.27	26.88-156.12 193.66-1,124.78	Nuestro estudio peso húmedo peso seco

Tabla 53. (Continuación)

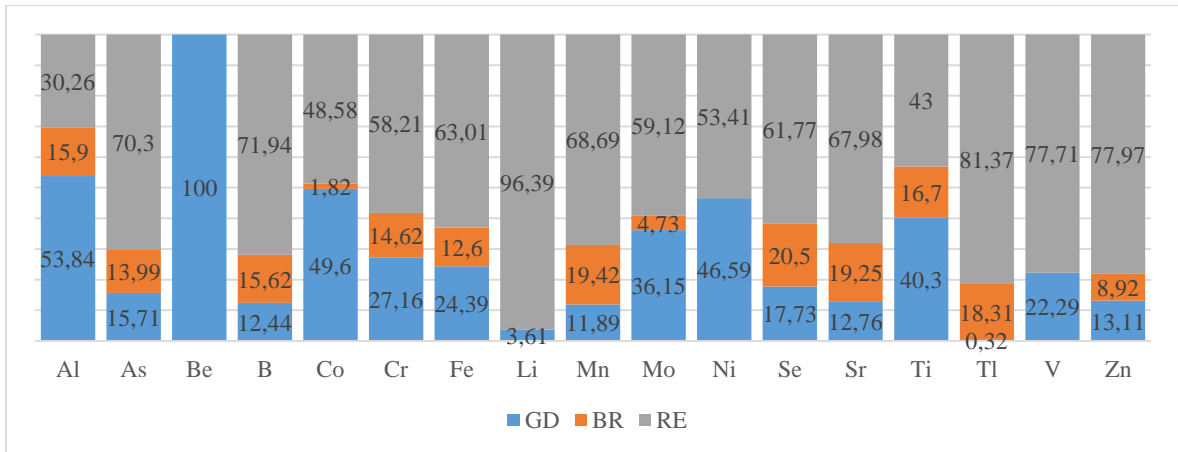
		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	2	9	9	9	9	9	9	9	9	-	9	9	9	9	6	9
	<b>media</b>	53.84	15.71	100.00	12.44	49.60	27.16	24.39	3.61	11.89	36.15	46.59	-	17.73	12.76	40.30	0.32	22.29	13.11
	<b>SD</b>	23.90	2.93	0.00	3.06	12.58	20.51	4.81	10.83	2.93	8.46	13.82	-	2.90	2.42	17.58	0.95	40.39	3.43
	<b>mín.</b>	28.74	11.41	100.00	8.93	36.51	10.89	18.01	0.00	8.87	26.32	17.48	-	14.79	8.40	15.85	0.00	0.00	8.31
	<b>Máx.</b>	92.36	21.09	100.00	17.03	68.41	77.48	31.30	32.48	18.67	51.22	66.10	-	22.06	16.68	61.37	2.84	100.00	18.99
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	2	9	9	9	9	9	9	9	9	-	9	9	9	9	6	9
	<b>media</b>	15.90	13.99	0.00	15.62	1.82	14.62	12.60	0.00	19.42	4.73	0.00	-	20.50	19.25	16.70	18.31	0.00	8.92
	<b>SD</b>	20.33	1.14	0.00	1.30	2.74	4.89	2.49	0.00	1.62	1.88	0.00	-	3.40	3.97	13.89	2.04	0.00	3.49
	<b>mín.</b>	0.00	12.52	0.00	12.92	0.00	3.87	10.51	0.00	16.62	2.08	0.00	-	14.34	11.85	5.72	14.62	0.00	5.04
	<b>Máx.</b>	63.28	15.34	0.00	17.30	5.86	22.39	18.95	0.00	21.26	7.63	0.00	-	25.65	26.21	47.30	20.69	0.00	14.51
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	2	9	9	9	9	9	9	9	9	-	9	9	9	9	6	9
	<b>media</b>	30.26	70.30	0.00	71.94	48.58	58.21	63.01	96.39	68.69	59.12	53.41	-	61.77	67.98	43.00	81.37	77.71	77.97
	<b>SD</b>	22.54	3.69	0.00	3.62	12.36	16.85	4.67	10.83	3.27	8.42	13.82	-	4.93	5.01	14.89	2.48	40.39	2.25
	<b>mín.</b>	0.00	63.98	0.00	67.03	31.60	18.65	56.49	67.52	63.29	45.02	33.90	-	55.22	60.86	31.30	77.31	0.00	75.08
	<b>Máx.</b>	69.40	75.56	0.00	76.65	63.49	75.56	70.73	100.00	72.77	71.59	82.52	-	70.87	74.51	78.43	85.38	100.00	81.44

**Tabla 54.** Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido. Grupo control, fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

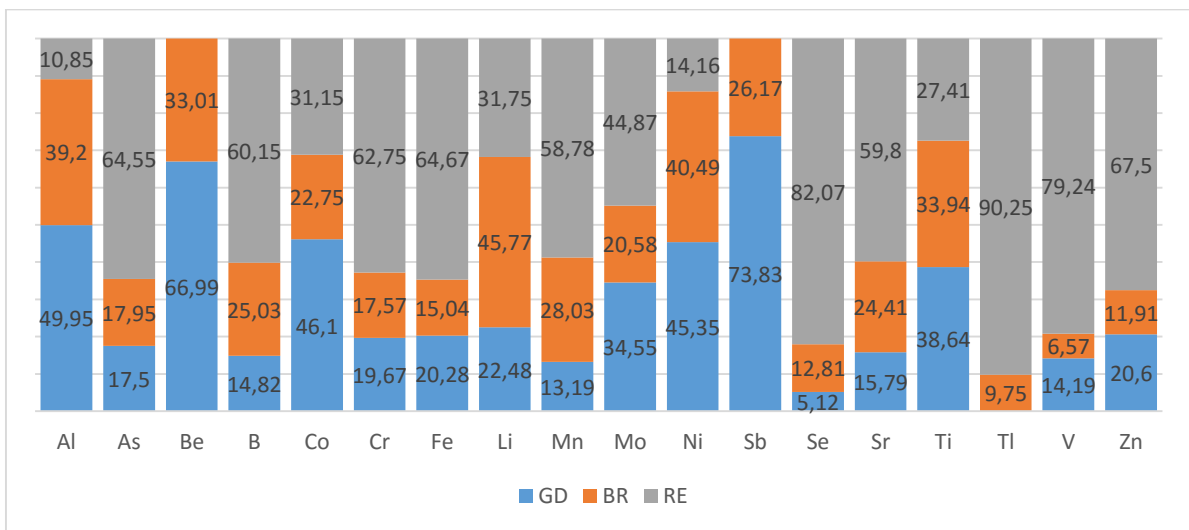
		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	3	9	9	9	9	9	9	9	9	7	9	9	9	9	7	9
	<b>media</b>	49.95	17.50	66.99	14.82	46.10	19.67	20.28	22.48	13.19	34.55	45.35	73.83	5.12	15.79	38.64	0.00	14.19	20.60
	<b>SD</b>	18.84	1.34	57.17	2.77	8.21	1.34	3.66	8.38	1.63	5.88	8.37	41.03	6.21	2.33	14.72	0.00	18.38	8.12
	<b>mín.</b>	11.91	15.90	0.97	10.20	33.11	17.58	14.99	11.79	10.38	28.24	29.87	0.00	0.00	11.01	21.57	0.00	0.00	11.36
	<b>Máx.</b>	69.38	19.45	100.00	19.84	58.59	21.28	27.14	35.25	15.30	45.60	52.35	100.00	15.09	18.15	68.85	0.00	43.19	36.46
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	3	9	9	9	9	9	9	9	9	7	9	9	9	9	7	9
	<b>media</b>	39.20	17.95	33.01	25.03	22.75	17.57	15.04	45.77	28.03	20.58	40.49	26.17	12.81	24.41	33.94	9.75	6.57	11.91
	<b>SD</b>	20.86	1.62	57.17	1.97	5.55	5.98	1.63	10.82	1.48	4.37	5.38	41.03	4.69	2.68	14.64	3.55	13.28	5.91
	<b>mín.</b>	8.44	16.00	0.00	20.70	15.17	13.33	12.14	36.96	26.11	16.92	32.60	0.00	5.53	17.98	13.95	2.44	0.00	3.71
	<b>Máx.</b>	85.41	20.29	99.03	26.93	34.21	32.54	18.25	72.54	30.11	31.46	49.99	100.00	21.07	26.44	62.10	13.81	36.23	18.75
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	3	9	9	9	9	9	9	9	9	7	9	9	9	9	7	9
	<b>media</b>	10.85	64.55	0.00	60.15	31.15	62.75	64.67	31.75	58.78	44.87	14.16	0.00	82.07	59.80	27.41	90.25	79.24	67.50
	<b>SD</b>	12.37	2.38	0.00	4.06	10.63	5.48	4.59	9.79	2.15	7.15	8.45	0.00	9.51	2.73	11.80	3.55	23.01	11.80
	<b>mín.</b>	0.00	60.92	0.00	53.30	17.64	49.89	57.20	15.67	56.01	32.70	5.69	0.00	67.28	55.90	14.75	86.19	50.87	46.08
	<b>Máx.</b>	27.71	67.40	0.00	65.23	46.86	68.54	72.42	41.33	62.50	54.84	29.02	0.00	93.69	63.90	52.52	97.56	100.00	84.93

Tabla 55. Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido. Grupo control, fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.





**Figura 45.** Porcentaje de los elementos traza minoritarios en el grupo control de la fase experimental 1. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.



**Figura 46.** Porcentaje de los elementos traza minoritarios en el grupo control de la fase experimental 2. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

#### IV.6.2.2. Grupos de exposición

Con respecto a los ETm cuya concentración estaba por encima de los  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  (Zn, Fe, Sr, B y Mn), observamos que el elemento que más veces presentaba diferencias estadísticamente significativas con respecto a los grupos control era el B, mientras que del resto de elementos fue el Cr (Tablas 56 a 62). Por su parte, las concentraciones de Al, Li, Se y V no se vieron afectadas tras la exposición a Pb, Cd o Cu, solos o en combinación; y Be, Bi y Sb, al igual que en los grupos control, tampoco fueron detectados o lo fueron en escasas muestras, por lo que no se han tenido en cuenta en este apartado. La glándula digestiva fue el órgano en el que menos diferencias de concentración se observaron (entre grupos de exposición), mientras que la branquia y el resto fueron los que más. Respecto a los grupos de exposición, fueron los individuos expuestos a la mezcla ternaria en los que más diferencias estadísticamente significativas con respecto al control se observaron, seguido de los expuestos a Cd, siendo los expuestos a Cd+Cu en los que menos diferencias se observaron.

En lo que respecta a la distribución de estos elementos en los tres compartimentos, observamos que el Cr fue el elemento en el que más cambios significativos se produjeron en los porcentajes tisulares, seguido del Sr y Tl, del B, Mn, Ti y Zn, del As, Co, Fe, Ni, y Se, para finalizar con el Al (sobre Li, Mo y V no se observaron cambios) (Tablas 63 a 69). El resto fue el compartimento en el que se observaron más cambios en este sentido, seguido de la glándula. Y a nivel de grupos de exposición, la mezcla ternaria fue la que produjo más cambios en la distribución tisular de ETm, seguida del Cu y del Cd+Pb, Cd y Cd+Cu, no observándose cambios en los grupos expuestos a Pb y a Pb+Cu.

		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	ND	ND	9	9	9	9	1	9	9	9	2	9	9	9	ND	1	9
	<b>Media</b>	4.03	3.49	-	-	6.19	0.27	0.51	42.40	0.15	5.40	0.27	0.34	0.01	0.65	8.11	0.12	-	0.02	55.97
	<b>SD</b>	2.78	0.78	-	-	0.80	0.13	0.08	8.79	.	1.29	0.10	0.19	0.00	0.13	1.62	0.13	-	.	23.65
	<b>Mín.</b>	1.47	2.79	-	-	5.11	0.11	0.38	29.65	0.15	4.77	0.17	0.14	0.01	0.49	6.93	0.03	-	0.02	31.67
	<b>Máx.</b>	10.21	5.17	-	-	7.29	0.57	0.62	59.87	0.15	8.81	0.51	0.71	0.01	0.85	11.98	0.42	-	0.02	107.18
	<b>P</b>	0.23*	0.15*	-	-	0.23*	0.60*	0.83*	0.77	0.00	0.69*	0.33*	0.90*	-	0.31	0.35*	0.66*	-	0.74	0.95
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	ND	ND	9	9	9	9	ND	9	9	ND	ND	9	9	9	9	ND	9
	<b>Media</b>	1.04	1.89	-	-	4.87	0.03	0.27	16.56	-	5.22	0.03	-	-	0.45	6.43	0.02	3.34	-	30.46
	<b>SD</b>	0.53	0.35	-	-	0.54	0.01	0.09	3.85	-	0.08	0.01	-	-	0.11	0.22	0.01	0.52	-	16.51
	<b>Mín.</b>	0.22	1.28	-	-	4.35	0.01	0.18	11.44	-	5.09	0.01	-	-	0.35	6.12	0.01	2.23	-	10.03
	<b>Máx.</b>	1.65	2.34	-	-	5.66	0.04	0.49	22.29	-	5.32	0.05	-	-	0.62	6.86	0.03	3.92	-	51.88
	<b>P</b>	0.32	0.34	-	-	0.05	0.20*	0.80	0.05	-	0.08	0.22*	-	-	0.36	0.25	0.83	0.95	-	0.40
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	ND	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	ND	9	9	9	9	7	9
	<b>Media</b>	0.79	2.73	-	-	6.32	0.05	0.29	21.91	0.08	4.94	0.09	0.08	-	0.35	6.12	0.02	3.99	0.04	66.56
	<b>SD</b>	1.54	0.57	-	-	0.60	0.03	0.09	4.55	0.01	0.29	0.02	0.03	-	0.04	0.99	0.01	0.31	0.03	39.24
	<b>Mín.</b>	0.04	2.05	-	-	5.56	0.03	0.18	14.51	0.05	4.44	0.05	0.03	-	0.27	5.10	0.01	3.31	0.01	29.46
	<b>Máx.</b>	4.27	3.72	-	-	7.35	0.11	0.45	26.88	0.09	5.39	0.12	0.13	-	0.42	8.17	0.02	4.42	0.10	164.30
	<b>P</b>	0.64*	0.94	-	-	0.00*	0.10	0.79	0.07	0.34	0.29	0.50	0.08	-	0.49	0.29*	0.67*	0.94	0.24	0.40*
<b>TB</b>	<b>n</b>	9	9	ND	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	NE	9	9	9	9	8	9
	<b>Media</b>	1.08	2.65	-	-	6.03	0.07	0.32	23.30	0.06	5.05	0.10	0.10	-	0.41	6.43	0.03	3.40	0.02	58.47
	<b>SD</b>	1.00	0.51	-	-	0.58	0.03	0.08	3.58	0.01	0.29	0.02	0.03	-	0.04	0.87	0.02	0.24	0.02	29.78
	<b>Mín.</b>	0.44	2.13	-	-	5.23	0.03	0.22	16.46	0.03	4.68	0.06	0.06	-	0.36	5.56	0.01	2.98	0.00	27.25
	<b>Máx.</b>	3.48	3.43	-	-	6.85	0.12	0.43	28.23	0.08	5.62	0.14	0.15	-	0.49	8.34	0.07	3.73	0.07	131.73
	<b>P</b>	0.17*	0.51*	-	-	0.02	0.22	0.63*	0.09	0.29	0.40*	0.97*	0.54	-	0.13	0.51*	0.83*	0.82	0.36	0.31*

**Tabla 56.** Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Pb. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; NE=datos no estimados. *p*=comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).

		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	1	ND	9	9	9	9	1	9	9	9	1	9	9	9	ND	ND	9
	<b>Media</b>	2.86	3.60	0.01	-	6.24	0.17	0.58	35.86	0.26	5.34	0.29	0.20	0.15	0.65	6.96	0.06	-	-	63.54
	<b>SD</b>	1.84	0.49	.	-	1.15	0.10	0.19	9.39	.	1.35	0.13	0.21	.	0.24	1.56	0.06	-	-	20.98
	<b>Mín.</b>	0.85	3.09	0.01	-	5.26	0.04	0.38	26.57	0.26	4.57	0.15	0.01	0.15	0.28	5.55	0.01	-	-	36.42
	<b>Máx.</b>	7.10	4.64	0.01	-	9.03	0.33	1.03	57.06	0.26	8.88	0.60	0.63	0.15	0.96	10.66	0.19	-	-	101.83
<b>P</b>	0.97*	0.69*	0.67	-	0.51	0.22	0.69*	0.16	-	0.79*	0.35	0.11		0.53	0.27*	0.07*	-	-	0.41	
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	1	ND	9	9	9	9	ND	9	9	ND	1	9	9	9	9	ND	9
	<b>Media</b>	1.56	1.99	0.07	-	5.12	0.02	0.52	14.92	-	5.25	0.04	-	0.08	0.48	6.55	0.03	3.60	-	24.07
	<b>SD</b>	1.32	0.34	.	-	0.30	0.01	0.34	4.12	-	0.18	0.03	-	.	0.13	0.12	0.02	0.26	-	8.23
	<b>Mín.</b>	0.39	1.62	0.07	-	4.70	0.01	0.14	10.22	-	5.02	0.01	-	0.08	0.29	6.35	0.01	3.13	-	15.00
	<b>Máx.</b>	4.41	2.62	0.07	-	5.60	0.03	1.02	21.39	-	5.50	0.09	-	0.08	0.67	6.72	0.08	3.95	-	37.66
<b>P</b>	0.15	0.83	0.00	-	0.00	0.35*	0.08	0.37	-	0.36	0.14	-	0.00	0.19	0.49	0.16	0.23	-	0.76*	
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	1	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	1	9	9	9	9	6	9
	<b>Media</b>	0.56	2.71	0.04	-	6.38	0.04	0.89	22.08	0.10	5.02	0.08	0.08	0.15	0.43	6.39	0.03	4.13	0.04	61.18
	<b>SD</b>	0.67	0.49	.	-	0.43	0.02	1.15	7.95	0.04	0.26	0.03	0.03	.	0.14	1.31	0.02	0.35	0.03	24.88
	<b>Mín.</b>	0.01	2.18	0.04	-	5.91	0.02	0.24	15.08	0.05	4.69	0.05	0.05	0.15	0.31	5.45	0.01	3.43	0.01	15.96
	<b>Máx.</b>	1.93	3.76	0.04	-	7.08	0.08	3.87	36.04	0.18	5.47	0.12	0.13	0.15	0.79	9.66	0.08	4.56	0.07	102.86
<b>P</b>	0.96*	0.98	0.00	-	0.00	0.36	0.02*	0.21	0.33	0.71	0.74	0.12	0.00	0.07*	0.79*	0.44*	0.32	0.22	0.35*	
<b>TB</b>	<b>n</b>	9	9	1	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	2	9	9	9	8	5	9
	<b>Media</b>	0.96	2.67	0.03	-	6.10	0.05	0.79	22.14	0.08	5.09	0.10	0.08	0.07	0.46	6.47	0.03	3.53	0.02	54.69
	<b>SD</b>	0.70	0.42	.	-	0.41	0.02	0.88	6.64	0.03	0.25	0.03	0.03	0.07	0.13	0.93	0.02	0.31	0.01	18.86
	<b>Mín.</b>	0.20	2.25	0.03	-	5.52	0.02	0.27	16.23	0.03	4.73	0.07	0.04	0.01	0.35	5.69	0.01	2.96	0.01	18.69
	<b>Máx.</b>	2.03	3.56	0.03	-	6.65	0.09	3.05	33.12	0.15	5.44	0.14	0.12	0.12	0.76	8.66	0.08	3.80	0.04	85.38
<b>P</b>	0.69*	0.80	0.00	-	0.00	0.70	0.23	0.9*	0.43	0.63*	0.76*	0.45*	0.00	0.09	0.69*	0.97	0.56*	0.46	0.31*	

**Tabla 57.** Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; p=comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).

		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
GD	n	9	9	1	ND	9	9	9	9	1	9	9	9	ND	9	9	9	ND	1	9
	Media	3.46	3.60	0.01	-	6.95	0.19	0.55	40.35	0.28	5.47	0.29	0.25	-	0.64	8.30	0.08	-	0.08	62.34
	SD	3.88	0.62	.	-	0.96	0.06	0.31	17.81	.	1.61	0.12	0.24	-	0.13	2.08	0.10	-	.	33.06
	Mín.	1.24	2.94	0.01	-	5.76	0.14	0.38	29.24	0.28	4.67	0.19	0.07	-	0.36	6.34	0.02	-	0.08	31.37
	Máx.	13.21	4.97	0.01	-	8.84	0.34	1.36	86.63	0.28	9.75	0.57	0.82	-	0.77	13.39	0.34	-	0.08	126.15
P	0.69*	0.48*	0.00	-	0.03*	0.83*	0.86*	0.31*	0.00	0.72*	0.45*	0.13*	-	0.17*	0.15*	0.11*	-	0.00	0.59	
BR	n	9	9	1	ND	9	9	9	9	ND	9	9	ND	2	9	9	9	9	ND	9
	Media	1.61	1.87	0.27	-	5.40	0.04	0.29	12.11	-	5.32	0.04	-	0.05	0.42	6.61	0.03	3.10	-	26.59
	SD	1.29	0.23	.	-	0.64	0.02	0.07	1.57	-	0.20	0.04	-	0.05	0.04	0.21	0.04	0.57	-	14.39
	Mín.	0.55	1.57	0.27	-	4.79	0.02	0.19	10.02	-	5.05	0.01	-	0.01	0.38	6.35	0.01	2.21	-	11.61
	Máx.	3.77	2.28	0.27	-	6.52	0.06	0.41	14.86	-	5.66	0.14	-	0.08	0.50	7.03	0.13	3.95	-	54.25
P	0.13	0.13	0.00	-	0.00	0.11*	0.92	0.15	-	0.83*	0.30	-	0.00	0.92	0.65	0.37	0.35	-	0.73	
RE	n	9	9	ND	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	1	9	9	9	9	5	9
	Media	0.23	2.59	-	-	6.64	0.04	0.32	18.29	0.10	4.92	0.07	0.07	0.04	0.34	6.94	0.02	3.98	0.02	69.13
	SD	0.22	0.31	-	-	0.59	0.01	0.07	5.16	0.01	0.28	0.02	0.04	.	0.09	2.21	0.02	0.29	0.02	26.95
	Mín.	0.02	2.03	-	-	5.77	0.02	0.24	11.88	0.09	4.43	0.04	0.02	0.04	0.22	5.45	0.01	3.59	0.01	27.12
	Máx.	0.69	3.08	-	-	7.45	0.07	0.43	26.82	0.12	5.29	0.10	0.13	0.04	0.46	10.92	0.07	4.40	0.05	115.65
P	0.21*	0.30	-	-	0.00	0.66	0.72	0.99	0.19*	0.21	0.34	0.64	0.00	1.00	0.69*	0.57*	0.99	0.82*	0.23*	
TB	n	9	9	2	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	3	9	9	9	9	5	9
	Media	0.83	2.57	0.03	-	6.45	0.05	0.34	19.69	0.08	5.05	0.09	0.08	0.02	0.39	7.05	0.03	3.38	0.02	59.98
	SD	0.57	0.30	0.03	-	0.57	0.01	0.07	4.43	0.01	0.31	0.02	0.03	0.01	0.07	1.71	0.02	0.29	0.01	18.22
	Mín.	0.20	2.08	0.00	-	5.64	0.04	0.27	13.01	0.06	4.63	0.06	0.03	0.00	0.28	5.83	0.01	2.96	0.01	26.55
	Máx.	2.18	3.02	0.05	-	7.30	0.06	0.47	25.39	0.10	5.61	0.13	0.13	0.03	0.47	10.32	0.06	3.82	0.03	86.22
P	0.35*	0.28	0.45	-	0.00	0.78	0.37	0.74	0.14	0.35*	0.85*	0.55	0.00	0.86	0.97*	0.77	0.63*	0.36*	0.23*	

**Tabla 58.** Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Pb+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; p=comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).

		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	3	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	6	9	9	9	ND	2	9
	<b>Media</b>	2.88	4.36	0.01	-	7.06	0.50	0.66	41.00	0.29	6.37	0.46	2.07	0.06	0.19	8.87	0.13	-	0.12	128.57
	<b>SD</b>	1.45	0.52	0.01	-	0.46	0.15	0.18	5.64	0.15	0.42	0.10	0.73	0.06	0.12	2.38	0.04	-	0.07	87.15
	<b>Mín.</b>	1.05	3.54	0.01	-	6.21	0.27	0.38	29.25	0.11	5.77	0.31	1.37	0.01	0.07	6.73	0.08	-	0.06	30.42
	<b>Máx.</b>	6.16	4.94	0.02	-	7.61	0.78	0.93	48.25	0.60	6.99	0.61	3.42	0.16	0.39	14.04	0.19	-	0.17	277.94
<b>P</b>	0.94	0.59	0.15	-	0.57*	0.83	0.94	0.24	0.54	0.94	0.09	0.40	0.63	0.84	0.60	0.37	-	0.28	0.67	
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	2	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	6	9	9	9	9	3	9
	<b>Media</b>	1.43	2.36	0.17	-	6.13	0.14	0.34	17.19	0.34	7.00	0.13	0.75	0.08	0.12	7.38	0.09	0.86	0.04	52.79
	<b>SD</b>	1.03	0.35	0.23	-	0.59	0.06	0.11	3.82	0.16	0.48	0.07	0.22	0.15	0.07	0.45	0.05	0.53	0.05	33.75
	<b>Mín.</b>	0.60	1.89	0.01	-	5.58	0.08	0.22	13.25	0.25	6.57	0.09	0.46	0.01	0.01	6.96	0.04	0.07	0.01	10.68
	<b>Máx.</b>	3.67	2.86	0.34	-	7.54	0.24	0.53	22.95	0.76	8.15	0.30	1.16	0.38	0.23	8.44	0.20	1.44	0.09	106.77
<b>P</b>	0.09*	0.06	0.00	-	0.78	0.36	0.27	0.53	0.38	0.05	0.27*	0.63	0.9*	0.65	0.02	0.05*	0.38	0.84	0.35	
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	ND	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	ND	9	9	9	9	3	9
	<b>Media</b>	0.17	3.38	-	-	6.28	0.05	0.72	26.95	0.08	5.84	0.12	0.09	-	0.36	7.42	0.02	4.03	0.06	73.30
	<b>SD</b>	0.18	0.40	-	-	0.49	0.04	0.23	8.59	0.03	0.22	0.03	0.05	-	0.04	0.58	0.01	0.47	0.01	29.06
	<b>Mín.</b>	0.02	2.54	-	-	5.65	0.02	0.36	17.40	0.05	5.54	0.08	0.05	-	0.31	6.78	0.01	3.49	0.05	39.76
	<b>Máx.</b>	0.46	3.83	-	-	7.17	0.11	1.06	42.13	0.14	6.08	0.18	0.21	-	0.43	8.79	0.05	5.02	0.07	123.14
<b>P</b>	0.43	0.18	-	-	0.56	0.24	0.01	0.50	0.69*	0.60	0.32	0.52	-	0.86	0.07*	0.58*	0.81	0.21*	0.16	
<b>TB</b>	<b>n</b>	9	9	5	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	0.77	3.23	0.02	-	6.33	0.13	0.61	26.20	0.17	6.18	0.16	0.49	0.02	0.27	7.60	0.05	2.72	0.03	75.51
	<b>SD</b>	0.23	0.33	0.03	-	0.42	0.05	0.15	6.50	0.03	0.15	0.02	0.11	0.03	0.04	0.46	0.01	0.45	0.02	21.55
	<b>Mín.</b>	0.32	2.54	0.00	-	5.69	0.07	0.34	18.31	0.13	5.92	0.13	0.35	0.00	0.20	7.20	0.03	2.18	0.01	43.26
	<b>Máx.</b>	1.01	3.62	0.07	-	6.95	0.20	0.84	37.14	0.22	6.33	0.19	0.67	0.09	0.33	8.64	0.07	3.64	0.06	102.87
<b>P</b>	0.88	0.13	0.73	-	0.71	0.62	0.00	0.54	0.17	0.24	0.07	0.57*	0.79*	0.94	0.09*	0.81	0.70	0.97	0.31	

**Tabla 59.** Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Cd. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; *p*=comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).

		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	2	ND	9	9	9	9	7	9	9	9	4	9	9	9	ND	3	9
	<b>Media</b>	3.71	4.03	0.02	-	7.33	0.37	0.58	43.71	0.25	6.16	0.33	1.46	0.04	0.15	8.82	0.14	-	0.02	80.46
	<b>SD</b>	3.86	0.73	0.01	-	0.56	0.14	0.20	6.02	0.14	0.44	0.13	0.88	0.05	0.04	1.95	0.06	-	0.03	41.92
	<b>Mín.</b>	0.96	3.04	0.01	-	6.33	0.13	0.28	36.35	0.04	5.35	0.12	0.07	0.01	0.10	6.22	0.06	-	0.01	39.33
	<b>Máx.</b>	13.80	5.09	0.03	-	8.05	0.57	1.02	51.62	0.44	6.80	0.52	2.54	0.11	0.21	12.37	0.26	-	0.05	169.60
<b>P</b>	0.35*	0.59	0.14	-	0.93	0.07	0.38	0.78	0.95	0.39	0.24	0.32	0.39*	0.76	0.97*	0.50	-	0.14	0.04	
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	1	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	4	9	9	9	9	2	9
	<b>Media</b>	1.10	2.18	0.10	-	6.32	0.12	0.25	17.66	0.21	6.81	0.10	0.61	0.07	0.15	7.15	0.06	0.43	0.06	53.87
	<b>SD</b>	0.77	0.29	.	-	0.65	0.04	0.06	4.39	0.10	0.41	0.04	0.23	0.12	0.08	0.47	0.02	0.22	0.05	26.81
	<b>Mín.</b>	0.24	1.84	0.10	-	5.46	0.04	0.15	11.53	0.04	6.17	0.04	0.10	0.01	0.05	6.20	0.03	0.06	0.02	27.31
	<b>Máx.</b>	2.74	2.76	0.10	-	6.95	0.18	0.33	27.12	0.37	7.60	0.17	0.80	0.26	0.27	7.75	0.09	0.69	0.09	104.87
<b>P</b>	0.69*	0.43	0.00	-	0.37	0.98	0.44	0.40	0.32	0.21	0.44*	0.10	0.77	0.85	0.24	0.59	0.00	0.48	0.25	
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	ND	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	ND	9	9	9	9	6	9
	<b>Media</b>	0.38	3.04	-	-	6.43	0.05	0.81	26.74	0.09	5.74	0.10	0.08	-	0.37	8.65	0.04	4.01	0.02	69.69
	<b>SD</b>	0.67	0.39	-	-	0.36	0.03	0.79	5.68	0.03	0.24	0.03	0.03	-	0.13	4.16	0.03	0.47	0.01	45.34
	<b>Mín.</b>	0.05	2.50	-	-	6.01	0.01	0.31	17.34	0.04	5.33	0.06	0.05	-	0.24	6.03	0.01	3.04	0.01	22.41
	<b>Máx.</b>	2.14	3.48	-	-	7.26	0.10	2.85	38.69	0.14	6.01	0.17	0.12	-	0.65	19.47	0.10	4.87	0.04	176.24
<b>P</b>	0.69	0.61	-	-	0.26	0.13	0.09*	0.35	0.30*	0.84	0.59*	0.28	-	0.73	0.57*	0.16	0.74	0.22	0.18	
<b>TB</b>	<b>n</b>	9	9	3	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	6	9	9	9	9	8	9
	<b>Media</b>	0.99	2.94	0.01	-	6.52	0.10	0.63	26.50	0.13	6.07	0.13	0.35	0.02	0.27	8.21	0.05	2.55	0.01	67.88
	<b>SD</b>	0.68	0.37	0.01	-	0.36	0.03	0.49	4.92	0.05	0.20	0.03	0.17	0.03	0.08	2.44	0.02	0.36	0.01	26.83
	<b>Mín.</b>	0.36	2.45	0.00	-	6.05	0.05	0.33	18.21	0.06	5.73	0.07	0.07	0.00	0.17	6.40	0.02	1.87	0.00	39.46
	<b>Máx.</b>	2.42	3.47	0.03	-	7.22	0.15	1.89	35.09	0.21	6.23	0.16	0.56	0.07	0.43	14.45	0.09	3.24	0.03	128.83
<b>P</b>	0.52	0.75	0.59	-	0.25	0.04	0.21	0.56	0.51	0.85	0.18	0.03	0.89*	0.92	0.23*	0.81	0.15	0.13*	0.16	

**Tabla 60.** Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Cd+Pb. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; p=comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).

		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	4	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	5	9	9	9	ND	4	9
	<b>Media</b>	2.51	3.78	0.01	-	6.98	0.43	0.65	39.66	0.28	6.25	0.40	1.64	0.05	0.14	9.85	0.19	-	0.05	126.07
	<b>SD</b>	1.53	0.55	0.01	-	0.91	0.08	0.31	9.58	0.16	0.58	0.08	0.84	0.03	0.04	1.99	0.21	-	0.07	48.85
	<b>Mín.</b>	0.89	2.91	0.01	-	5.46	0.32	0.30	27.99	0.12	5.63	0.24	0.91	0.02	0.10	7.01	0.07	-	0.01	71.92
	<b>Máx.</b>	6.06	4.63	0.02	-	8.27	0.57	1.21	53.90	0.64	7.65	0.52	3.24	0.09	0.17	13.34	0.74	-	0.16	205.57
	<b>P</b>	0.97*	0.15	0.26	-	0.44	0.21	0.91	0.23	0.67	0.70	0.82	0.58	0.98	0.70	0.23*	0.89	-	0.69	0.53
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	1	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	1	9	9	9	9	3	9
	<b>Media</b>	0.77	1.89	0.01	-	6.09	0.12	0.41	15.56	0.24	6.49	0.10	0.64	0.02	0.12	7.18	0.05	1.24	0.04	84.48
	<b>SD</b>	0.68	0.24	.	-	0.47	0.04	0.47	3.04	0.05	0.25	0.03	0.25	.	0.06	0.38	0.01	0.72	0.03	66.35
	<b>Mín.</b>	0.22	1.55	0.01	-	5.47	0.08	0.16	11.58	0.18	6.20	0.07	0.28	0.02	0.05	6.53	0.03	0.32	0.02	13.69
	<b>Máx.</b>	2.49	2.33	0.01	-	6.88	0.19	1.65	19.73	0.35	6.81	0.15	1.05	0.02	0.24	7.67	0.07	2.30	0.08	197.18
	<b>P</b>	0.48*	0.11	0.00	-	0.89	0.83	0.45	0.64	0.54	0.56	0.97*	0.16	0.67	0.57	0.13	0.46	0.57	0.78	0.09
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	ND	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	ND	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	0.55	2.85	-	-	6.44	0.05	0.61	26.83	0.09	5.82	0.10	0.10	-	0.37	9.15	0.03	3.92	0.04	80.04
	<b>SD</b>	0.38	0.22	-	-	0.81	0.01	0.33	7.98	0.04	0.41	0.02	0.06	-	0.10	3.48	0.02	0.39	0.03	28.59
	<b>Mín.</b>	0.08	2.41	-	-	5.39	0.04	0.22	16.85	0.03	5.37	0.07	0.05	-	0.22	6.73	0.01	3.56	0.01	40.96
	<b>Máx.</b>	1.07	3.19	-	-	7.80	0.08	1.33	37.29	0.14	6.50	0.14	0.25	-	0.51	16.27	0.06	4.84	0.07	123.32
	<b>P</b>	0.13	0.06	-	-	0.37	0.12	0.10*	0.46	0.36	0.76	0.75	0.79	-	0.71	0.06*	0.52	0.40	0.98	0.28
<b>TB</b>	<b>n</b>	9	9	5	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	5	9	9	9	9	7	9
	<b>Media</b>	0.78	2.69	0.00	-	6.40	0.11	0.55	25.04	0.15	6.04	0.14	0.43	0.01	0.26	8.70	0.05	2.69	0.02	87.24
	<b>SD</b>	0.51	0.24	0.00	-	0.69	0.01	0.33	5.62	0.02	0.32	0.02	0.13	0.00	0.07	2.19	0.02	0.40	0.02	27.47
	<b>Mín.</b>	0.35	2.36	0.00	-	5.50	0.09	0.23	18.58	0.12	5.68	0.10	0.26	0.00	0.14	6.86	0.03	2.12	0.01	49.21
	<b>Máx.</b>	1.93	3.14	0.00	-	7.48	0.13	1.36	33.20	0.18	6.69	0.17	0.63	0.01	0.36	13.28	0.09	3.45	0.05	126.75
	<b>P</b>	0.94	0.04	0.43	-	0.61	0.11	0.25	0.26	0.83	0.99	0.48	0.20	0.29*	0.78	0.05*	0.57*	0.56	0.48	0.82

**Tabla 61.** Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Cd+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; p=comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).



		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	4	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	7	9	9	9	ND	5	9
	<b>Media</b>	2.13	4.71	0.01	-	6.12	0.52	0.87	43.84	0.27	6.00	0.49	2.40	0.08	0.23	7.98	0.12	-	0.06	111.33
	<b>SD</b>	1.56	0.90	0.00	-	0.58	0.10	0.40	10.31	0.08	0.45	0.13	1.30	0.06	0.12	1.41	0.06	-	0.05	83.73
	<b>Mín.</b>	0.91	3.47	0.01	-	5.33	0.36	0.42	26.05	0.14	5.24	0.37	1.06	0.03	0.07	6.32	0.08	-	0.01	35.86
	<b>Máx.</b>	6.00	5.85	0.02	-	7.05	0.68	1.67	58.93	0.41	6.74	0.77	5.10	0.19	0.35	10.23	0.26	-	0.11	282.39
<b>P</b>	0.27*	0.19	0.11	-	0.00	0.98	0.20	0.87	0.60	0.13	0.05	0.24	0.31	0.57	0.27*	0.57*	-	0.89	0.38	
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	3	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	4	9	9	9	4	1	9
	<b>Media</b>	1.39	1.78	0.05	-	5.48	0.13	0.52	16.46	0.29	6.61	0.13	0.84	0.09	0.07	7.12	0.10	0.58	0.03	56.78
	<b>SD</b>	0.89	0.25	0.07	-	0.38	0.04	0.21	4.86	0.11	0.49	0.05	0.42	0.10	0.07	0.53	0.07	0.65	.	45.61
	<b>Mín.</b>	0.39	1.34	0.01	-	5.01	0.07	0.25	9.31	0.05	5.79	0.07	0.13	0.01	0.02	6.42	0.04	0.08	0.03	18.39
	<b>Máx.</b>	2.58	2.18	0.13	-	6.18	0.20	0.83	24.84	0.37	7.41	0.20	1.51	0.22	0.17	7.85	0.26	1.53	0.03	165.58
<b>P</b>	0.31*	0.02	0.00	-	0.03	0.39	0.01	0.89	0.83	0.87	0.48*	0.97*	0.85	0.13	0.35	0.23*	0.13	0.92	0.33	
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	1	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	1	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	0.30	3.22	0.03	-	5.57	0.06	0.81	26.15	0.09	5.63	0.11	0.11	0.14	0.38	7.60	0.03	3.99	0.04	63.33
	<b>SD</b>	0.27	0.46	.	-	0.32	0.04	0.46	8.25	0.03	0.37	0.03	0.06	.	0.13	0.94	0.02	0.32	0.03	49.09
	<b>Mín.</b>	0.01	2.60	0.03	-	4.89	0.00	0.28	12.55	0.04	5.14	0.05	0.03	0.14	0.12	6.51	0.02	3.42	0.02	15.56
	<b>Máx.</b>	0.61	4.08	0.03	-	5.94	0.12	1.86	38.06	0.14	6.21	0.15	0.24	0.14	0.61	9.53	0.07	4.52	0.08	169.86
<b>P</b>	0.71	0.65	-	-	0.08	0.31	0.04	0.36	0.37	0.44	0.65	0.81*	-	0.67	0.13*	0.09*	0.59	0.76	0.12	
<b>TB</b>	<b>n</b>	9	9	7	ND	9	9	9	9	9	9	9	9	8	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	0.63	3.05	0.01	-	5.60	0.12	0.74	25.67	0.14	5.86	0.15	0.46	0.03	0.28	7.55	0.05	2.81	0.04	65.99
	<b>SD</b>	0.16	0.36	0.01	-	0.33	0.03	0.34	7.30	0.03	0.35	0.03	0.12	0.03	0.10	0.74	0.01	0.33	0.01	42.15
	<b>Mín.</b>	0.41	2.52	0.00	-	4.98	0.05	0.33	13.94	0.10	5.31	0.09	0.26	0.00	0.09	6.65	0.04	2.37	0.02	18.77
	<b>Máx.</b>	0.87	3.41	0.03	-	6.02	0.16	1.46	36.19	0.21	6.37	0.19	0.59	0.10	0.46	8.72	0.07	3.15	0.05	133.41
<b>P</b>	0.39	0.69	0.56	-	0.02	0.21	0.02	0.46	0.86	0.27	0.54	0.38	0.08*	0.86	0.45*	0.74	0.86	0.68	0.21	

**Tabla 62.** Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón tras 7 días de exposición a Cd+Pb+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos; ND=datos no detectados; p=comparación del tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U de Mann-Whitney).

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	-	9	9	9	9	9	9	9	9	2	9	9	9	9	8	9
	<b>Media</b>	56.85	15.24	-	11.96	44.53	19.62	21.70	2.81	12.52	32.07	40.44	100	18.39	14.76	44.70	0.00	12.50	12.47
	<b>SD</b>	24.39	2.48	-	2.19	12.10	5.82	7.57	8.43	3.85	7.90	17.77	0.00	2.68	3.28	26.06	0.00	35.36	4.81
	<b>Mín.</b>	5.48	13.14	-	9.52	23.74	11.61	14.06	0.00	8.45	24.33	22.68	100.00	14.20	9.97	11.76	0.00	0.00	3.23
	<b>Máx.</b>	88.12	21.23	-	16.81	66.76	30.78	40.62	25.30	21.82	50.21	67.34	100.00	22.15	20.01	87.18	0.00	100.00	19.79
<b>p</b>	0.80	0.72	-	0.71	0.40	0.30	0.38	0.86	0.70	0.31	0.42	-	0.63	0.16	0.68	0.35	0.64	0.75	
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	-	9	9	9	9	9	9	9	9	2	9	9	9	9	8	9
	<b>Media</b>	21.75	14.04	-	15.92	2.55	16.86	13.98	0.00	20.29	6.52	0.00	0.00	21.78	19.92	17.47	19.41	0.00	10.59
	<b>SD</b>	20.26	2.49	-	2.64	3.43	4.61	3.35	0.00	2.72	2.99	0.00	0.00	4.75	3.64	8.88	4.62	0.00	4.97
	<b>Mín.</b>	0.00	11.35	-	12.23	0.00	10.17	9.99	0.00	16.01	2.79	0.00	0.00	17.02	12.85	2.61	11.93	0.00	3.96
	<b>Máx.</b>	57.47	17.92	-	19.48	8.76	25.95	20.65	0.00	23.92	11.58	0.00	0.00	32.23	23.85	30.06	25.06	0.00	17.61
<b>p</b>	0.55	0.96	-	0.77	0.62	0.33	0.34		0.42	0.15	-	-	0.52	0.71	0.89	0.53	-	0.42	
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	-	9	9	9	9	9	9	9	9	2	9	9	9	9	8	9
	<b>Media</b>	21.39	70.71	-	72.12	52.92	63.52	64.32	97.19	67.18	61.40	59.56	0.00	59.84	65.32	37.83	80.59	87.50	76.95
	<b>SD</b>	27.16	2.51	-	2.79	11.34	6.81	6.64	8.43	3.31	8.21	17.77	0.00	3.23	3.79	23.86	4.62	35.36	8.78
	<b>Mín.</b>	0.00	66.68	-	67.89	28.82	52.24	48.45	74.70	62.16	43.60	32.67	0.00	53.57	58.22	0.00	74.94	0.00	63.04
	<b>Máx.</b>	84.05	74.25	-	76.89	69.32	74.18	71.17	100.00	71.98	69.46	77.32	0.00	64.19	71.74	63.74	88.07	100.00	89.03
<b>p</b>	0.46	0.79	-	0.91	0.45	0.39	0.64	0.86	0.35	0.57	0.42	-	0.34	0.22	0.59	0.66	0.64	0.74	

**Tabla 63.** Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Pb. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. *p*=comparación con su grupo control (t-Student).

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	1	9	9	9	9	9	9	9	9	2	9	9	9	8	5	9
	<b>Media</b>	39.22	14.82	3.22	11.06	34.70	12.43	18.36	1.79	11.27	31.89	20.35	5.87	15.39	11.65	20.02	0.00	0.00	14.38
	<b>SD</b>	14.20	2.61	.	1.87	10.59	6.81	5.60	5.37	2.28	7.02	18.24	8.30	4.93	2.16	16.43	0.00	0.00	6.92
	<b>Mín.</b>	13.40	10.19	3.22	7.71	17.34	3.37	10.96	0.00	7.94	21.42	0.00	0.00	7.30	8.19	0.00	0.00	0.00	4.19
	<b>Máx.</b>	57.60	17.75	3.22	13.57	47.21	22.77	29.65	16.12	15.54	43.69	58.27	11.74	23.21	14.08	46.03	0.00	0.00	25.84
	<b>p</b>	0.13	0.51	-	0.27	0.02	0.06	0.03	0.66	0.62	0.26	0.00	-	0.32	0.02	0.02	0.35	0.23	0.63
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	1	9	9	9	9	9	9	9	9	2	9	9	9	8	5	9
	<b>Media</b>	36.88	14.96	0.00	16.73	3.65	15.91	13.56	0.00	20.53	8.32	1.58	50.00	20.86	20.49	31.87	20.67	0.00	9.99
	<b>SD</b>	16.68	3.31	.	2.82	5.45	6.81	2.68	0.00	3.10	6.37	4.73	70.71	4.41	4.36	20.53	4.29	0.00	5.10
	<b>Mín.</b>	5.92	10.73	0.00	13.17	0.00	4.97	10.30	0.00	17.45	1.57	0.00	0.00	13.02	14.77	2.65	16.77	0.00	5.08
	<b>Máx.</b>	60.56	21.33	0.00	21.37	15.91	29.40	17.78	0.00	25.90	23.59	14.18	100.00	28.32	28.13	58.85	29.11	0.00	17.74
	<b>p</b>	0.03	0.42	-	0.30	0.38	0.65	0.44	-	0.35	0.13	0.35	-	0.85	0.54	0.09	0.16	-	0.61
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	1	9	9	9	9	9	9	9	9	2	9	9	9	8	5	9
	<b>Media</b>	23.90	70.22	96.78	72.22	61.65	71.66	68.08	98.21	68.20	59.79	78.07	44.13	63.75	67.86	48.11	79.33	100.00	75.63
	<b>SD</b>	22.77	5.43	.	4.43	8.59	10.60	7.03	5.37	4.83	5.33	17.09	62.41	8.61	6.00	24.36	4.29	0.00	11.62
	<b>Mín.</b>	0.00	61.48	96.78	65.67	49.54	59.57	58.92	83.88	61.21	54.74	41.73	0.00	52.17	57.82	0.00	70.89	100.00	56.42
	<b>Máx.</b>	65.76	79.08	96.78	79.13	75.31	91.66	78.74	100.00	74.61	67.52	100.00	88.26	76.43	77.04	73.98	83.23	100.00	90.73
	<b>p</b>	0.56	0.97	-	0.89	0.02	0.06	0.09	0.66	0.80	0.84	0.00	-	0.56	0.96	0.60	0.24	0.23	0.57

**Tabla 64.** Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. *p*=comparación con su grupo control (t-Student).

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	2	9	9	9	9	9	9	8	9	3	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	44.36	16.02	50.00	12.39	43.33	17.89	23.54	3.65	12.40	36.72	36.03	0.00	19.39	13.92	31.78	0.00	11.66	12.19
	<b>SD</b>	19.25	2.62	70.71	2.40	14.04	6.98	8.41	10.96	3.68	8.01	25.01	0.00	4.72	3.91	23.61	0.00	26.08	5.51
	<b>Mín.</b>	17.91	13.11	0.00	9.34	27.86	11.58	16.77	0.00	8.89	29.68	10.47	0.00	9.92	7.61	6.28	0.00	0.00	5.50
	<b>Máx.</b>	73.34	21.29	100.00	17.04	66.47	35.14	43.76	32.87	21.01	54.65	78.52	0.00	26.03	19.56	84.50	0.00	58.32	23.59
	<b>p</b>	0.37	0.82	0.42	0.97	0.33	0.22	0.80	0.99	0.75	0.89	0.28	-	0.39	0.46	0.40	0.35	0.63	0.68
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	2	9	9	9	9	9	9	8	9	3	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	34.17	12.96	50.00	14.98	3.92	15.11	11.18	0.00	18.77	7.93	0.00	66.67	19.63	17.38	22.71	16.70	0.00	8.40
	<b>SD</b>	27.79	1.60	70.71	2.57	6.70	3.81	1.72	0.00	2.40	7.90	0.00	57.74	3.44	4.08	17.40	4.55	0.00	4.42
	<b>Mín.</b>	0.00	10.84	0.00	10.16	0.00	8.73	8.20	0.00	14.21	1.50	0.00	0.00	14.42	12.29	2.26	7.99	0.00	3.10
	<b>Máx.</b>	80.29	15.29	100.00	18.52	18.77	21.05	13.47	0.00	23.00	26.59	0.00	100.00	25.62	23.78	61.43	23.33	0.00	15.17
	<b>p</b>	0.13	0.14	0.42	0.51	0.40	0.82	0.18	-	0.51	0.26	-	-	0.60	0.34	0.43	0.35	-	0.79
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	2	9	9	9	9	9	9	8	9	3	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	21.47	71.02	0.00	72.64	52.75	66.99	65.29	96.35	68.82	55.35	63.97	33.33	60.98	68.70	45.50	83.30	88.34	79.42
	<b>SD</b>	16.04	3.26	0.00	3.80	14.53	6.94	7.26	10.96	4.50	8.65	25.01	57.74	6.72	6.38	27.42	4.55	26.08	6.51
	<b>Mín.</b>	1.80	65.15	0.00	68.32	33.53	53.18	48.03	67.13	61.00	42.57	21.48	0.00	50.60	61.17	0.00	76.67	41.68	71.27
	<b>Máx.</b>	50.32	75.34	0.00	80.50	72.14	78.16	73.02	100.00	76.81	65.87	89.53	100.00	72.46	80.10	91.46	92.01	100.00	88.38
	<b>p</b>	0.36	0.67	-	0.70	0.52	0.17	0.44	0.99	0.94	0.38	0.28	-	0.78	0.79	0.81	0.28	0.63	0.54

**Tabla 65.** Porcentaje de elementos traça minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Pb+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. *p*=comparación con su grupo control (t-Student).

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	5	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	46.66	16.63	60.00	13.85	49.21	13.60	19.96	20.25	12.79	35.01	50.33	42.75	6.38	14.55	28.95	0.00	29.03	21.09
	<b>SD</b>	16.36	2.58	54.77	2.68	11.16	4.00	4.80	7.75	2.66	5.59	3.86	46.03	6.77	4.69	5.27	0.00	44.23	12.73
	<b>Mín.</b>	18.50	11.83	0.00	9.24	31.41	7.52	13.77	7.35	9.17	28.94	41.21	0.00	0.00	7.67	22.06	0.00	0.00	4.34
	<b>Máx.</b>	67.96	20.30	100.00	18.65	64.18	21.00	28.53	33.45	18.34	46.14	54.65	100.00	17.58	23.43	37.02	0.00	100.00	41.62
	<b>p</b>	0.70	0.38	0.87	0.46	0.51	0.00	0.88	0.57	0.71	0.87	0.13	0.18	0.69	0.49	0.09	-	0.51	0.92
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	5	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	43.47	18.04	40.00	24.10	26.23	14.37	16.61	48.54	28.04	19.73	37.73	57.25	8.17	24.27	42.46	6.72	22.39	17.83
	<b>SD</b>	18.76	1.95	54.77	3.67	4.59	4.55	3.42	13.64	3.15	6.84	4.72	46.03	7.79	4.11	15.21	5.15	43.50	10.22
	<b>Mín.</b>	29.34	15.78	0.00	16.91	17.41	6.39	10.80	31.24	22.06	12.38	28.36	0.00	0.00	19.04	20.92	0.00	0.00	2.89
	<b>Máx.</b>	80.31	22.13	100.00	29.03	31.42	20.26	21.34	74.95	32.53	35.76	43.57	100.00	22.00	29.99	65.25	15.59	100.00	29.14
	<b>p</b>	0.65	0.92	0.87	0.51	0.17	0.22	0.24	0.64	0.99	0.76	0.26	0.18	0.15	0.93	0.24	0.16	0.38	0.16
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	5	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	9.87	65.33	0.00	62.04	24.56	72.04	63.43	31.22	59.17	45.26	11.95	0.00	85.44	61.18	28.59	93.28	48.58	61.08
	<b>SD</b>	11.24	2.76	0.00	4.66	10.63	7.95	5.28	13.06	3.91	7.06	5.40	0.00	11.18	5.06	11.41	5.15	48.26	16.38
	<b>Mín.</b>	0.00	61.42	0.00	56.27	12.69	58.75	57.17	13.58	53.30	32.55	6.68	0.00	64.06	55.11	10.74	84.41	0.00	34.22
	<b>Máx.</b>	27.04	69.73	0.00	69.82	39.66	84.24	74.30	52.43	65.75	52.57	22.13	0.00	100.00	68.72	44.65	100.00	100.00	90.82
	<b>p</b>	0.86	0.53	-	0.37	0.21	0.01	0.60	0.92	0.80	0.91	0.52	-	0.50	0.49	0.83	0.17	0.17	0.43

**Tabla 66.** Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Cd. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. *p*=comparación con su grupo control (t-Student).

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	3	9	9	9	9	9	9	9	9	6	9	9	9	9	8	9
	<b>Media</b>	45.70	17.29	66.67	14.36	43.19	14.44	21.06	15.52	12.93	31.44	37.35	38.17	4.15	14.23	35.71	0.00	16.44	16.47
	<b>SD</b>	18.59	2.72	57.74	2.89	7.60	5.96	3.08	12.16	2.41	7.37	21.01	49.05	4.58	4.59	19.45	0.00	34.90	8.18
	<b>Mín.</b>	26.93	13.75	0.00	10.40	33.70	3.48	15.99	0.00	9.77	23.45	0.00	0.00	0.00	7.97	14.68	0.00	0.00	3.33
	<b>Máx.</b>	80.06	21.72	100.00	19.80	59.48	23.03	25.40	32.04	17.00	43.81	59.10	100.00	12.53	22.29	67.80	0.00	100.00	28.61
	<b>p</b>	0.64	0.83	1.00	0.74	0.45	0.03	0.63	0.18	0.79	0.34	0.31	0.18	0.71	0.38	0.72	-	0.88	0.30
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	3	9	9	9	9	9	9	9	9	6	9	9	9	9	8	9
	<b>Media</b>	34.99	19.41	33.33	25.24	25.74	13.66	17.40	39.56	29.23	19.02	38.06	61.83	12.75	23.51	29.19	3.61	22.16	23.17
	<b>SD</b>	22.70	2.10	57.74	2.88	16.43	6.31	3.08	12.58	2.46	10.85	21.43	49.05	9.55	3.27	8.78	2.91	41.47	13.28
	<b>Mín.</b>	4.61	16.13	0.00	20.56	0.00	1.80	11.68	12.88	25.54	0.00	0.00	0.00	0.00	15.32	16.03	0.00	0.00	7.03
	<b>Máx.</b>	64.72	22.56	100.00	29.75	59.82	25.85	22.46	53.20	32.58	36.12	77.46	100.00	31.55	25.99	48.44	7.28	100.00	50.06
	<b>p</b>	0.69	0.12	1.00	0.86	0.61	0.20	0.06	0.28	0.23	0.69	0.75	0.18	0.99	0.53	0.42	0.00	0.34	0.03
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	3	9	9	9	9	9	9	9	9	6	9	9	9	9	8	9
	<b>Media</b>	19.31	63.31	0.00	60.40	31.07	71.90	61.54	44.92	57.84	49.54	24.58	0.00	83.10	62.26	35.10	96.39	61.40	60.36
	<b>SD</b>	20.05	4.01	0.00	4.56	17.18	11.14	5.21	19.38	3.96	14.02	29.50	0.00	13.30	7.10	21.59	2.91	47.31	18.99
	<b>Mín.</b>	2.75	57.29	0.00	53.15	6.48	58.71	55.16	16.42	53.15	31.75	6.61	0.00	55.92	53.19	0.00	92.72	0.00	21.33
	<b>Máx.</b>	68.47	69.25	0.00	66.92	63.17	94.72	69.22	78.78	64.54	76.55	100.00	0.00	100.00	76.71	69.18	100.00	100.00	89.63
	<b>p</b>	0.30	0.44	-	0.90	0.99	0.04	0.19	0.09	0.54	0.39	0.32	-	0.85	0.35	0.36	0.00	0.37	0.35

**Tabla 67.** Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Cd+Pb. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. *p*=comparación con su grupo control (t-Student).

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	5	9	9	9	9	9	9	9	9	5	9	9	9	9	7	9
	<b>Media</b>	42.52	16.82	80.00	13.10	44.10	15.39	19.18	20.59	12.31	34.64	44.02	88.47	1.81	14.26	36.88	0.00	17.07	18.07
	<b>SD</b>	19.08	3.40	44.72	2.52	7.17	5.97	5.15	6.74	1.78	5.28	12.81	25.79	2.83	4.92	12.49	0.00	36.82	7.47
	<b>Mín.</b>	15.69	9.90	0.00	7.32	36.52	7.45	12.20	9.36	8.14	26.92	31.76	42.33	0.00	6.23	21.71	0.00	0.00	9.51
	<b>Máx.</b>	80.68	20.10	100.00	15.41	58.52	25.30	29.25	27.63	14.11	41.47	66.10	100.00	7.05	22.42	62.08	0.00	100.00	30.51
	<b>p</b>	0.42	0.58	0.73	0.19	0.59	0.05	0.61	0.61	0.29	0.97	0.80	0.50	0.17	0.42	0.79	-	0.86	0.50
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	5	9	9	9	9	9	9	9	9	5	9	9	9	9	7	9
	<b>Media</b>	27.15	19.24	20.00	26.27	28.63	17.17	17.19	44.83	29.55	20.84	41.86	11.53	11.17	23.62	32.05	11.38	17.27	25.99
	<b>SD</b>	12.72	3.29	44.72	4.40	9.17	3.77	2.99	13.35	4.33	5.04	14.42	25.79	5.14	5.48	10.51	7.61	36.82	13.96
	<b>Mín.</b>	11.76	12.23	0.00	17.84	15.25	9.97	13.07	28.72	20.11	16.13	14.88	0.00	0.00	12.64	17.08	0.00	0.00	2.40
	<b>Máx.</b>	49.31	23.59	100.00	32.02	43.02	21.21	22.17	64.47	34.42	32.84	59.51	57.67	18.46	31.36	47.16	22.18	100.00	43.81
	<b>p</b>	0.16	0.31	0.73	0.45	0.12	0.87	0.08	0.87	0.33	0.91	0.80	0.50	0.50	0.70	0.76	0.57	0.48	0.02
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	5	9	9	9	9	9	9	9	9	5	9	9	9	9	7	9
	<b>Media</b>	30.34	63.94	0.00	60.63	27.27	67.45	63.63	34.58	58.14	44.52	14.12	0.00	87.02	62.12	31.07	88.62	65.66	55.94
	<b>SD</b>	25.93	5.07	0.00	3.82	7.48	7.80	6.17	13.07	3.49	5.97	4.63	0.00	7.02	8.88	15.20	7.61	45.10	13.28
	<b>Mín.</b>	0.00	58.04	0.00	55.66	18.46	54.14	55.00	14.50	54.51	39.07	8.74	0.00	77.63	52.84	16.93	77.82	0.00	36.04
	<b>Máx.</b>	63.53	71.25	0.00	68.73	37.98	76.28	70.31	52.40	66.46	52.38	23.42	0.00	100.00	78.14	60.78	100.00	100.00	76.39
	<b>p</b>	0.07	0.75	-	0.80	0.38	0.16	0.69	0.61	0.64	0.91	0.99	-	0.23	0.47	0.58	0.57	0.49	0.07

**Tabla 68.** Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Cd+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. *p*=comparación con su grupo control (t-Student).

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>GD</b>	<b>n</b>	9	9	7	9	9	9	9	9	9	9	9	8	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	32.82	15.31	46.57	10.94	46.25	12.19	17.24	19.33	10.27	32.47	48.40	56.24	3.36	10.77	22.64	0.00	21.80	18.24
	<b>SD</b>	20.78	3.45	50.82	2.33	11.18	4.10	3.16	7.28	2.20	4.76	12.33	43.89	4.44	3.36	6.65	0.00	18.76	11.73
	<b>Mín.</b>	15.30	10.83	0.00	7.27	36.65	5.54	12.38	8.58	6.55	25.13	34.50	0.00	0.00	5.86	9.79	0.00	2.97	9.14
	<b>Máx.</b>	84.91	19.95	100.00	14.44	69.89	17.75	21.37	33.60	12.62	39.66	68.41	100.00	9.70	16.22	31.63	0.00	43.97	48.10
	<b>p</b>	0.09	0.11	0.59	0.01	0.98	0.00	0.08	0.41	0.01	0.42	0.55	0.44	0.50	0.00	0.01	-	0.50	0.63
<b>BR</b>	<b>n</b>	9	9	7	9	9	9	9	9	9	9	9	8	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	46.03	12.23	39.15	20.52	24.06	15.68	13.37	39.93	23.56	17.80	36.75	32.19	2.41	19.90	36.02	2.31	5.71	18.94
	<b>SD</b>	26.61	2.75	49.59	4.16	5.95	6.80	2.28	13.86	4.32	4.80	15.87	41.32	4.69	4.52	18.58	4.51	12.76	7.31
	<b>Mín.</b>	13.87	9.22	0.00	14.68	14.88	8.02	10.34	12.66	16.82	13.56	9.91	0.00	0.00	13.50	12.53	0.00	0.00	5.12
	<b>Máx.</b>	80.67	16.84	100.00	27.21	31.43	29.92	16.74	55.39	30.33	29.35	55.81	100.00	14.28	27.81	67.54	13.73	28.53	31.06
	<b>p</b>	0.55	0.00	0.87	0.01	0.63	0.54	0.09	0.33	0.02	0.22	0.52	0.78	0.00	0.02	0.80	0.00	0.91	0.04
<b>RE</b>	<b>n</b>	9	9	7	9	9	9	9	9	9	9	9	8	9	9	9	9	5	9
	<b>Media</b>	21.15	72.45	14.29	68.55	29.69	72.13	69.39	40.74	66.17	49.73	14.85	11.57	94.23	69.33	41.34	97.69	72.50	62.81
	<b>SD</b>	23.59	5.44	37.80	5.75	13.09	8.10	5.01	11.03	5.92	5.31	11.36	32.72	7.10	6.79	15.51	4.51	15.69	9.98
	<b>Mín.</b>	0.00	65.33	0.00	60.90	0.00	61.40	61.89	23.56	58.65	40.10	0.00	0.00	82.88	57.79	22.68	86.27	56.03	46.77
	<b>Máx.</b>	54.18	79.30	100.00	76.87	45.27	86.45	77.28	53.74	75.71	56.95	37.11	92.55	100.00	80.08	68.73	100.00	96.10	76.65
	<b>p</b>	0.27	0.00	0.55	0.00	0.80	0.01	0.05	0.09	0.01	0.12	0.89	0.35	0.01	0.00	0.05	0.00	0.59	0.38

**Tabla 69.** Porcentaje de elementos traza minoritarios en cada tejido tras 7 días de exposición a Cd+Pb+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos. *p*=comparación con su grupo control (t-Student).

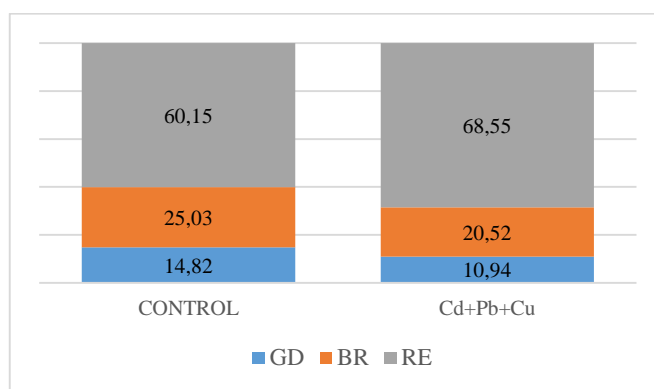


	C1	Pb	Cu	Pb+Cu	C2	Cd	Cd+Pb	Cd+Cu	Cd+Pb+Cu
<b>Al</b>	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE
<b>As</b>	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR
<b>B</b>	GD>RE>BR	RE>GD>BR	RE>GD>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR
<b>Co</b>	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR
<b>Cr</b>	GD>RE>BR	GD>RE>BR	RE>GD>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	RE>GD>BR	RE>GD>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR
<b>Fe</b>	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR
<b>Mn</b>	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE
<b>Mo</b>	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE
<b>Ni</b>	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE
<b>Se</b>	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	RE>GD>BR	RE>GD>BR	RE>GD>BR	RE>GD>BR	RE>GD>BR
<b>Sr</b>	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR
<b>Ti</b>	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE	GD>BR>RE
<b>Zn</b>	RE>GD>BR	RE>GD>BR	GD>RE>BR	RE>GD>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR	GD>RE>BR

**Tabla 70.** Orden de mayor a menor concentración de elementos traza minoritarios en los diferentes tejidos analizados (GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE= resto), para los distintos tratamientos.

Como ya se ha dicho, el B fue el elemento que más cambios significativos sufrió en las concentraciones tisulares de los organismos expuestos a los metales pesados. Así, la concentración de B en la totalidad de tejidos blandos aumentó con respecto a los grupos control en todos los grupos de exposición, excepto en la mezcla ternaria, donde disminuyeron, siendo estas diferencias significativas en las exposiciones a Pb, Cu, Pb+Cu y Cd+Pb+Cu (Tablas 56 a 58 y Tabla 62). Esta situación se repitió en los tejidos, salvo en la glándula digestiva en el caso del Pb y del Cu ( $p>0.05$ ), y siendo marginalmente significativo en el caso del resto en la mezcla ternaria ( $p=0.08$ ). No hemos encontrado referencias bibliográficas relativas a concentraciones de este elemento en moluscos bivalvos en estudios de campo ni en bioensayos, y tampoco relativos a la esencialidad de este elemento en estas especies, aunque se trata de un nutriente esencial para otros muchos organismos, necesario para el mantenimiento de las funciones de la membrana celular así como para el metabolismo de otros elementos como el Ca y el Mg (Mastromatteo y Sullivan, 1994; Emiroglu *et al.*, 2010). Respecto a la distribución tisular del B, solo observamos cambios significativos en el caso de los individuos expuestos a la mezcla ternaria (Tabla 55, Figura 47), disminuyendo la cantidad total en glándula digestiva y en branquia y aumentando en el resto. Por tanto, podemos concluir que el aumento de concentración observado (exposiciones a Pb, Cu y Pb+Cu) no ocasionó cambios en la distribución del B, mientras que la disminución de la concentración (exposición a la mezcla ternaria) sí que provocó una redistribución tisular de este elemento. Algunos autores han indicado translocaciones tisulares de algunos elementos en organismos

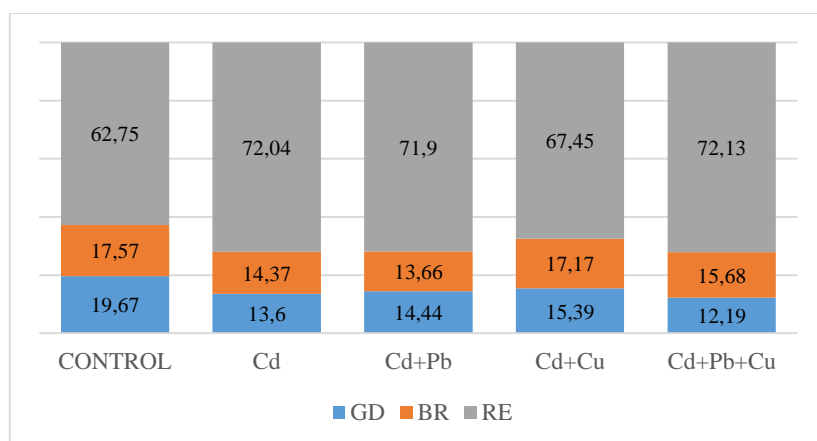
marinos (Francesconi *et al.*, 1993; Pourang y Amini, 2001; Pourang *et al.*, 2004; Pourang *et al.*, 2005; Pourang y Dennis, 2005). Por su parte, Yap *et al.* (2006), indican que las condiciones ambientales pueden afectar a la distribución de elementos traza en mejillones. Sin embargo, para que se produzca esta translocación en nuestro estudio no ha sido suficiente una exposición simple o incluso a una mezcla binaria, sino que ha tenido que ser a tres elementos tóxicos la que ocasione este proceso.



**Figura 47.** Porcentaje de B en los diferentes compartimentos analizados. Grupo control y grupo expuesto a Cd+Pb+Cu. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

El segundo ETm con más cambios significativos en su concentración tisular con respecto a los grupos control fue el Cr (Tablas 57, 59 y 62). La concentración de este elemento en el total de tejidos blandos aumentó de forma significativa en el grupo expuesto a Cd y en el expuesto a la mezcla ternaria. En el resto de grupos de exposición la concentración de Cr también aumentó, excepto en los grupos expuestos a Pb y Pb+Cu, donde disminuyó, aunque en ambos casos sin ser estadísticamente significativo. Al analizar los resultados para cada tejido comprobamos que en el caso del grupo expuesto a Cd, también había un aumento significativo de la concentración de Cr en el resto de tejidos blandos, mientras que en el grupo expuesto a la mezcla ternaria estas diferencias se produjeron además de en el resto, en la branquia. Cabe destacar que en los grupos expuestos a Pb y Pb+Cu las concentraciones de Cr en el resto de tejidos blandos y en branquia se mantuvieron sin cambios, y que en la glándula digestiva no se produjeron cambios significativos en ninguno de los grupos de exposición. Parece pues evidente que el Cd como metal y la mezcla ternaria por su complejidad, ocasionan cambios en la concentración tisular del Cr.

Además, como puede apreciarse en las Tablas 66 a 69 y en la Figura 48, la distribución tisular del Cr fue la que más se vio alterada, siendo en los grupos expuestos a Cd, a sus mezclas binarias y a la mezcla ternaria en los que se observaron estos cambios ( $p < 0.05$ ). Estos cambios consistieron en una disminución del porcentaje de Cr en glándula y en branquia y un aumento en el resto, aunque en la branquia esta disminución no era estadísticamente significativa. En este sentido algunos autores (Santos *et al.*, 2014) muestran una fuerte correlación entre Cd y Cr en *M. galloprovincialis*, así como en *M. edulis* (Giusti *et al.*, 1999; Mubiana *et al.*, 2005; Przytarska *et al.*, 2010). En nuestro estudio, esta relación solo fue detectada sobre la totalidad de tejidos blandos en el grupo expuesto a la mezcla ternaria, por lo que es posible que en esta mezcla compleja sea donde se manifieste más este efecto del Cd.



**Figura 48.** Porcentaje de Cr en los diferentes compartimentos analizados para los grupos de exposición a base de Cd. GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos.

Los restantes ETm en los que se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a las concentraciones de los grupos control fueron Sr, As, Zn, Fe, Mn, Co, Mo, Ni, Tl y Ti (Tablas 56 a 62). Estas diferencias fueron puntuales, registrándose en mayor número en la branquia, y siendo la mezcla binaria Cd+Pb en la que más veces se observó alguno de estos cambios, aunque no podríamos afirmar un patrón de respuesta claro, ni por tejido, ni por grupo de exposición, ni por el sentido de la modificación (incremento/disminución).

Algunos de estos elementos desempeñan importantes funciones en el organismo animal, sobre todo aquellos cuya concentración tisular es algo superior (Zn, Fe, Sr). Así pues el Zn participa en numerosas funciones metabólicas (Géret y Bebianno, 2004), a la par que es fundamental para la formación de metalotioneínas, proteínas de bajo peso molecular implicadas en la desintoxicación de agente exógenos, como pueden ser los metales pesados (Amiard *et al.*, 2006), jugando también un papel importante como antioxidante en la defensa ante el daño oxidativo (Bray y Bettger, 1990). En nuestro estudio, cabe resaltar que la concentración de Zn tendía al aumento en los grupos expuestos a Pb, Cu y Pb+Cu, mientras que en los grupos expuestos a Cd (solo o en forma de mezclas) disminuía, excepto en la branquia donde aumentaba (Tablas 56 a 62). Es sabido que Cd y Zn interactúan por su biodisponibilidad en organismos marinos (Wang y Fisher, 1999; Chong y Wang, 2001; Ni *et al.*, 2000), aunque la respuesta orgánica no es clara, ya que en estudios experimentales se ha comprobado tanto un aumento de la concentración de este elemento (Liu *et al.*, 2012) como una disminución (Yang y Thompson, 1996).

Por su parte, el Sr está descrito como un elemento constitutivo de las valvas (Rosenberg y Hughes, 1991; Klein *et al.*, 1996; Stecher *et al.*, 1996). Para este elemento observamos una tendencia a disminuir su concentración en los grupos expuestos a Pb y Cu, y una tendencia al aumento en el resto de grupos, aunque las concentraciones en la glándula rompía dicha regla en los grupos expuestos a Pb, Cd, Cd+Pb y Cd+Pb+Cu (Tablas 56 a 62). Sin embargo solo encontramos un aumento significativo en el caso de la concentración en la branquia de los individuos expuestos a Cd ( $p=0.02$ ), siendo marginalmente significativo en el resto y en el total de los tejidos blandos de este mismo grupo, y en el resto y totalidad de tejidos blandos de los individuos expuestos a Cd+Cu.

A pesar de ser un elemento abundante en el organismo y en ecosistemas marinos, no hemos encontrado datos en la bibliografía relativa a la fisiología de este elemento, ni a concentraciones tisulares de Sr en organismos expuestos a estos contaminantes, con los cuales comparar nuestros resultados.

En nuestro estudio, la concentración de Fe disminuyó en todos los grupos de exposición ( $p>0.05$ ), lo cual también cabría tener en cuenta ya que este elemento, el cual está unido intracelularmente a la ferritina, puede ser desplazado por elementos como el Cd y contribuir indirectamente al estrés oxidativo celular (Varotto *et al.*, 2013).

El Co es un constituyente clave de la vitamina B12 (principal depósito biológico en los organismos vivos), y sólo está biosintetizada por algunas bacterias y algas en la naturaleza (Roth *et al.*, 1996). En nuestro estudio (Tabla 60), la concentración de este elemento en el total de tejidos blandos del grupo expuesto a Cd+Pb fue inferior a la del grupo control ( $p < 0.05$ ), siendo esta disminución marginalmente significativa en la glándula digestiva del mismo grupo de exposición ( $p = 0.07$ ). Sin embargo, en el resto de grupos expuestos a Cd o a sus mezclas la disminución de la concentración de Co no fue significativa. El efecto del Cd sobre el Co fue mostrado en un estudio realizado sobre diversas especies de bivalvos como *Perna viridis*, *Chlamys nobilis*, *Ruditapes philippinarum* y *Saccostrea cucullata*, registrándose una importante disminución de la concentración tisular de Co (Liu *et al.*, 2012). Esta disminución puede ser debida a una inhibición en la asimilación del Co procedente de la dieta, principal vía de exposición para la acumulación de este elemento en *M. edulis* y otros organismos (Nolan *et al.*, 1992; Wang y Fisher, 1997). Sin embargo a nivel alimentario, los mejillones expuestos a la mezcla ternaria fueron los que más alteraciones presentaron, mientras que las diferencias en la acumulación de Co en este grupo no fueron significativas con respecto al grupo control. Por tanto, la presencia de Pb junto con la ausencia de Cu en esta mezcla binaria (Cd+Pb) podría ser *a priori*, la explicación a este resultado, aunque no hemos encontrado en la bibliografía datos relacionados con esta hipótesis.

Finalmente mencionar que no hemos encontrado información relativa a la posible participación en la fisiología de los invertebrados marinos del resto de ETm en los que hemos encontrado algunos cambios significativos en sus concentraciones (As, Mn, Mo, Ni, Tl y Ti) (Tabla 57 y Tablas 59 a 62), ni tampoco de concentraciones tisulares de los mismos en organismos expuestos a contaminantes. Para el As estas diferencias las encontramos en totalidad de tejidos blandos (grupo expuesto a Cd+Cu) y branquia (grupo expuesto a la mezcla ternaria); en el Mn las diferencias estaban en branquia (grupo expuesto a Cd); en el caso del Mo las encontramos en glándula digestiva (grupo expuesto a mezcla ternaria); para el Ni en la totalidad de tejidos blandos (grupo expuesto a Cd+Pb); en el Tl las encontramos en la branquia (grupo expuesto a Cd+Pb); y finalmente para el Ti las encontramos en la branquia (grupo expuesto a Cd). Como vemos, estas diferencias se mostraron sobre todo en branquia, aunque sería necesario ahondar más en la fisiología de estos ETm para poder obtener alguna conclusión.

En lo que respecta a cambios significativos en la distribución tisular de estos elementos (Tablas 63 a 69), cabe destacar que tanto para el Sr como para el Mn, elementos cuya concentración se situaba por encima de  $5 \text{ mg kg}^{-1}$ , se produjeron en los tres compartimentos del grupo expuesto a la mezcla ternaria. En ambos ETm, los porcentajes en glándula y en branquia disminuyeron, aumentando en el resto. Por su parte, el As, Tl y Ti de los grupos expuestos a la mezcla ternaria también sufrieron una redistribución tisular, pero afectando solo a dos compartimentos, que en el caso del As y Tl fueron branquia y resto (disminuyendo en branquia para aumentar en el resto), y en el caso del Ti en glándula digestiva (disminución) y resto (aumento). La distribución del Co y Ni se vio afectada en la exposición a Cu, disminuyendo en glándula digestiva y aumentando en el resto. Cabe destacar también que en el caso del Zn solo se vio afectado el porcentaje en branquia (grupos expuestos a Cd+Pb, Cd+Cu y mezcla ternaria), aumentando su concentración en este compartimento, lo cual podría tener alguna relación con lo indicado acerca del papel protector de este elemento. Respecto al, el compartimento afectado fue la branquia del grupo expuesto a Cu, donde aumentó su porcentaje. Y para el caso del Fe, en la glándula digestiva de los individuos expuestos a Cu disminuyó su porcentaje, mientras que aumentó en el resto de tejidos de los individuos expuestos a la mezcla ternaria. Finalmente, resulta interesante el hecho de que para el Se, si bien no existieron diferencias significativas en las concentraciones detectadas en el grupo expuesto a la mezcla ternaria, sí que encontramos cambios significativos en la compartimentación en este grupo de exposición, disminuyendo en la branquia y aumentando en el resto, lo cual podría ser relevante considerando el papel de este elemento en enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa (Flohe *et al.*, 1973; Trevisan *et al.*, 2011). Li, Mo y V fueron los únicos elementos en los que no encontramos cambios significativos, ni en su concentración titular ni en su distribución tisular. En este sentido, tampoco hemos encontrado publicaciones que detallen estos valores, aunque consideramos que nuevos estudios podrían dar información acerca del sentido de estos cambios en la compartimentación de estos ETm.

#### IV.7. Metales pesados, ETM y ETm en heces

Los procesos de eliminación de tóxicos forman parte de la normal cinética de los mismos. Según Gregus y Klaassen (2001), la excreción es un fenómeno físico mientras que la biotransformación es un mecanismo químico de eliminación de tóxicos. Los metales pesados se caracterizan por su difícil o nula biotransformación en el organismo, y en el caso de los moluscos bivalvos, su facilidad de acumulación en los distintos compartimentos corporales nos indica una escasa eliminación de los mismos. Se trata obviamente de un proceso imposible de documentar en muestras de campo, pero posible en condiciones de laboratorio. Sin embargo, la excreción de metales pesados en heces de mejillones ha sido escasamente documentada en estudios experimentales (Klerks y Fraleigh, 1997).

En nuestro estudio observamos que la concentración de Pb, Cd y Cu en heces de los grupos expuestos respondía aparentemente a un cierto patrón común (Tabla 71). Como puede apreciarse, en el caso de los grupos expuestos de forma individual a Pb y a Cd, la concentración en heces era aproximadamente 50 veces superior a la de los grupos control, mientras que en el caso de los mejillones expuestos a Cu era casi 4 veces con respecto al control. Esta ratio se mantuvo tanto para la concentración tanto de Pb como de Cd en el caso de la exposición combinada a ambos metales. Sin embargo, la relación disminuyó tanto para el Pb como para el Cd cuando las mezclas binarias eran con Cu (44 veces superior en el caso del Pb y 34 veces superior en el caso del Cd), aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Por su parte, la ratio en el caso del Cu en mezclas binarias se mantuvo constante en el caso de la mezcla Pb+Cu, disminuyendo un poco en el caso de la mezcla Cd+Cu ( $p>0.05$ ). Finalmente en el caso de la mezcla ternaria esta relación se incrementó notablemente, pasando a ser más de 200 veces la detectada en el control en el caso del Pb, casi 100 veces superior en el caso del Cd y 8 veces superior en el caso del Cu.

En organismos superiores la eliminación de los tóxicos se asocia a una cinética de primer orden, es decir exponencial (Repetto y Repetto, 2009), mientras que cuando las concentraciones son elevadas se saturan los mecanismos de eliminación y se cumple una cinética de orden cero, es decir de velocidad constante. En nuestro estudio queda claro

que la exposición a la mezcla binaria Cd+Pb no producen cambios en la tasa de eliminación con respecto a la observada en los grupos expuestos a estos metales de forma individual, mientras que en los grupos expuestos a mezclas binarias a base de Cu la eliminación de Pb y de Cd tendía a disminuir; y que ésta se ve alterada (aumentada) cuando la complejidad de la mezcla es mayor, siendo muy manifiesta la excreción del Pb (doble que la de Cd). Por tanto, si bien los moluscos bivalvos son organismos acumuladores de contaminantes marinos como los metales pesados, estos metales vuelven al lecho marino cuando las heces son eliminadas, magnificándose este efecto cuanto más compleja es la mezcla y manteniéndose por tanto, presentes en el biotopo.

Como hemos visto, la presencia de Cu en las mezclas binarias produjo pequeños cambios en la excreción de Pb, de Cd y del propio Cu. El Cu es un elemento asociado a multitud de funciones en el organismo. A este respecto cabe destacar que proteínas como las metalotioneínas han sido descritas en la homeostasis del Cu en organismos marinos (Viarengo et al., 1999), y que estas mismas proteínas están asociadas en la desintoxicación de elementos no esenciales como el Cd. Por tanto una hipótesis a lo observado podría ser la participación de estas proteínas en la retención de Pb (mezcla Pb+Cu), y de Cd y Cu en el grupo expuesto a Cd+Cu. En este caso, el estudio de metalotioneínas en tejidos de mejillón nos podrá aclarar las tendencias observadas en el caso de estas mezclas binarias. En el caso de la mezcla ternaria, un estudio de concentración de metales en heces en diferentes tiempos de exposición nos podrá aclarar si la cinética descrita para organismos superiores se mantiene en estos invertebrados.



			n	media	SD	mínimo	Máximo	p
<b>FE 1</b>	<b>CONTROL</b>	<b>Pb</b>	3	2.10	0.47	1.82	2.64	
		<b>Cd</b>	3	0.10	0.05	0.06	0.16	
		<b>Cu</b>	3	42.93	10.02	35.96	54.41	
	<b>Pb</b>	<b>Pb</b>	3	86.50	17.66	67.96	103.12	0.05*
		<b>Cd</b>	3	0.11	0.06	0.04	0.16	0.93
		<b>Cu</b>	3	47.49	9.33	36.72	53.15	0.60
	<b>Cu</b>	<b>Pb</b>	3	2.29	0.92	1.40	3.23	0.83*
		<b>Cd</b>	3	0.12	0.11	0.00	0.23	0.86
		<b>Cu</b>	3	141.93	25.24	122.08	170.33	0.00
	<b>Pb + Cu</b>	<b>Pb</b>	3	75.71	15.75	58.01	88.18	0.05*
		<b>Cd</b>	3	0.10	0.02	0.08	0.12	0.97
		<b>Cu</b>	3	142.46	6.55	135.22	147.98	0.00
<b>FE 2</b>	<b>Pb</b>	<b>Pb</b>	3	1.31	0.37	0.89	1.59	
		<b>Cd</b>	3	0.32	0.21	0.09	0.47	
		<b>Cu</b>	3	32.90	9.48	22.01	39.33	
	<b>Cd</b>	<b>Pb</b>	3	1.60	1.08	0.46	2.61	0.69
		<b>Cd</b>	3	10.25	5.24	4.84	15.30	0.03
		<b>Cu</b>	3	34.66	19.16	13.03	49.49	0.89
	<b>Cd+Pb</b>	<b>Pb</b>	3	85.27	30.47	62.58	119.90	0.04
		<b>Cd</b>	3	10.18	3.35	6.80	13.50	0.01
		<b>Cu</b>	3	32.39	15.67	18.75	49.50	0.96
	<b>Cd+Cu</b>	<b>Pb</b>	3	1.24	0.85	0.63	2.21	0.91
		<b>Cd</b>	3	7.24	4.12	3.32	11.54	0.04
		<b>Cu</b>	3	100.32	48.17	65.84	155.36	0.13
	<b>Cd+Pb+Cu</b>	<b>Pb</b>	3	385.62	39.68	351.58	429.21	0.00
		<b>Cd</b>	3	12.66	2.16	10.49	14.83	0.00
		<b>Cu</b>	3	321.31	28.57	298.95	353.51	0.00

**Tabla 71.** Concentración de Pb, Cd y Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en heces de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. FE1=fase experimental 1, FE2=fase experimental 2. *p*= comparación de cada tratamiento con su grupo control (U de Mann-Whitney).

En el caso de la excreción de los ETM (Tabla 72), no se observaron diferencias significativas en la excreción de ninguno de ellos con respecto a su grupo control, excepto en el caso del Ca en el grupo expuesto a la mezcla ternaria, donde detectamos un leve pero significativo aumento en la excreción de Ca, lo cual podría tener cierta repercusión en la estructura de las valvas a largo plazo. En este sentido una futura propuesta de trabajo sería la de evaluar la concentración de estos elementos en las conchas, tanto tras este tiempo de exposición (7 días) como a largo plazo.

En el caso de los ETm (Tabla 73) comprobamos en primer lugar que existían pocas diferencias significativas con respecto a los grupos control, siendo el grupo expuesto a la mezcla ternaria el que más presentó (incremento estadísticamente significativo de Al, As, y Ti). El Mn se incrementó en las heces de cuatros grupos de exposición (Cu, Cd, Cd+Pb y Cd+Cu, aunque en estos dos últimos la diferencia fue marginalmente significativa). Por su parte, la concentración de Mo se incrementó en el grupo expuesto a Cu, la de Zn en el grupo expuesto a Pb+Cu y la del Ti en el grupo expuesto a la mezcla ternaria. La concentración de Se disminuyó en el grupo expuesto a Cd+Cu (en el expuesto a Cd+Pb la disminución fue marginalmente significativa). Finalmente la concentración de As disminuyó en las heces de los grupos expuestos a Cd+Pb y Cd+Cu, aunque también en este caso el descenso fue marginalmente significativo. Como podemos apreciar, no existe un patrón claro en estos resultados, aunque de nuevo el grupo expuesto a la mezcla ternaria fue en el que más cambios se observaron.

No hemos encontrado estudios en los que se hagan este tipo de determinaciones con los que poder comparar nuestros resultados. Independientemente, creemos que estos resultados podrían ser de interés en futuros estudios incluso de campo, manteniendo a los ejemplares en condiciones similares de temperatura durante un breve espacio de tiempo para su purga.

		FE 1						FE 2						
		n	media	SD	mínimo	Máximo	p	n	media	SD	mínimo	Máximo	p	
CONTROL	Ca	3	2.32	0.44	1.81	2.62		Ca	3	2.19	0.34	1.80	2.41	
	K	3	0.71	0.07	0.63	0.75		K	3	0.86	0.06	0.80	0.90	
	Mg	3	1.96	0.21	1.73	2.15		Mg	3	2.16	0.15	1.99	2.27	
	Na	3	13.69	1.56	12.00	15.08		Na	3	12.76	2.98	10.23	16.05	
	P	3	0.78	0.05	0.74	0.84		P	3	0.22	0.06	0.17	0.29	
	S	3	1.86	0.23	1.66	2.11		S	3	1.50	0.16	1.39	1.67	
Pb	Ca	3	2.43	0.15	2.26	2.56	0.83	Ca	3	2.01	0.88	1.08	2.83	0.83
	K	3	0.70	0.06	0.63	0.73	0.38	K	3	0.86	0.14	0.72	1.01	0.83
	Mg	3	1.87	0.17	1.72	2.06	0.51	Mg	3	2.26	0.34	1.96	2.63	0.83
	Na	3	12.95	1.09	12.10	14.17	0.83	Na	3	14.93	4.96	10.99	20.50	0.51
	P	3	0.76	0.05	0.70	0.81	0.51	P	3	0.21	0.11	0.08	0.27	0.83
	S	3	1.72	0.41	1.33	2.14	0.83	S	3	1.53	0.30	1.30	1.88	0.83
Cu	Ca	3	2.61	0.20	2.39	2.75	0.28	Ca	3	1.98	0.62	1.41	2.64	0.83
	K	3	0.77	0.06	0.72	0.84	0.28	K	3	0.91	0.09	0.81	0.96	0.28
	Mg	3	1.99	0.26	1.80	2.29	0.83	Mg	3	2.07	0.32	1.78	2.41	0.83
	Na	3	13.48	0.99	12.57	14.54	0.83	Na	3	15.62	3.37	12.79	19.34	0.28
	P	3	0.69	0.11	0.57	0.78	0.28	P	3	0.18	0.06	0.13	0.25	0.28
	S	3	1.46	0.22	1.34	1.72	0.12	S	3	1.54	0.27	1.39	1.85	0.83
Pb+Cu	Ca	3	2.54	0.33	2.30	2.92	0.83	Ca	3	2.50	1.64	1.26	4.35	0.83
	K	3	0.76	0.05	0.71	0.81	0.28	K	3	0.97	0.14	0.81	1.08	0.28
	Mg	3	2.05	0.02	2.03	2.07	0.51	Mg	3	2.12	0.09	2.02	2.19	0.51
	Na	3	14.33	0.39	14.02	14.76	0.51	Na	3	16.70	1.94	14.46	17.88	0.13
	P	3	0.68	0.07	0.61	0.74	0.13	P	3	0.14	0.07	0.08	0.22	0.28
	S	3	1.48	0.17	1.36	1.68	0.13	S	3	1.59	0.21	1.35	1.71	0.51
Cd+Pb+Cu	Ca	3	2.86	0.38	2.57	3.29	0.05	Ca	3	2.86	0.38	2.57	3.29	0.05
	K	3	0.93	0.09	0.84	1.03	0.28	K	3	0.93	0.09	0.84	1.03	0.28
	Mg	3	2.12	0.25	1.95	2.40	0.83	Mg	3	2.12	0.25	1.95	2.40	0.83
	Na	3	15.16	1.38	14.11	16.72	0.28	Na	3	15.16	1.38	14.11	16.72	0.28
	P	3	0.20	0.01	0.19	0.22	0.83	P	3	0.20	0.01	0.19	0.22	0.83
	S	3	1.37	0.03	1.35	1.40	0.13	S	3	1.37	0.03	1.35	1.40	0.13

**Tabla 72.** Concentración de elementos traza mayoritarios ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) en heces de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. FE1=fase experimental 1, FE2= fase experimental 2.  $p$ = comparación de cada tratamiento con su grupo control (U de Mann Whitney).

FE I	CONTROL					Pb						Cu						Pb + Cu					
	n	x	SD	m	M	n	x	SD	m	M	p	n	x	SD	m	M	p	n	x	SD	m	M	p
Al	3	219.74	56.22	163.1	275.5	3	253.60	78.49	206.98	344.22	0.83	3	181.28	44.69	132.80	220.83	0.41	3	188.87	36.04	147.53	213.66	0.47
As	3	2.55	0.28	2.24	2.77	3	2.78	0.46	2.47	3.31	0.52	3	2.32	0.87	1.43	3.17	0.68	3	2.54	0.23	2.28	2.71	0.96
Be	2	0.04	0.03	0.02	0.06	2	0.06	0.04	0.03	0.08	0.71	1	0.07	.	0.07	0.07	0	1	0.04	.	0.04	0.04	0
Bi	1	0.91	.	0.91	0.91	1	0.96	.	0.96	0.96	0	ND	-	-	-	-	-	ND	-	-	-	-	-
B	3	192.51	23.69	168.42	215.77	3	205.64	21.86	186.15	229.28	0.52	3	206.06	12.94	194.82	220.21	0.43	3	199.55	19.81	176.68	211.49	0.71
Co	3	2.272	0.302	2.05	2.616	3	2.33	0.50	1.84	2.84	0.87	3	1.75	0.39	1.32	2.08	0.14	3	1.71	0.30	1.37	1.90	0.08
Cr	3	6.76	2.88	3.67	9.38	3	7.41	3.58	3.41	10.32	0.82	3	6.98	2.63	4.07	9.19	0.93	3	7.18	1.28	5.81	8.34	0.83
Fe	3	5691.15	390.21	5380.24	6129.03	3	5937.62	725.71	5336.46	6743.78	0.63	3	5501.75	693.02	5006.65	6293.75	0.70	3	5317.50	334.31	5046.51	5691.09	0.28
Li	3	3.99	0.22	3.78	4.21	3	3.85	0.29	3.65	4.18	0.54	3	4.44	1.22	3.72	5.85	0.51*	3	4.35	0.67	3.88	5.12	0.42
Mn	3	83.02	0.74	82.28	83.76	3	82.76	5.62	76.51	87.39	0.94	3	96.79	15.93	87.34	115.18	0.05*	3	98.25	9.38	90.83	108.79	0.11
Mo	3	0.62	0.06	0.56	0.68	3	0.73	0.19	0.54	0.92	0.4	3	0.78	0.07	0.73	0.86	0.04	3	0.83	0.21	0.67	1.06	0.17
Ni	3	8.784	1.798	6.99	10.59	3	10.09	3.64	6.69	13.92	0.61	3	9.59	3.22	6.15	12.54	0.73	3	8.78	2.62	6.03	11.25	1.00
Sb	ND	-	-	-	-	ND	-	-	-	-	-	ND	-	-	-	-	-	ND	-	-	-	-	-
Se	3	0.58	0.39	0.13	0.81	3	0.87	0.15	0.69	0.97	0.30	1	0.42	.	0.42	0.42	-	1	0.47	.	0.47	0.47	-
Sr	3	417.27	24.60	390.87	439.55	3	413.51	35.36	372.71	435.29	0.89	3	399.77	35.56	359.80	427.92	0.52	3	385.21	22.07	359.87	400.20	0.17
Ti	3	9.45	1.79	7.45	10.92	3	10.16	6.00	6.50	17.09	0.86	3	8.71	2.70	6.01	11.42	0.71	3	7.93	0.31	7.61	8.24	0.22
Tl	3	46.96	2.26	44.50	48.95	3	45.97	3.02	44.22	49.45	0.67	3	47.77	9.28	40.94	58.33	0.89	3	48.66	7.87	43.80	57.74	0.74
V	3	1.043	0.33	0.82	1.422	3	1.11	0.36	0.78	1.49	0.84	3	0.98	0.35	0.59	1.28	0.83	3	0.94	0.09	0.85	1.03	0.63
Zn	3	54.43	14.22	43.19	70.42	3	68.03	23.84	41.00	86.08	0.44	3	101.15	45.45	71.81	153.50	0.16	3	85.57	9.58	74.69	92.74	0.04

Tabla 73. Concentración de elementos traza minoritarios (mg Kg<sup>-1</sup>) en heces de mejillón tras 7 días de exposición para cada tratamiento. FE1=fase experimental 1, FE2=fase experimental 2. ND=datos no detectados. p= comparación de cada tratamiento con su grupo control (t-Student o \*U Mann Whitney).

FE 2	CONTROL					Cd					Cd + Pb					Cd + Cu					Cd + Pb Cu								
	n	x	SD	m	M	n	x	SD	m	M	p	n	x	SD	m	M	p	n	x	SD	m	M	p	n	x	SD	m	M	p
Al	3	170,42	42,87	124,59	209,54	3	272,94	193,38	64,97	447,32	0,42	3	159,59	82,69	94,77	252,71	0,85	3	141,07	88,93	77,37	242,67	0,63	3	310,85	56,21	246,49	350,31	0,03
As	3	2,76	1,02	1,87	3,86	3	1,88	1,14	0,64	2,86	0,38	3	1,36	0,34	1,11	1,75	0,09	3	1,35	0,44	1,08	1,86	0,09	3	4,37	0,21	4,18	4,60	0,05
Be	2	0,02	0,01	0,02	0,02	1	0,10	.	0,10	0,10	0,05	2	0,02	0,01	0,02	0,02	1,00	1	0,02	.	0,02	0,02	0,82	1	0,05	.	0,05	0,05	0,16
Bi	N D	-	-	-	-	N D	-	-	-	-		N D	-	-	-	-		N D	-	-	-	-		N D	-	-	-	-	-
B	3	171,55	25,66	145,63	196,94	3	173,79	53,94	112,00	211,43	0,95	3	153,19	27,03	128,44	182,02	0,44	3	137,02	25,12	113,57	163,52	0,17	3	162,69	13,13	151,62	177,20	0,62
Co	3	1,25	0,40	0,80	1,57	3	1,12	0,54	0,50	1,46	0,75	3	1,09	0,33	0,78	1,44	0,62	3	0,67	0,36	0,34	1,05	0,13	3	0,85	0,16	0,68	1,01	0,18
Cr	3	4,38	1,39	3,10	5,86	3	3,17	1,58	1,39	4,40	0,37	3	2,87	0,93	2,01	3,85	0,19	3	2,47	1,55	1,14	4,18	0,19	3	3,72	0,68	3,09	4,44	0,5
Fe	3	1343,10	415,59	1019,31	1811,31	3	1197,42	669,63	425,22	1617,90	0,77	3	1061.5 4	368,08	760,45	14,71,88	0,43	3	799,22	490,50	346,88	1320,57	0,22	3	1108,43	182,62	954,66	1310,28	0,42
Li	3	3,97	0,38	3,55	4,26	3	4,05	0,91	3,25	5,04	0,90	3	4,43	0,26	4,15	4,64	0,16	3	4,78	0,43	4,29	5,07	0,07	3	4,26	0,43	3,77	4,53	0,43
Mn	3	86,71	3,04	83,26	88,99	3	97,83	3,81	94,91	102,13	0,02	3	94,97	5,66	90,10	101,19	0,09	3	96,71	6,85	88,82	101,16	0,08	3	97,71	11,20	90,53	110,62	0,18
Mo	3	0,95	0,26	0,65	1,11	3	0,81	0,23	0,54	0,95	0,28*	3	0,65	0,09	0,56	0,75	0,14	3	0,75	0,22	0,54	0,99	0,37	3	1,11	0,22	0,86	1,26	0,44
Ni	3	8,29	3,19	4,85	11,15	3	7,69	4,27	2,78	10,61	0,86	3	6,95	1,88	4,79	8,23	0,57	3	5,69	3,05	3,44	9,17	0,37	3	10,58	1,52	9,19	12,20	0,32
Sb	2	0,19	0,17	0,07	0,32	N D	-	-	-	-		2	0,10	0,02	0,08	0,11	0,50	1	0,18	.	0,18	0,18	0,94	2	0,11	0,02	0,09	0,12	0,55
Se	3	1,13	0,34	0,76	1,43	1	0,17	.	0,17	0,17	-	3	0,30	0,32	0,07	0,52	0,07	3	0,18	0,04	0,15	0,21	0,03	1	0,37	.	0,37	0,37	-
Sr	3	260,25	21,90	237,40	281,05	3	231,17	40,77	184,17	257,03	0,34	3	232,50	28,13	208,24	263,33	0,25	3	255,71	77,71	194,38	343,11	0,93	3	255,13	18,72	242,46	276,64	0,77
Ti	3	3,84	1,22	2,88	5,22	3	5,73	2,77	2,57	7,75	0,34	3	4,26	1,97	2,61	6,44	0,77	3	3,94	2,39	1,58	6,37	0,95	3	7,57	1,01	6,63	8,63	0,02
Tl	3	44,43	3,42	42,40	48,37	3	46,80	8,50	38,80	55,73	0,83*	3	48,28	6,46	40,81	52,12	0,51*	3	50,82	10,87	38,53	59,19	0,51*	3	41,21	2,10	38,79	42,48	0,24
V	3	1,64	1,07	0,70	2,81	3	1,08	0,50	0,51	1,48	0,46	3	0,65	0,09	0,57	0,75	0,19	3	0,69	0,51	0,33	1,27	0,24	3	1,54	0,39	1,18	1,96	0,89
Zn	3	107,25	50,20	75,71	165,14	3	74,26	40,00	28,93	104,60	0,42	3	87,68	60,09	36,93	154,03	0,69	3	87,92	62,70	48,87	160,24	0,70	3	134,81	26,00	117,67	164,72	0,45

Tabla 73. (Continuación)



## V. CONCLUSIONES

---





**Primera.** A pesar de ser uno de los marcadores más utilizados en bioensayos, la tasa de aclaramiento en un corto periodo de tiempo (30 minutos) generó resultados dispares probablemente derivadas de las características del sistema utilizado en el bioensayo (circuito cerrado). El estudio del comportamiento alimentario en periodos más prolongados (24 horas y tiempo total), puede corregir estas imprecisiones, generando datos más estables y por lo tanto fiables, que ayuden a la comprensión de la respuesta de este biomarcador cuando no se puede disponer a nivel laboratorial de un circuito abierto.

**Segunda.** Los marcadores biométricos como el peso de la glándula, de la branquia y sus respectivos índices de condición, han mostrado una mayor utilidad que los convencionales índices de condición global en el caso de la exposición a la mezcla más compleja, lo cual podría ser de interés tanto en estudios de campo como en futuros estudios experimentales de toxicidad por mezclas de metales.

**Tercera.** Las diferencias en el comportamiento alimentario y por tanto en los datos biométricos entre los grupos expuestos a la mezcla ternaria, mezclas binarias a base de Cd, y grupos expuestos a Cu solo o en mezcla binaria, podrían tener su explicación en una cierta toleración de la especie, un posible efecto amortiguador del Cu y una cierta capacidad compensatoria entre los diferentes tejidos considerados (glándula digestiva, branquia y resto).

**Cuarta.** El estudio de respuesta inmune mediante la evaluación de la actividad fenoloxidasa fue el que presentó mayor variabilidad en la respuesta de los ejemplares de mejillón. No obstante, las diferencias y similitudes encontradas entre grupos de exposición asociadas a la composición y a número de componentes en las mezclas hacen de esta actividad un biomarcador de interés en este tipo de estudios, ya que *a priori*, parece existir una secuencia de efecto asociada a la complejidad de las mismas.

**Quinta.** La acumulación tisular de Pb y Cd presentó un diferente patrón de respuesta en exposiciones simples y en mezclas binarias. Sin embargo en todos los casos, la translocación tisular de estos metales parece indicar un efecto conservador de la distribución ante la presencia de metales pesados, siendo más evidente al aumentar la complejidad de las mezclas. En el caso del Cu, su regulación corporal se dificultó al aumentar la complejidad y toxicidad de las mezclas, pudiendo intervenir la branquia como órgano regulador en el resto de casos.

**Sexta.** La composición tisular de elementos inorgánicos mayoritarios y minoritarios (ETM y ETm) ha demostrado ser susceptible a la presencia de Pb, Cd y Cu. Este hecho, unido a la relativa facilidad de obtener esta información mediante las actuales técnicas de análisis (detección simultánea de elementos esenciales y no esenciales), debería de ser tenido en cuenta en todo tipo de estudios de contaminación por metales pesados en ecosistemas marinos.

**Séptima.** El estudio de la concentración de Pb, Cd y Cu, ETM y ETm en cada uno de los diferentes tejidos, además de aportar la información sobre la cinética de los mismos permite conocer la cantidad total de cada elemento en cada compartimento, aportando datos que habitualmente no se tiene en consideración en estudios de campo ni en bioensayos, pero que han mostrado ser dependientes de la presencia de estos contaminantes.

**Octava.** Para los marcadores analizados, la mezcla ternaria fue sin duda la forma más tóxica de todas. Resultan interesantes los efectos observados en los grupos expuestos a Cu y a mezclas a base de Cu, en ocasiones opuestos a lo detectado en el resto de grupos, lo cual podría estar relacionado a la naturaleza esencial del mismo. Igualmente la similitud de respuesta entre grupos con algún elemento en común, podría estar indicando una cierta prioridad asociada al metal en los mecanismos de toxicidad.

**Novena.** El efecto interactivo predominante en las mezclas de metales fue el aditivo, aunque en ocasiones fue la sinergia el efecto más observado. No podemos hablar de un patrón estándar de respuesta en estos términos, aunque en el caso del estudio biométrico y en la respuesta inmune analizada el resultado fue bastante homogéneo.

**Décima.** El estudio de la concentración de metales pesados, ETM y ETm en heces también mostró diferencias muy marcadas entre la mezcla ternaria y el resto de grupos de exposición, así como entre las binarias a base de Cu, por lo que el diseño de nuevos estudios de este tipo podría ayudarnos a entender mejor los mecanismos de resistencia de esta especie ante los metales así como a sus formas de exposición.

# BIBLIOGRAFÍA

---



## A

- Aanand, S., Purushothaman, C. S., Pal, A. K., & Rajendran, K. V. (2010). Toxicological studies on the effect of copper lead and zinc on selected enzymes in the adductor muscle and intestinal diverticula of the green mussel *Perna viridis*. *Indian Journal of Marine Sciences*, 39(2), 299.
- Abbott, R. T., & S. P. DANCE. (1983). *Compendium of Seashells*. E. R Dutton, Inc., New York.
- Abe, K. (2002). Preformed Cd and PO<sub>4</sub> and the relationship between the two elements in the northwestern Pacific and the Okhotsk Sea. *Marine chemistry*, 79(1), 27-36.
- Acevedo, J., Orellana, F. I., & Guíñez, R. (2010). Evaluación experimental de la toxicidad de cobre in situ sobre la fauna asociada a *Perumytilus purpuratus* (Bivalvia: Mytilidae), un ingeniero ecosistémico. *Revista de biología marina y oceanografía*, 45(3), 497-505.
- Acosta, V., & Lodeiros, C. (2001). Evaluación del efecto del cobre sobre juveniles del mejillón verde *Perna viridis* mediante la concentración de ADN y la relación ARN/ADN en el músculo abductor. *Revista Científica*, 11(6).
- Acosta, V., & Lodeiros, C. (2004). Metales pesados en la almeja *Tivela mactroides* Born, 1778 (Bivalvia: Veneridae) en localidades costeras con diferentes grados de contaminación en Venezuela Heavy metals in the clam *Tivela mactroides* Born, 1778 (Bivalvia: Veneridae) from coastal localities with different degrees of contamination in Venezuela. *Ciencias marinas*, 30(2), 323-333.
- Acosta, V., Glem, M. E., Natera, Y., Urbano, T., Himmelman, J. H., Rey-Méndez, M., & Lodeiros, C. (2009). Differential growth of the mussels *Perna perna* and *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) in suspended culture in the Golfo de Cariaco, Venezuela. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(2), 226-235.
- Acosta, V., Lodeiros, C., Nusetti, O., & Lemus, M. (2013). Biocumulación y efecto del cadmio en juveniles del mejillon verde *Perna viridis* (L. 1758) (Mytiloidea: Mytilidae). *Saber*, 25(1).
- Adam, O., Badot, P. M., Degiorgi, F., & Crini, G. (2009). Mixture toxicity assessment of wood preservative pesticides in the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.). *Ecotoxicology and Environmental safety*, 72(2), 441-449.
- Adami, G., Barbieri, P., Fabiani, M., Piselli, S., Predonzani, S., & Reisenhofer, E. (2002). Levels of cadmium and zinc in hepatopancreas of reared *Mytilus galloprovincialis* from the Gulf of Trieste (Italy). *Chemosphere*, 48(7), 671-677.
- Adams S.M., (1990). Status and use of bioindicators for evaluating effects of chronic stress on fish. *American Fisheries Society Symposium*. 8, 1-8.
- Adams, S. M., & Shorey, C. D. (1998). Energy dispersive spectroscopy of granular concretions in the mantle of the freshwater mussel *Hyridella depressa* from Lake Burragorang as a technique to monitor metals in aquatic systems. *Aquatic toxicology*, 44(1), 93-102.
- Adams, W. J., Blust, R., Borgmann, U., Brix, K. V., DeForest, D. K., Green, A. S., ... & Wood, C. M. (2011). Utility of tissue residues for predicting effects of metals on aquatic organisms. *Integrated environmental assessment and management*, 7(1), 75-98.
- Akali, I., & Kucuksezgin, F. (2011). A biomonitoring study: heavy metals in macroalgae from eastern Aegean coastal areas. *Marine pollution bulletin*, 62(3), 637-645.

- Albentosa, M., Viñas, L., Besada, V., Franco, A., & González-Quijano, A. (2012). First measurements of the scope for growth (SFG) in mussels from a large scale survey in the North-Atlantic Spanish coast. *Science of the Total Environment*, 435, 430-445.
- Alonso, Á. De Lange, H. J., & Peeters, E. T. (2010). Contrasting sensitivities to toxicants of the freshwater amphipods *Gammarus pulex* and *G. fossarum*. *Ecotoxicology*, 19(1), 133-140.
- Al-Subiai, S. N., Moody, A. J., Mustafa, S. A., & Jha, A. N. (2011). A multiple biomarker approach to investigate the effects of copper on the marine bivalve mollusc, *Mytilus edulis*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(7), 1913-1920.
- Alzieu, C. (1999). Dredging and marine environment: state of the art. *Ifremer, Plouzane (France)*. 223, 1999.
- Allan, I. J., Vrana, B., Greenwood, R., Mills, G. A., Roig, B., & González, C. (2006). A “toolbox” for biological and chemical monitoring requirements for the European Union's Water Framework Directive. *Talanta*, 69(2), 302-322.
- Amachree, D., Moody, A. J., & Handy, R. D. (2013). Comparison of intermittent and continuous exposures to cadmium in the blue mussel, *Mytilus edulis*: accumulation and sub-lethal physiological effects. *Ecotoxicology and environmental safety*, 95, 19-26.
- Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Barka, S., Pellerin, J., & Rainbow, P. S. (2006). Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 76(2), 160-202.
- Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Berthet, B., & Metayer, C. (1986). Contribution to the ecotoxicological study of cadmium, lead, copper and zinc in the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 90(3), 425-431.
- Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Metayer, C., Marchand, J., & Ferre, R. (1980). Study on the transfer of Cd, Pb, Cu and Zn in neritic and estuarine trophic chains. 1. The inner estuary of the Loire (France) in the summer of 1978. *Water Resources*, 14, 665–673.
- Amiard, J. C., Ettajani, H., Jeantet, A. Y., Ballan-Dufrançais, C., & Amiard-Triquet, C. (1995). Bioavailability and toxicity of sediment-bound lead to a filter-feeder bivalve *Crassostrea gigas* (Thunberg). *BioMetals*, 8(4), 280-289.
- Amiard-Triquet, C., Berthet, B., & Martoja, R. (1991). Influence of salinity on trace metal (Cu, Zn, Ag) accumulation at the molecular, cellular and organism level in the oyster *Crassostrea gigas* Thunberg. *Biology of metals*, 4(3), 144-150.
- Amiard-Triquet, C., Berthet, B., Metayer, C., & Amiard, J. C. (1986). Contribution to the ecotoxicological study of cadmium, copper and zinc in the mussel *Mytilus edulis*. *Marine biology*, 92(1), 7-13.
- Anandraj, A., Marshall, D. J., Gregory, M. A., & McClurg, T. P. (2002). Metal accumulation, filtration and O<sub>2</sub> uptake rates in the mussel *Perna perna* (Mollusca: Bivalvia) exposed to Hg<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup>. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 132(3), 355-363.
- Andral, B., Stanisiere, J. Y., Sauzade, D., Damier, E., Thebault, H., Galgani, F., & Boissery, P. (2004). Monitoring chemical contamination levels in the Mediterranean based on the use of mussel caging. *Marine Pollution Bulletin*, 49(9), 704-712.

- Anestis, A., Lazou, A., Pörtner, H. O., & Michaelidis, B. (2007). Behavioral, metabolic, and molecular stress responses of marine bivalve *Mytilus galloprovincialis* during long-term acclimation at increasing ambient temperature. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 293(2), R911-R921.
- Angelo, R. T., Cringan, M. S., Chamberlain, D. L., Stahl, A. J., Haslouer, S. G., & Goodrich, C. A. (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(1), 467-496.
- Annicchiarico, C., Biandolino, F., Cardellicchio, N., Di Leo, A., Giandomenico, S., & Prato, E. (2007). Predicting toxicity in marine sediment in Taranto Gulf (Ionian Sea, Southern Italy) using Sediment Quality Guidelines and a battery bioassay. *Ecotoxicology*, 16(2), 239-246.
- Aoyama, I., Okamura, H., & Yagi, M. (1987). The interaction effects of toxic chemical combinations on *Chlorella ellipsoidea*. *Toxicity assessment*, 2(3), 341-355.
- Arakel, A. V. (1995). Towards developing sediment quality assessment guidelines for aquatic systems: an Australian perspective. *Australian Journal of Earth Sciences*, 42(4), 335-369.
- Aranda, P., Planells, E., & Llopis, J. (2000). Scientific Communication: Art o Technique? *Ars Pharmaceutica*, 41(1), 91-100.
- Araúz, D., García, A., Broce, K., Rodríguez, F. y Aparicio, R. (2009). Proyecto contaminación por metales pesados en sedimentos en la Bahía de Parita, Herrera (Determinación de Metales Pesados en Sedimentos Marinos, Bahía de Parita, Panamá).
- Arnold, W., Cotsifas, J. S., Ogle, R. S., DePalma, S. G., & Smith, D. S. (2010). A comparison of the copper sensitivity of six invertebrate species in ambient salt water of varying dissolved organic matter concentrations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(2), 311-319.
- Arrieche, D., Licet, B., García, N., Lodeiros, C., & Prieto, A. (2002). Índice de condición, gonádico y de rendimiento del mejillón marrón *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae), del morro de Guarapo, Venezuela. *Interciencia*, 27(11), 613-619.
- Ashida, M., Ishizaki, Y., & Iwahana, H. (1983). Activation of pro-phenoloxidase by bacterial cell walls or  $\beta$ -1, 3-glucans in plasma of the silkworm, *Bombyx mori*. *Biochemical and biophysical research communications*, 113(2), 562-568.
- Asokan R, Arumugam M, Mullainadhan P. (1997). Activation of prophenoloxidase in the plasma and hemocytes of the marine mussel *Perna viridis* Linnaeus. *Developmental and Comparative Immunology*; 21(1), 1-12.
- Astrin, K., Bishop, D., Wetmur, J., Kaul, B., Davidow, B., Desnick, R., (1987).  $\Delta$ -Aminolevulinic Acid Dehydratase Isozymes and Lead Toxicity. *Annals of the New York Academy of Sciences* 514 (1), 23-29.
- Atli, G., & Canli, M. (2007). Enzymatic responses to metal exposures in a freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 145(2), 282-287.
- ATSDR (2004b). Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2001. Guidance Manual for the Assessment of Joint Toxic Action of Chemical Mixtures. U.S. Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA.

- ATSDR (2014). Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Division of Toxicology and Environmental Medicine Atlanta, GA 30333 (April 2014), Support document to the 2013 priority list of hazardous substances that will be the subject of toxicological profiles. [http://www.atsdr.cdc.gov/SPL/resources/ATSDR\\_2013\\_SPL\\_Support\\_Document.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/SPL/resources/ATSDR_2013_SPL_Support_Document.pdf) (accesso 12.12.2014).
- ATSDR *Toxicological Profile for cadmium (Update)* Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 2012: 1-487 URL <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=48&tid=15> (accesso 13.12.2014)
- ATSDR *Toxicological Profile for lead (Update)* Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 2007: 1-582. URL <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp.asp?id=96&tid=22> (accesso 12.12.2014)
- ATSDR, (1999b) Toxicological Profile for Cadmium Final Report. Atlanta GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 434 pp.
- ATSDR. (1999a). Toxicological profile for cadmium. U.S. Department of Health and Human Service, Public Health Service, Georgia, U.S.
- ATSDR. Toxicological profile for cadmium (Update). Atlanta, GA: Agency for toxic Substances and Disease Registry; 2008: 1-512
- ATSDR. Toxicological profile for copper (Update). Atlanta, GA: Agency for toxic Substances and Disease Registry; 2004a: 1-272
- Attig, H., Dagnino, A., Negri, A., Jebali, J., Boussetta, H., Viarengo, A., Dondero, F., Banni, M. (2010). Uptake and biochemical responses of mussels *Mytilus galloprovincialis* exposed to sublethal nickel concentrations. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73(7), 1712-1719.
- Attig, H., Kamel, N., Sforzini, S., Dagnino, A., Jamel, J., Boussetta, H., Viarengo, A., Banni, M. (2014). Effects of thermal stress and nickel exposure on biomarkers responses in *Mytilus galloprovincialis* (Lam). *Marine environmental research*, 94, 65-71.
- Au, D. W. T. (2004). The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. *Marine pollution bulletin*, 48(9), 817-834.
- Auffret, M., Mujdzic, N., Corporeau, C., & Moraga, D. (2002). Xenobiotic-induced immunomodulation in the European flat oyster, *Ostrea edulis*. *Marine environmental research*, 54(3), 585-589.
- Avery, D., Watson, R.T. (2009). Regulation of lead-based ammunition around the world. *Ingestion of lead from spent ammunition: implications for wildlife and humans*. The Peregrine Fund, Boise, Idaho, USA, 2009, p. 161-168.
- Azarbad, H., Khoi, A. J., Mirvaghefi, A., Danekar, A., & Shapoori, M. (2010). Biosorption and bioaccumulation of heavy metals by rock oyster *Saccostrea cucullata* in the Persian Gulf. *International Aquatic Research*, 2: 61-69.

**B**

- Bado-Nilles, A., Gagnaire, B., Thomas-Guyon, H., Le Floch, S., & Renault, T. (2008). Effects of 16 pure hydrocarbons and two oils on haemocyte and haemolymphatic parameters in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Toxicology in Vitro*, 22(6), 1610-1617.



- Bado-Nilles, A., Quentel, C., Auffret, M., Le Floch, S., Gagnaire, B., Renault, T., & Thomas-Guyon, H. (2009). Immune effects of HFO on European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, and Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 72(5), 1446-1454.
- Bado-Nilles, A., Renault, T., Faury, N., Le Floch, S., Quentel, C., Auffret, M., & Thomas-Guyon, H. (2010). In vivo effects of LCO soluble fraction on immune-related functions and gene transcription in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquatic toxicology*, 97(3), 196-203.
- Baier-Anderson, C., & Anderson, R. S. (2000). The effects of chlorothalonil on oyster hemocyte activation: phagocytosis, reduced pyridine nucleotides, and reactive oxygen species production. *Environmental research*, 83(1), 72-78.
- Bains, J. S., & Shaw, C. A. (1997). Neurodegenerative disorders in humans: the role of glutathione in oxidative stress-mediated neuronal death. *Brain Research Reviews*, 25(3), 335-358.
- Bainy, A. C. D., de Medeiros, M. H. G., Di Mascio, P., & de Almeida, E. A. (2006). In vivo effects of metals on the acetylcholinesterase activity of the *Perna perna* mussel's digestive gland. *Biotemas*, 19(1), 35-39.
- Balbi, T., Smerilli, A., Fabbri, R., Ciacci, C., Montagna, M., Grasselli, E., Brunelli, A., Pojana, G., Marcomini, A., Gallo, G., Canesi, L. (2014). Co-exposure to n-TiO<sub>2</sub> and Cd<sup>2+</sup> results in interactive effects on biomarker responses but not in increased toxicity in the marine bivalve *M. galloprovincialis*. *Science of The Total Environment*, 493, 355-364.
- Baldursdóttir, V. (2011). *Occurrence of different persistent organic pollutants in Atlantic cod (Gadus morhua L.) in Icelandic waters* (Doctoral dissertation, University of Akureyri).
- Ballatori, N. (2002). Transport of toxic metals by molecular mimicry. *Environmental Health Perspectives*, 110(Suppl 5), 689.
- Balls, P. W., Hull, S., Miller, B. S., Pirie, J. M., & Proctor, W. (1997). Trace metal in Scottish estuarine and coastal sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 34(1), 42-50.
- Banks, K. E., Turner, P. K., Wood, S. H., & Matthews, C. (2005). Increased toxicity to *Ceriodaphnia dubia* in mixtures of atrazine and diazinon at environmentally realistic concentrations. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(1), 28-36.
- Bao, V. W., Leung, K. M., Kwok, K. W., Zhang, A. Q., & Lui, G. C. (2008). Synergistic toxic effects of zinc pyrithione and copper to three marine species: Implications on setting appropriate water quality criteria. *Marine Pollution Bulletin*, 57(6), 616-623.
- Baqueiro-Cárdenas, E. R., Borabe, L., Goldaracena-Islas, C. G., & Rodríguez-Navarro, J. (2007). Los moluscos y la contaminación: Una revisión. *Revista mexicana de biodiversidad*, 78, 1-7.
- Baraj, B., Niencheski, F., Fillmann, G., & Martins, C. D. M. G. (2011). Assessing the effects of Cu, Cd, and exposure period on metallothionein production in gills of the Brazilian brown mussel *Perna perna* by using factorial design. *Environmental monitoring and assessment*, 179(1-4), 155-162.
- Barata, C., Baird, D. J., Nogueira, A. J. A., Soares, A. M. V. M., & Riva, M. C. (2006). Toxicity of binary mixtures of metals and pyrethroid insecticides to *Daphnia magna* Straus. Implications for multi-substance risks assessment. *Aquatic Toxicology*, 78(1), 1-14.

- Barnes, D. K., Galgani, F., Thompson, R. C., & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1985-1998.
- Bartolomé, L., Navarro, P., Raposo, J. C., Arana, G., Zuloaga, O., Etxebarria, N., & Soto, M. (2010). Occurrence and distribution of metals in mussels from the Cantabrian coast. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 59(2), 235-243.
- Barwick M, Maher W (2003) Biotransference and biomagnification of selenium, copper, cadmium, zinc, arsenic and lead in a temperate seagrass ecosystem from Lake Macquarie Estuary, NSW, Australia. *Marine Environ Res* 56:471–502
- Basha, P. S., & Rani, A. U. (2003). Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56(2), 218-221.
- Bat, L. (2005). A review of sediment toxicity bioassays using the amphipods and polychaetes. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 5, 119-139.
- Bat, L., Üstün, F., & Baki, O. G. (2012). Trace Element Concentrations in the Mediterranean Mussel *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 Caught from Sinop Coast of the Black Sea, Turkey. *Open Marine Biology Journal*, 6, 1-5.
- Batvari, B. P. D., Kamala-Kannan, S., Shanthi, K., Krishnamoorthy, R., Lee, K. J., & Jayaprakash, M. (2008). Heavy metals in two fish species (*Carangoides malabaricus* and *Belone strongylurus*) from Pulicat Lake, North of Chennai, Southeast Coast of India. *Environmental monitoring and assessment*, 145(1-3), 167-175.
- Bayer, M., Hellio, C., Maréchal, J. P., Frank, W., Lin, W., Weber, H., & Proksch, P. (2011). Antifouling bastadin congeners target mussel phenoloxidase and complex copper (II) ions. *Marine biotechnology*, 13(6), 1148-1158.
- Bayne, B. L. (1998). The physiology of suspension feeding by bivalve molluscs: an introduction to the Plymouth “TROPHEE” workshop. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 219(1), 1-19.
- Bayne, B. L., & Widdows, J. (1978). The physiological ecology of two populations of *Mytilus edulis* L. *Oecologia*, 37(2), 137-162.
- Bayne, B.L. y Newell, R.C., (1983). Physiological energetics of marine molluscs. In: The Mollusca, Vol. 4, Physiology, Part 1. Saleuddin, A.S.M. y Wilbur, K.W. (eds.) *Academic Press. New York*. Pp. 407-515.
- Bayne, B.L., Bayne, C.J., Carefoot, T.C., Thompson, R.J., (1976). The physiological ecology of *Mytilus californianus* Conrad. *Oecologia* 22 (3), 229–250.
- Bazzi, A. O. (2014). Heavy metals in seawater, sediments and marine organisms in the Gulf of Chabahar, Oman Sea. *Journal of Oceanography and Marine Science*, 5(3), 20-29.
- Bebianno, M. J., & Langston, W. J. (1992). Cadmium induction of metallothionein synthesis in *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 103(1), 79-85.
- Bebianno, M. J., & Langston, W. J. (1999). Metallothionein induction in mussels exposed to a metal mixture. In *Metallothionein IV* (pp. 187-194). Birkhäuser Basel.

- Bechara, E., (1996). Oxidative stress in acute intermittent porphyria and lead poisoning may be triggered by 5-aminolevulinic acid. *Brazilian journal of medical and biological research* 29 (7), 841–851.
- Beck, N. G., Bruland, K. W., & Rue, E. L. (2002). Short-term biogeochemical influence of a diatom bloom on the nutrient and trace metal concentrations in South San Francisco Bay microcosm experiments. *Estuaries*, 25(6), 1063-1076.
- Beesley PL, Ross GJB, Wells A: *Mollusca: The Southern Synthesis*. CSIRO Publishing, Melbourne; 1998.
- Beiras, R., & His, E. (1995). Effects of dissolved mercury on embryogenesis, survival, growth of *Mytilus galloprovincialis* mussel larvae. Marine Ecology Progress Series, 126(1-3), 185-189.
- Belabed, W., Kestali, N., Semsari, S., & Gaid, A. (1994). Evaluation de la toxicité de quelques métaux lourds à l'aide du test daphnie. *TSM. Techniques sciences méthodes, génie urbain génie rural*, (6), 331-335.
- Bellas, J. (2008). Prediction and assessment of mixture toxicity of compounds in antifouling paints using the sea-urchin embryo-larval bioassay. *Aquatic toxicology*, 88(4), 308-315.
- Bellas, J., Albertosa-Verdú, M., Vidal-Liñán, L., Besada, V., Franco-Hernández, M. Á., Fumega, J., ... & Beiras, R. (2014). Combined use of chemical, biochemical and physiological variables in mussels for the assessment of marine pollution along the N-NW Spanish coast. <http://agris.fao.org/agris>.
- Bellas, J., Granmo, Å. & Beiras, R. (2005). Embryotoxicity of the antifouling biocide zinc pyrithione to sea urchin (*Paracentrotus lividus*) and mussel (*Mytilus edulis*). *Marine pollution bulletin*, 50(11), 1382-1385.
- Beltrí G. (2015). Diferencias en la actividad fenoloxidasas de hemolinfa de mejillón silvestre (*Mytilus galloprovincialis*) asociadas a factores ambientales: estacionalidad en el muestreo y calidad ambiental. Trabajo de Fin de Máster. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.
- Benavides, M. P., Gallego, S. M., & Tomaro, M. L. (2005). Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 21-34.
- Benedicto, J., Andral, B., Martínez-Gómez, C., Guitart, C., Deudero, S., Cento, A.,... & Galgani, F. (2011). A large scale survey of trace metal levels in coastal waters of the Western Mediterranean basin using caged mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Journal of Environmental Monitoring*, 13(5), 1495-1505.
- Bernier, J., Brousseau, P., Krzystyniak, K., Tryphonas, H., & Fournier, M. (1995). Immunotoxicity of heavy metals in relation to Great Lakes. *Environmental Health Perspectives*, 103(Suppl 9), 23.
- Bertin, G., & Averbeck, D. (2006). Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review). *Biochimie*, 88(11), 1549-1559.
- Bertine, K. K., & Goldberg, E. D. (1971). Fossil fuel combustion and the major sedimentary cycle. *Science*, 173(3993), 233-235.
- Bervoets, L., Voets, J., Covaci, A., Chu, S., Qadah, D., Smolders, R., Schepens, P., Blust, R. (2005). Use of transplanted zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) to assess the bioavailability of microcontaminants in Flemish surface waters. *Environmental science & technology*, 39(6), 1492-1505.

- Besada, V., Andrade, J. M., Schultze, F., & González, J. J. (2011a). Comparison of the 2000 and 2005 spatial distributions of heavy metals in wild mussels from the North-Atlantic Spanish coast. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(3), 373-381.
- Besada, V., Andrade, J. M., Schultze, F., & González, J. J. (2011b). Monitoring of heavy metals in wild mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Spanish North-Atlantic coast. *Continental Shelf Research*, 31(5), 457-465.
- Besada, V., Sericano, J. L., & Schultze, F. (2014). An assessment of two decades of trace metals monitoring in wild mussels from the Northwest Atlantic and Cantabrian coastal areas of Spain, 1991–2011. *Environment international*, 71, 1-12.
- Bijma, J., Poertner, H. O., Yesson, C., & Rogers, A. D. (2013). Climate change and the oceans—What does the future hold? *Marine pollution bulletin*, 74(2), 495-505.
- Bindya P.V. (2008). Haematological responses of green mussel *Perna viridis* (Linnaeus) to heavy metals copper and mercury (Doctoral dissertation), Cochin University of Science and Technology.
- Birceanu, O., Chowdhury, M. J., Gillis, P. L., McGeer, J. C., Wood, C. M., & Wilkie, M. P. (2008). Modes of metal toxicity and impaired branchial ionoregulation in rainbow trout exposed to mixtures of Pb and Cd in soft water. *Aquatic toxicology*, 89(4), 222-231.
- Birge, W.J., and J.A. Black. 1979. Effects of copper on embryonic and juvenile stages of aquatic animals. In *Copper in the environment*. Part II. Health effects, ed. J.O. Nriagu, 373–99. New York: John Wiley & Sons.
- Black, M. C., Ferrell, J. R., Horning, R. C., & Martin, L. K. (1996). DNA strand breakage in freshwater mussels (*Anodonta grandis*) exposed to lead in the laboratory and field. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15(5), 802-808.
- Blackmore, G., & Wang, W. X. (2002). Uptake and efflux of Cd and Zn by the green mussel *Perna viridis* after metal preexposure. *Environmental science & technology*, 36(5), 989-995.
- Blandin, P., (1986). Bioindicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. *Bulletin d'écologie*, 17(4), 211-307.
- Blasco J, Puppo J, Sarasquete M C. 1993. Acid and alkaline phosphatase activities in the clam *Ruditapes Philippinarum*. *Mar. Biol.* 115: 113-118.
- Blazer, V.S., Fournie, J.W., Wolf, J.C., Wolfe, M.J., (2007). Manual for the Microscopic Diagnosis of proliferative liver and skin lesions in the brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*). Pennsylvania Sea Grant, Pa. (ERL, GB 1291).
- Blazka, M. E., & Shaikh, Z. A. (1991). Differences in cadmium and mercury uptakes by hepatocytes: role of calcium channels. *Toxicology and applied pharmacology*, 110(2), 355-363.
- Bleeker, E. A. J., Kraak, M. H. S., & Davids, C. (1992). Ecotoxicity of lead to the zebra mussel *Dreissena Polymorpha*, Pallas. *Hydrobiological Bulletin*, 25(3), 233-236.
- Boalt, E., Miller, A., & Dahlgren, H. (2014). Distribution of cadmium, mercury, and lead in different body parts of Baltic herring (*Clupea harengus*) and perch (*Perca fluviatilis*): Implications for environmental status assessments. *Marine pollution bulletin*, 78(1), 130-136.
- Boening, D. W. (1999). An evaluation of bivalves as biomonitors of heavy metals pollution in marine waters. *Environmental monitoring and assessment*, 55(3), 459-470.

- Boisson, F., Hartl, M. G., Fowler, S. W., & Amiard-Triquet, C. (1998). Influence of chronic exposure to silver and mercury in the field on the bioaccumulation potential of the bivalve *Macoma balthica*. *Marine Environmental Research*, 45(4), 325-340.
- Bolin, B., (1960). On the exchange of carbon dioxide between the atmosphere and the sea, *Tellus*, 12(3), 274-281.
- Bollhöfer, A. (2012). Stable lead isotope ratios and metals in freshwater mussels from a uranium mining environment in Australia's wet-dry tropics. *Applied Geochemistry*, 27(1), 171-185.
- Bongiorno, T., Iacumin, L., Tubaro, F., Marcuzzo, E., Sensidoni, A., & Tulli, F. (2015). Seasonal changes in technological and nutritional quality of *Mytilus galloprovincialis* from suspended culture in the Gulf of Trieste (North Adriatic Sea). *Food chemistry*, 173, 355-362.
- Boran, M., & Altinok, I. (2010). A review of heavy metals in water, sediment and living organisms in the Black Sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10(4).
- Borchardt, T. (1983). Influence of food quantity on the kinetics of cadmium uptake and loss via food and seawater in *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 76(1), 67-76.
- Borcherding, J. (1994). The " Dreissena-Monitor"- Improved evaluation of dynamic limits for the establishment of alarm-thresholds during toxicity tests and for continuous water control. *Lewis Publishers, Boca Raton, FL (USA)*. 477-484.
- Bordajandi, L. R., Gómez, G., Fernández, M. A., Abad, E., Rivera, J., & González, M. J. (2003). Study on PCBs, PCDD/Fs, organochlorine pesticides, heavy metals and arsenic content in freshwater fish species from the River Turia (Spain). *Chemosphere*, 53(2), 163-171.
- Bouché, M. L., Habets, F., Biagianti-Risbourg, S., & Vernet, G. (2000). Toxic effects and bioaccumulation of cadmium in the aquatic oligochaete *Tubifex tubifex*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 46(3), 246-251.
- Boudjema, K., Kourdali, S., Bounakous, N., Meknachi, A., & Badis, A. (2014). Catalase Activity in Brown Mussels (*Perna perna*) under Acute Cadmium, Lead, and Copper Exposure and Depuration Tests. *Journal of Marine Biology*, 2014.
- Bouilly, K., Gagnaire, B., Bonnard, M., Thomas-Guyon, H., Renault, T., Miramand, P., & Lapègue, S. (2006). Effects of cadmium on aneuploidy and hemocyte parameters in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquatic toxicology*, 78(2), 149-156.
- Box, A., Sureda, A., Galgani, F., Pons, A., Deudero, S., 2007. Assessment of environmental pollution at Balearic Islands applying oxidative stress biomarkers in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 146 (4), 531-539.
- Boyle, E. A., Sclater, F., & Edmond, J. M. (1976). On the marine geochemistry of cadmium. *Nature*, 263(5572), 42-44.
- Brahim Errahmani, M., Zouaoui, F., & Bendjoudi, D. (2014). Metabolic Effects in the Bivalve *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis*: Impact on the Environment due to Contamination by Copper. *Journal of Marine Biology*, 2014.
- Branco, D. P. R. (2011). *Metallothionein functions: metal chelation and antioxidant activity*. Tesis de Grado. Universidad de Aveiro. Aveiro

- Brand, L. E., Sunda, W. G., & Guillard, R. R. (1986). Reduction of marine phytoplankton reproduction rates by copper and cadmium. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 96(3), 225-250.
- Bray, T. M., & Bettger, W. J. (1990). The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(3), 281-291.
- Brooks, S. J., Farnen, E., Heier, L. S., Blanco-Rayón, E., & Izagirre, U. (2015). Differences in copper bioaccumulation and biological responses in three *Mytilus* species. *Aquatic Toxicology*, 160, 1-12.
- Brown, B. E., & Newell, R. C. (1972). The effect of copper and zinc on the metabolism of the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 16(2), 108-118.
- Brügmann, L. (1981). Heavy metals in the Baltic Sea. *Marine pollution bulletin*, 12(6), 214-218.
- Bruland, K. W. (1980). Oceanographic distributions of cadmium, zinc, nickel, and copper in the North Pacific. *Earth and Planetary Science Letters*, 47(2), 176-198.
- Bruland, K. W., Knauer, G. A., & Martin, J. H. (1978). Cadmium in northeast Pacific waters 1. *Limnology and Oceanography*, 23(4), 618-625.
- Bruland, K.W., Lohan, M.C. (2003) Controls of Trace Metals in Seawater, The Oceans and Marine Geochemistry. In Holland, H.D., Turekian, K.K., (Eds.) *Treatise on Geochemistry* Vol. 6, Amsterdam: Elsevier, Ltd.; p. 23–47.
- Bryan, G. W., & Langston, W. J. (1992). Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environmental Pollution*, 76(2), 89-131.
- Buffet, P. E., Zalouk-Vergnoux, A., Châtel, A., Berthet, B., Métais, I., Perrein-Ettajani, H. ... & Mouneyrac, C. (2014). A marine mesocosm study on the environmental fate of silver nanoparticles and toxicity effects on two endobenthic species: the ragworm *Hediste diversicolor* and the bivalve mollusc *Scrobicularia plana*. *Science of the Total Environment*, 470, 1151-1159.
- Bulet, P., Hetru, C., Dimarcq, J. L., & Hoffmann, D. (1999). Antimicrobial peptides in insects; structure and function. *Developmental & Comparative Immunology*, 23(4), 329-344.
- Burger, J. (2006). Bioindicators: a review of their use in the environmental literature 1970–2005. *Environmental Bioindicators*, 1(2), 136-144.
- Burlando, B., Bonomo, M., Capri, F., Mancinelli, G., Pons, G., & Viarengo, A. (2004). Different effects of  $Hg^{2+}$  and  $Cu^{2+}$  on mussel (*Mytilus galloprovincialis*) plasma membrane  $Ca^{2+}$ -ATPase:  $Hg^{2+}$  induction of protein expression. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP*, 139(4), 201-207.
- Burridge, L., Weis, J. S., Cabello, F., Pizarro, J., & Bostick, K. (2010). Chemical use in salmon aquaculture: a review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture*, 306(1), 7-23.
- Burton, G. A., & Nordstrom, J. F. (2004). An in situ toxicity identification evaluation method part I: laboratory validation. *Environmental toxicology and chemistry*, 23(12), 2844-2850.
- Busk, S. A. (2011). Nanostructured titanium dioxide: fate in the aquatic environment and effects on the marine mussel *Mytilus edulis*. (Tesis de master) University of Stavanger, Norway

- Byrkit, D. R. (1975). *Elements of statistics*, 2<sup>nd</sup> ed. D. Van Nostrand Publishing Company, New York, 431 pp.
- Byrne, M., & Vesk, P. A. (2000). Elemental composition of mantle tissue granules in *Hyridella depressa* (Unionida) from the Hawkesbury-Nepean River system, Australia: inferences from catchment chemistry. *Marine and freshwater research*, 51(2), 183-192.

## C

- Cáceres-Martínez, J. y Figueras, A., (2007). Estudios sobre el ciclo gonadal. En: *Biología y cultivo del mejillón (Mytilus galloprovincialis) en Galicia*. Figueras A. (ed). Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid, España. Pp. 47-60.
- Cáceres-Martínez, J., & Figueras, A. (1998). Distribution and abundance of mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lmk) larvae and post-larvae in the Ría de Vigo (NW Spain). *Journal of experimental marine biology and ecology*, 229(2), 277-287.
- Cajaraville, M. P., Bebianno, M. J., Blasco, J., Porte, C., Sarasquete, C., & Viarengo, A. (2000). The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Science of the Total Environment*, 247(2), 295-311.
- Calabrese, A., MacInnes, J. R., Nelson, D. A., Greig, R. A., & Yevich, P. P. (1984). Effects of long-term exposure to silver or copper on growth, bioaccumulation and histopathology in the blue mussel *Mytilus edulis*. *Marine Environmental Research*, 11(4), 253-274.
- Calisi, A., Lionetto, M. G., Caricato, R., Giordano, M. E., & Schettino, T. (2008). Morphometric alterations in *Mytilus galloprovincialis* granulocytes: a new biomarker. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(6), 1435-1441.
- Callender, E. Heavy metals. The environment-historical trends. In Holland, H.D., Turekian, K.K., (Eds.) *Treatise on Geochemistry* Vol. 9, Amsterdam: Elsevier, Ltd.; 2003, p. 67–105.
- Camacho, A.P. (1991). *Cultivo do Mexillón na Batea*, Ed. Alva. A Coruña, España.
- Campos, A., Tedesco, S., Vasconcelos, V., & Cristobal, S. (2012). Proteomic research in bivalves: Towards the identification of molecular markers of aquatic pollution. *Journal of proteomics*, 75(14), 4346-4359.
- Camus, L., Pampanin, D. M., Volpato, E., Delaney, E., Sanni, S., & Nasci, C. (2004). Total oxyradical scavenging capacity responses in *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the Venice lagoon (Italy) to measure the biological impact of anthropogenic activities. *Marine pollution bulletin*, 49(9), 801-808.
- Canesi, L., Ciacci, C., Piccoli, G., Stocchi, V., Viarengo, A., & Gallo, G. (1998). In vitro and in vivo effects of heavy metals on mussel digestive gland hexokinase activity: the role of glutathione. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 120(2), 261-268.
- Canesi, L., Viarengo, A., Leonzio, C., Filippelli, M., & Gallo, G. (1999). Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues. *Aquatic Toxicology*, 46(1), 67-76.
- Canli, M. (2000). Elimination of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) metals from tissues of a freshwater fish *Tilapia zilli*. *Turkish Journal of Zoology*, 24, 429-36.

- Canli, M., & Stagg, R. M. (1996). The effects of in vivo exposure to cadmium, copper and zinc on the activities of gill ATPases in the Norway lobster, *Nephrops norvegicus*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 31(4), 494-501.
- Cannuel, R.; Behninger, G.; McCombi, H. y Bourdry, P. (2009). Gill development and its functional and evolutionary implications in the blue mussel *Mytilus edulis* (Bivalvia: Mytilidae). *Biological Bulletin*, 217(2), 173-188.
- Carballal, M. J., López, C., Azevedo, C., & Villalba, A. (1997). Enzymes involved in defense functions of hemocytes of mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Journal of invertebrate pathology*, 70(2), 96-105.
- Carbonell, G., & Tarazona, J. V. (1993). A proposed method to diagnose acute copper poisoning in cultured rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). *Science of the total environment*, 134, 1329-1334.
- Cardellicchio, N., Annicchiarico, C., Assennato, G., Blonda, M., Di Leo, A., Giandomenico, S., Lopez, L., Spada, L., Ungaro, L. (2010). Preliminary results of pollutants Biomonitoring in coastal marine and transitional waters of Apulia Region (Southern Italy). *Fresenius Environmental Bulletin*, 19 (9), 1841-1847.
- Cardellicchio, N., Buccolieri, A., Di Leo, A., Giandomenico, S., & Spada, L. (2008). Levels of metals in reared mussels from Taranto Gulf (Ionian Sea, Southern Italy). *Food Chemistry*, 107(2), 890-896.
- Cardwell, R. D., DeForest, D. K., Brix, K. V., & Adams, W. J. (2013). Do Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn Biomagnify in Aquatic Ecosystems? In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 226* (pp. 101-122). Springer New York.
- Carro, N., García, I., Ignacio, M., & Mouteira, A. (2004). Possible influence of lipid content on levels of organochlorine compounds in mussels from Galicia coast (Northwestern, Spain). Spatial and temporal distribution patterns. *Environment international*, 30(4), 457-466.
- Cartier, S., Pellerin, J., Fournier, M., Tamigneaux, E., Girault, L., & Lemaire, N. (2004). Use of an index based on the blue mussel (*Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus*) digestive gland weight to assess the nutritional quality of mussel farm sites. *Aquaculture*, 241(1), 633-654.
- Carton, Y., & Nappi, A. J. (1997). Drosophila cellular immunity against parasitoids. *Parasitology Today*, 13(6), 218-227.
- Casas, S., & Bacher, C. (2006). Modelling trace metal (Hg and Pb) bioaccumulation in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, applied to environmental monitoring. *Journal of Sea Research*, 56(2), 168-181.
- Casas, S., Gonzalez, J. L., Andral, B., & Cossa, D. (2008). Relation between metal concentration in water and metal content of marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*): impact of physiology. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(7), 1543-1552.
- Cassee, F. R., Groten, J. P., Bladeren, P. J. V., & Feron, V. J. (1998). Toxicological evaluation and risk assessment of chemical mixtures. *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 28(1), 73-101.
- Castillo, M. A., Trujillo, I. S., Alonso, E. V., de Torres, A. G., & Pavón, J. C. (2013). Bioavailability of heavy metals in water and sediments from a typical Mediterranean Bay (Málaga Bay, Region of Andalucía, Southern Spain). *Marine pollution bulletin*, 76(1), 427-434.
- Castillo Morales, G. (Ed), 2004. Ensayos Toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones IDRC/IMTA, México, 202 p.



- Caurant, F., Aubail, A., Lahaye, V., Van Canneyt, O., Rogan, E., López, A., & Bustamante, P. (2006). Lead contamination of small cetaceans in European waters—the use of stable isotopes for identifying the sources of lead exposure. *Marine environmental research*, 62(2), 131-148.
- Çayır, A., Coşkun, M., & Coşkun, M. (2012). Evaluation of metal concentrations in mussel *M. galloprovincialis* in the Dardanelles Strait, Turkey in regard of safe human consumption. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 89(1), 91-95.
- Celis-Hernández, O., Rosales-Hoz, L., & Carranza-Edwards, A. (2013). Heavy metal enrichment in surface sediments from the SW Gulf of Mexico. *Environmental monitoring and assessment*, 185(11), 8891-8907.
- Cevik, U., Damla, N., Kobya, A. I., Bulut, V. N., Duran, C., Dalgic, G., & Bozacı, R. (2008). Assessment of metal element concentrations in mussel (*M. galloprovincialis*) in Eastern Black Sea, Turkey. *Journal of hazardous materials*, 160(2), 396-401.
- Chakraborty, S., Ray, M., & Ray, S. (2013). Cell to organ: Physiological, immunotoxic and oxidative stress responses of *Lamellidens marginalis* to inorganic arsenite. *Ecotoxicology and environmental safety*, 94, 153-163.
- Chan, H. M. (1988). Accumulation and tolerance to cadmium, copper, lead and zinc by the green mussel *Perna viridis*. *Marine ecology progress series. Oldendorf*, 48(3), 295-303.
- Chan, M. K., Othman, R., Zubir, D., & Salmijah, S. (2002). Induction of a putative metallothionein gene in the blood cockle, *Anadara granosa*, exposed to cadmium. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 131(2), 123-132.
- Chandran, R., Sivakumar, A. A., Mohandass, S., & Aruchami, M. (2005). Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in the gastropod, *Achatina fulica*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 140(3), 422-426.
- Chang, C. C., Lee, P. P., Liu, C. H., & Cheng, W. (2006). Trichlorfon, an organophosphorus insecticide, depresses the immune responses and resistance to *Lactococcus garvieae* of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish & shellfish immunology*, 20(4), 574-585.
- Chapman, P. M., Wang, F., Janssen, C., Persoone, G., & Allen, H. E. (1998). Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55(10), 2221-2243.
- Charalampides, G., & Manoliadis, O. (2002). Sr and Pb isotopes as environmental indicators in environmental studies. *Environment international*, 28(3), 147-151.
- Chase, M. E., Jones, S. H., Hennigar, P., Sowles, J., Harding, G. C. H., Freeman, K., Wells, P.G., Krahforst, C., Coombs, K., Crawford, R., Pederson, J., Taylor, D. (2001). Gulfwatch: Monitoring spatial and temporal patterns of trace metal and organic contaminants in the Gulf of Maine (1991–1997) with the blue mussel, *Mytilus edulis* L. *Marine Pollution Bulletin*, 42(6), 490-504.
- Chen, C. W., Kao, C. M., Chen, C. F., & Dong, C. D. (2007). Distribution and accumulation of heavy metals in the sediments of Kaohsiung Harbor, Taiwan. *Chemosphere*, 66(8), 1431-1440.
- Cheng, W., Xie, Z., Blais, J. M., Zhang, P., Li, M., Yang, C., et al., (2013). Organophosphorus esters in the oceans and possible relation with ocean gyres. *Environmental Pollution*, 180, 159-164.

- Cheung V. V., Galloway T. S. and Depledge M. H., (2004). Chemical disruption of biological phenomena [online]. In Encyclopedia of Life and Sustainable Development. Oxford: EOLSS Publishers and UNESCO Publishing. Available from: <http://www.eolss.net> (acceso 31/12/2014)
- Cheung, C. C. C., Zheng, G. J., Li, A. M. Y., Richardson, B. J., & Lam, P. K. S. (2001). Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicology*, 52(3), 189-203.
- Chi, C. F., Zhang, J. S., Wu, C. W., Xu, M. Y., & Wang, B. (2012, October). Trace Elements Compositions and Fatty Acid Profiles of Mussel. In *Advanced Materials Research* (Vol. 554, pp. 1064-1067).
- Chiarelli, R., Agnello, M., Bosco, L., & Roccheri, M. C. (2014). Sea urchin embryos exposed to cadmium as an experimental model for studying the relationship between autophagy and apoptosis. *Marine environmental research*, 93, 47-55.
- Choi, C. Y., An, K. W., Nelson, E. R., & Habibi, H. R. (2007). Cadmium affects the expression of metallothionein (MT) and glutathione peroxidase (GPX) mRNA in goldfish, *Carassius auratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 145(4), 595-600.
- Chong, K., & Wang, W. X. (2001). Comparative studies on the biokinetics of Cd, Cr, and Zn in the green mussel *Perna viridis* and the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Environmental Pollution*, 115(1), 107-121.
- Chow, C. K. (1979). Nutritional influence on cellular antioxidant defense systems. *American Journal of Clinical Nutrition (USA)*. 32, 1066-1081.
- Ciacci, C., Barmo, C., Gallo, G., Maisano, M., Cappello, T., D'Agata, A., Leonzio, C., Mauceri, A., Fasulo, S., Canesi, L. (2012). Effects of sublethal, environmentally relevant concentrations of hexavalent chromium in the gills of *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology*, 120, 109-118.
- Cima, F., & Ballarin, L. (2012). Immunotoxicity in ascidians: Antifouling compounds alternative to organotins: III–The case of copper (I) and Irgarol 1051. *Chemosphere*, 89(1), 19-29.
- Claisse, D. (1989). Chemical contamination of French coasts: the results of a ten years mussel watch. *Marine Pollution Bulletin*, 20(10), 523-528.
- Claisse, D., & Alzieu, C. (1993). Copper contamination as a result of antifouling paint regulations? *Marine Pollution Bulletin*, 26(7), 395-397.
- Clausen, I. B., & Riisgård, H. U. (1996). Growth, filtration and respiration in the mussel *Mytilus edulis*: no evidence for physiological regulation of the filter-pump to nutritional needs. *Marine ecology progress series. Oldendorf*, 141(1), 37-45.
- Clemow, Y. H., & Wilkie, M. P. (2015). Effects of Pb plus Cd mixtures on toxicity, and internal electrolyte and osmotic balance in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 161, 176-188.
- Cleuvers, M., 2003. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters* 142, 185–194.
- Cleuvers, M. (2004). Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59(3), 309-315.

- Coates, C. J., & Nairn, J. (2014). Diverse immune functions of hemocyanins. *Developmental & Comparative Immunology*, 45(1), 43-55.
- Coles, J. A., & Pipe, R. K. (1994). Phenoloxidase activity in the haemolymph and haemocytes of the marine mussel *Mytilus edulis*. *Fish & Shellfish Immunology*, 4(5), 337-352.
- Coles, J. A., Farley, S. R., & Pipe, R. K. (1994). Effects of fluoranthene on the immunocompetence of the common marine mussel, *Mytilus edulis*. *Aquatic toxicology*, 30(4), 367-379.
- Coles, J. A., Farley, S. R., & Pipe, R. K. (1995). Alteration of the immune response of the common marine mussel *Mytilus edulis* resulting from exposure to cadmium. *Diseases of Aquatic Organisms*, 22(1), 59-65.
- Collen, J. D., Baker, J. A., Dunbar, R. B., Rieser, U., Gardner, J. P., Garton, D. W., & Christiansen, K. J. (2011). The atmospheric lead record preserved in lagoon sediments at a remote equatorial Pacific location: Palmyra Atoll, northern Line Islands. *Marine pollution bulletin*, 62(2), 251-257.
- Comisión Asesora Europea sobre Pesca, (1980). European Inland Fisheries Advisory Commission, 1980. Report on combined effects on freshwater fish and other aquatic life of mixtures of toxicants in water. EIFAC Technical Paper No. 37, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Company, R., Serafim, A., Cosson, R., Camus, L., Shillito, B., Fiala-Medioni, A., Bebianno, M.J., (2006). The effect of cadmium on antioxidant responses and the susceptibility to oxidative stress in the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus*. *Marine Biology*, 148(4), 817-825.
- Company, R., Serafim, A., Lopes, B., Cravo, A., Kalman, J., Riba, I., Delvalls, T.A., Blasco, J., Delgado, J., Sarmiento, A.M., Nieto, J.M., Shepherd, T.J., Nowell, G., Bebianno, M.J., (2011). Source and impact of lead contamination on  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase activity in several marine bivalve species along the Gulf of Cadiz. *Aquatic Toxicology* 101 (1), 146-154.
- Company, R., Serafim, A., Lopes, B., Cravo, A., Shepherd, T. J., Pearson, G., & Bebianno, M. J. (2008). Using biochemical and isotope geochemistry to understand the environmental and public health implications of lead pollution in the lower Guadiana River, Iberia: A freshwater bivalve study. *Science of the total environment*, 405(1), 109-119.
- Conferencia de desarrollo sostenible de Naciones Unidas, RÍO 2012
- Connors, D. E., & Black, M. C. (2004). Evaluation of lethality and genotoxicity in the freshwater mussel *Utterbackia imbecillis* (Bivalvia: Unionidae) exposed singly and in combination to chemicals used in lawn care. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 46(3), 362-371.
- Convención de las Naciones Unidas sobre el Derecho del Mar (Montego Bay, 1982),
- Convenio de Barcelona para la prevención del Mar Mediterráneo (1976).
- Convenio de Bonn (1979)
- Convenio internacional sobre cooperación, preparación y lucha contra la contaminación por hidrocarburos (convenio OPRC) [http://www.magrama.gob.es/es/costas/temas/proteccion-del-medio-marino/convenios-internacionales/convenio\\_oprc.aspx](http://www.magrama.gob.es/es/costas/temas/proteccion-del-medio-marino/convenios-internacionales/convenio_oprc.aspx) acceso 8/03/2015
- Convenio OSPAR sobre la protección del medio ambiente marino del Atlántico Nordeste (París, 1992) [http://www.magrama.gob.es/es/costas/temas/proteccion-del-medio-marino/convenios-internacionales/convenio\\_ospar.aspx](http://www.magrama.gob.es/es/costas/temas/proteccion-del-medio-marino/convenios-internacionales/convenio_ospar.aspx), <http://www.ospar.org/>

- Convenio de Londres (1972). The International Convention on the Prevention of Marine Pollution by Dumping of Wastes and Other Matter, done at London Dec. 29, 1972, 26 UST 2403, TIAS No. 8165
- Cookson, M. R., & Shaw, P. J. (1999). Oxidative stress and motor neurone disease. *Brain pathology*, 9(1), 165-186.
- Cooper, N. L., Bidwell, J. R., & Kumar, A. (2009). Toxicity of copper, lead, and zinc mixtures to *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia carinata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(5), 1523-1528.
- Cortés-Gómez, A. A., Fuentes-Mascorro, G., & Romero, D. (2014). Metals and metalloids in whole blood and tissues of Olive Ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) from La Escobilla Beach (Oaxaca, Mexico). *Marine pollution bulletin*, 89(1), 367-375.
- Corticeiro, S. C., Lima, A. I. G., & Figueira, E. M. D. A. P. (2006). The importance of glutathione in oxidative status of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* under Cd exposure. *Enzyme and microbial technology*, 40(1), 132-137.
- Cossa, D. (1989). A review of the use of *Mytilus* spp. as quantitative indicators of cadmium and mercury contamination in coastal waters. *Oceanologica acta*, 12(4), 417-432.
- Cossa, D., Bourget, E., & Piuze, J. (1979). Sexual maturation as a source of variation in the relationship between cadmium concentration and body weight of *Mytilus edulis* L. *Marine Pollution Bulletin*, 10(6), 174-176.
- Cossa, D., Elbaz-Poulichet, F., Gnassia-Barelli, M., Roméo, M., (1993). Le plomb en milieu marin, biogéochimie et écotoxicologie. *Reperes océan n\_3*, IFREMER
- Costa JL, Domingos AI, Assis CA, Almeida PR, Moreira F, Feunteun E, Costa MJ (2008) Comparative ecology of the European eel, *Anguilla anguilla* (L., 1758), in a large Iberian river. *Environ Biol Fishes* 81:421–434
- Costa, M. M. (2008). Estudio de la respuesta inmune y expresión génica del mejillón mediterráneo *Mytilus galloprovincialis*. (Tesis Doctoral). Universidad de Vigo. Vigo
- Costas-Rodríguez, M., Lavilla, I., & Bendicho, C. (2010). Classification of cultivated mussels from Galicia (Northwest Spain) with European Protected Designation of Origin using trace element fingerprint and chemometric analysis. *Analytica chimica acta*, 664(2), 121-128.
- Cravo, A., Lopes, B., Serafim, Â. Barreira, L., Gomes, T., & Bebianno, M. J. (2009). A multibiomarker approach in *Mytilus galloprovincialis* to assess environmental quality. *Journal of Environmental Monitoring*, 11(9), 1673-1686.
- Crosby, M. P., & Gale, L. D. (1990). A review and evaluation of bivalve condition index methodologies with a suggested standard method. *Journal of Shellfish Research*, 9(1), 233-237.
- Croteau, M. N., Luoma, S. N., & Stewart, A. R. (2005). Trophic transfer of metals along freshwater food webs: Evidence of cadmium biomagnification in nature. *Limnology and Oceanography*, 50(5), 1511-1519.
- Cuesta A, Meseguer J, Esteban MÁ. (2011) *Immunotoxicological effects of environmental contaminants in teleost fish reared for aquaculture*. In: Stoytcheva M (Ed.). *Pesticides in the Modern World-Risks and Benefits*, p. 241–66.

Cullen, J. T., & Maldonado, M. T. (2013). Biogeochemistry of cadmium and its release to the environment. In *Cadmium: From Toxicity to Essentiality*, 2, 31-62. Springer Netherlands.

## D

Da Ros, L., Nasci, C., Campesan, G., Sartorello, P., Stocco, G., & Menetto, A. (1995). Effects of linear alkylbenzene sulphonate (LAS) and cadmium in the digestive gland of mussel, *Mytilus* sp. *Marine Environmental Research*, 39(1), 321-324.

Dabas, A., Nagpure, N. S., Kumar, R., Kushwaha, B., Kumar, P., & Lakra, W. S. (2012). Assessment of tissue-specific effect of cadmium on antioxidant defense system and lipid peroxidation in freshwater murrel, *Channa punctatus*. *Fish physiology and biochemistry*, 38(2), 469-482.

Dafre, A. L., Medeiros, I. D., Müller, I. C., Ventura, E. C., & Bainy, A. C. D. (2004). Antioxidant enzymes and thiol/disulfide status in the digestive gland of the brown mussel *Perna perna* exposed to lead and paraquat. *Chemico-biological interactions*, 149(2), 97-105.

Dang, F., Wang, W. X., & Rainbow, P. S. (2012). Unifying prolonged copper exposure, accumulation, and toxicity from food and water in a marine fish. *Environmental science & technology*, 46(6), 3465-3471.

Daniel, S., Limson, J.L., Dairam, A., Watkins, G.M., Daya, S., (2004). Through metal binding, curcumin protects against lead-and cadmium-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates and against lead-induced tissue damage in rat brain. *Journal of inorganic biochemistry* 98 (2), 266–275.

Darling, C. T., & Thomas, V. G. (2005). Lead bioaccumulation in earthworms, *Lumbricus terrestris*, from exposure to lead compounds of differing solubility. *Science of the Total Environment*, 346(1), 70-80.

Das, P., Samantaray, S., & Rout, G. R. (1997). Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental pollution*, 98(1), 29-36.

Das, S., Jana, B.B., 1999. Dose-dependent uptake and Eichhornia-induced elimination of cadmium in various organs of the freshwater mussel, *Lamellidens marginalis* (Linn.). *Ecological Engineering* 12 (3–4), 207–229.

Dautremepuits, C., Paris-Palacios, S., Betoulle, S., & Vernet, G. (2004). Modulation in hepatic and head kidney parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) induced by copper and chitosan. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 137(4), 325-333.

Davenport, J. (1977). A study of the effects of copper applied continuously and discontinuously to specimens of *Mytilus edulis* (L.) exposed to steady and fluctuating salinity levels. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 57(01), 63-74.

Davies, M. S., & Cliffe, E. J. (2000). Adsorption of metals in seawater to limpet (*Patella vulgata*) pedal mucus. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 64(2), 228-234.

De Baar, H. J., Saager, P. M., Nolting, R. F., & Van Der Meer, J. (1994). Cadmium versus phosphate in the world ocean. *Marine Chemistry*, 46(3), 261-281.

- De Castilhos, N., & Cestari, M. M. (2013). Genotoxic effects of the herbicide Roundup® in the fish *Corydoras paleatus* (Jenyns 1842) after short-term, environmentally low concentration exposure. *Environmental monitoring and assessment*, 185(4), 3201-3207.
- De Kock, W. C. (1983). Accumulation of cadmium and polychlorinated biphenyls by *Mytilus edulis* transplanted from pristine water into pollution gradients. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 40(2), 282-294.
- De Lisi, A., Prato, E., Biandolino, F., Sarli, G., Negro, D., La Piana, G., & Marzulli, D. (2013). Hepatopancreas mitochondria of *Mytilus galloprovincialis*: effect of zinc ions on mitochondrial bioenergetics and metabolism. *Turkish Journal of Biology*, 37(5), 565-572.
- De Luca-Abbott, S. B., Richardson, B. J., McClellan, K. E., Zheng, G. J., Martin, M., & Lam, P. K. (2005). Field validation of antioxidant enzyme biomarkers in mussels (*Perna viridis*) and clams (*Ruditapes philippinarum*) transplanted in Hong Kong coastal waters. *Marine pollution bulletin*, 51(8), 694-707.
- De Schamphelaere, K. A., & Janssen, C. R. (2002). A biotic ligand model predicting acute copper toxicity for *Daphnia magna*: the effects of calcium, magnesium, sodium, potassium, and pH. *Environmental science & technology*, 36(1), 48-54.
- De Zwart, D. (1995). Monitoring water quality in the future, Volume 3: Biomonitoring. National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM). Bilthoven. Holanda.
- Decisión no 2455/2001/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 14 de noviembre de 2001, por la que se aprueba la lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas, y por la que se modifica la Directiva 2000/60/CE. Diario Oficial de las Comunidades Europeas L331, de 15 de diciembre de 2001, pp.1-5 (Dec. no 2455/2001/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de noviembre de 2001)
- Del-Valls, T. A., & Conradi, M. (2000). Advances in marine ecotoxicology: laboratory tests versus field assessment data on sediment quality studies. *Ciencias Marinas*, 26(1), 39-64.
- Demayo, A., & Taylor, M. C. (1981). Guidelines for Surface Water Quality: Vol 1: Inorganic Chemical Substances: Copper. *Report 1981. 55 p, 5 Tab, 383 Ref.*
- Demetrio, P. M. (2012). Estudio de efectos biológicos de plaguicidas utilizados en cultivos de soja RR y evaluación de impactos adversos en ambientes acuáticos de agroecosistemas de la región pampeana (Doctoral dissertation), Buenos Aires; Universidad Nacional de la Plata
- Demirak, A., Yilmaz, F., Tuna, A. L., & Ozdemir, N. (2006). Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. *Chemosphere*, 63(9), 1451-1458.
- Derraik, J. G. (2002). The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine pollution bulletin*, 44(9), 842-852.
- Desideri, D., Meli, M., Roselli, C., & Feduzi, L. (2008). A biomonitoring study: 210Po and heavy metals in mussels. *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry*, 279(2), 591-600.
- Desouky, M. M. (2006). Tissue distribution and subcellular localization of trace metals in the pond snail *Lymnaea stagnalis* with special reference to the role of lysosomal granules in metal sequestration. *Aquatic toxicology*, 77(2), 143-152.

- Désy, J. C., Amyot, M., Pinel-Alloul, B., & Campbell, P. G. (2002). Relating cadmium concentrations in three macrophyte-associated freshwater invertebrates to those in macrophytes, water and sediments. *Environmental Pollution*, 120(3), 759-769.
- Deudero, S., Box, A., March, D., Valencia, J. M., Grau, A. M., Tintore, J., Calvo, M., Caixach, J. (2007b). Organic compounds temporal trends at some invertebrate species from the Balearics, Western Mediterranean. *Chemosphere*, 68(9), 1650-1659.
- Deudero, S., Box, A., March, D., Valencia, J. M., Grau, A. M., Tintore, J., & Benedicto, J. (2007a). Temporal trends of metals in benthic invertebrate species from the Balearic Islands, Western Mediterranean. *Marine pollution bulletin*, 54(9), 1545-1558.
- Deudero, S., Box, A., Tejada, S., & Tintoré, J. (2009). Stable isotopes and metal contamination in caged marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Marine pollution bulletin*, 58(7), 1025-1031.
- Di Toro, D. M., Allen, H. E., Bergman, H. L., Meyer, J. S., Paquin, P. R., & Santore, R. C. (2001). Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 1. Technical basis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(10), 2383-2396.
- Díaz, J., Torreblanca, A., & Del Ramo, J. (1993). Presencia de metales en el medio acuático. A: Introducción. Concepto de oligoelemento. A: Mas A i Azcue JM eds. Metales en sistemas biológicos. PPU, Barcelona, 187-206.
- Diaz, R. J., & Rosenberg, R. (2008). Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*, 321(5891), 926-929.
- Díaz-Báez, M. C., López, M. C. B., & Ramírez, A. J. E. (2004). *Pruebas de toxicidad acuática: fundamentos y métodos* (Vol. 18). Universidad Nacional de Colombia.
- Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 23 de octubre de 2000, por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. *Diario Oficial de la Union europea* L 327, de 22 de diciembre de 2000, pp 1-73
- Directiva 2002/62/CE de la Comisión, de 9 de julio de 2002 por la que se adapta al progreso técnico por novena vez el anexo I de la Directiva 76/769/CEE del Consejo relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros que limitan la comercialización y el uso de determinadas sustancias y preparados peligrosos (compuestos organoestánicos) *Diario Oficial de las Comunidades Europeas* L 183, de 12 de julio de 2002, pp 58-59 (Dir. 2002/62/CE de la Comisión, de 9 de julio de 2002)
- Directiva 2006/11/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 15 de febrero de 2006 relativa a la contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas vertidas en el medio acuático de la Comunidad. *Diario Oficial de la Union Europea* L 64, de 4 de marzo de 2006, pp. 52-59
- Directiva 2008/56/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 17 de junio de 2008 por la que se establece un marco de acción comunitaria para la política del medio marino (Directiva marco sobre la estrategia marina). *Diario Oficial de la Union Europea* L164, de 25 de junio de 2008, pp. 19-40.
- Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2010, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. *Diario Oficial de la Union europea* L 276, de 20 de octubre 2010, pp 33-79.

- Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de agosto de 2013 por la que se modifican las Directivas 2000/60/CE y 2008/105/CE en cuanto a las sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas. Diario Oficial de la Unión Europea L226, de 24 de Agosto de 2013, pp 1-17.
- Directiva 98/70/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 13 de octubre de 1998, relativa a calidad de la gasolina y por la que se modifica la Directiva 93/12/CEE del Consejo. *Diario Oficial de la Union europea L 350*, de 28 de diciembre 1998, pp 58-67 (Vistas las modificaciones Directiva 2000/71/CE de la Comisión de 7 de noviembre, Directiva 2003/17/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 3 de marzo, Reglamento (CE) no 1882/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de septiembre.
- Doherty, F. G., Cherry, D. S., & Cairns Jr, J. (1987). Valve closure responses of the Asiatic clam *Corbicula fluminea* exposed to cadmium and zinc. *Hydrobiologia*, 153(2), 159-167.
- Domouhtsidou, G. P., & Dimitriadis, V. K. (2000). Ultrastructural localization of heavy metals (Hg, Ag, Pb, and Cu) in gills and digestive gland of mussels, *Mytilus galloprovincialis* (L.). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 38(4), 472-478.
- Domouhtsidou, G. P., Dailianis, S., Kaloyianni, M., & Dimitriadis, V. K. (2004). Lysosomal membrane stability and metallothionein content in *Mytilus galloprovincialis* (L.), as biomarkers: combination with trace metal concentrations. *Marine pollution bulletin*, 48(5), 572-586.
- Dondero, F., Banni, M., Negri, A., Boatti, L., Dagnino, A., & Viarengo, A. (2011). Interactions of a pesticide/heavy metal mixture in marine bivalves: a transcriptomic assessment. *BMC genomics*, 12(1), 195.
- Dorantes Parral, L.A., (2001). Incorporación de cadmio en diferentes estructuras del mejillón *Mytilus californianus* en un medio estable vs. un medio variable Tesis de Grado, Ensenada, México, Universidad Baja California.
- Dragun, Z., Erk, M., Raspor, B., Ivanković, D., & Pavičić, J. (2004). Metal and metallothionein level in the heat-treated cytosol of gills of transplanted mussels *Mytilus galloprovincialis* Lmk. *Environment international*, 30(8), 1019-1025.
- Dral, A. D. G. (1967). The movements of the latero-frontal cilia and the mechanism of particle retention in the mussel. *Netherlands Journal of Sea Research*, 3(3), 391-422.
- Du Laing, G., Rinklebe, J., Vandecasteele, B., Meers, E., & Tack, F. M. G. (2009). Trace metal behaviour in estuarine and riverine floodplain soils and sediments: a review. *Science of the Total Environment*, 407(13), 3972-3985.
- Duce, R. A., Liss, P. S., Merrill, J. T., Atlas, E. L., Buat-Menard, P., Hicks, B. B., ... & Zhou, M. (1991). The atmospheric input of trace species to the world ocean. *Global biogeochemical cycles*, 5(3), 193-259.
- Duce, R. A., Galloway, J. N., & Liss, P. S. (2009). The impacts of atmospheric deposition to the ocean on marine ecosystems and climate. *World Meteorological Organization (WMO) Bulletin*, 58(1), 61.
- Dunning, P. (2009). Cadmium pigments, in Faulkner E.B. & Schwartz R.J. (Eds.). *High Performance Pigments*. 2ª ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA 2003, p. 13-26.



- Duquesne, S., Liess, M., & Bird, D. J. (2004). Sub-lethal effects of metal exposure: physiological and behavioural responses of the estuarine bivalve *Macoma balthica*. *Marine environmental research*, 58(2), 245-250.
- Duruibe, J., Ogwuegbu, M., Egwurugwu, J., (2007). Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences 2* (5), 112–118.

## E

- Easterling, D. R., Evans, J. L., Groisman, P. Y., Karl, T. R., Kunkel, K. E., & Ambenje, P. (2000). Observed variability and trends in extreme climate events: a brief review\*. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 81(3), 417-425.
- EEA 1999. State and Pressures of the Marine and Coastal Mediterranean Environment Papathanasiou E, Gabrieliadis GP (eds.) European Environment Agency. Environmental Assessment Series n° 5. 137 pp.
- Effler, S. W., Litten, S., Field, S. D., Tong-Ngork, T., Hale, F., Meyer, M., & Quirk, M. (1980). Whole lake responses to low level copper sulfate treatment. *Water Research*, 14(10), 1489-1499.
- Einsporn, S., Bressling, J., & Koehler, A. (2009). Cellular localization of lead using an antibody-based detection system and enzyme activity changes in the gills and digestive gland of the blue mussel *Mytilus edulis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(2), 402-408.
- Eisler R (1993). Zinc hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Contaminant Hazards Reviews Report 26. Washington, DC: US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service.
- Eisler, R. (1985). *Cadmium hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review* (No. 2). Fish and Wildlife Service, US Department of the Interior.
- Elliott, N. G., Swain, R., & Ritz, D. A. (1986). Metal interaction during accumulation by the mussel *Mytilus edulis planulatus*. *Marine biology*, 93(3), 395-399.
- Elumalai, M., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2002). Effects of single metals and their mixtures on selected enzymes of *Carcinus maenas*. *Water, air, and soil pollution*, 141(1-4), 273-280.
- Elumalai, M., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2007). Enzymatic biomarkers in the crab *Carcinus maenas* from the Minho River estuary (NW Portugal) exposed to zinc and mercury. *Chemosphere*, 66(7), 1249-1255.
- Emeis, K. C., van Beusekom, J., Callies, U., Ebinghaus, R., Kannen, A., Kraus, G., et al., (2015). The North Sea—A shelf sea in the Anthropocene. *Journal of Marine Systems*.141, 18-33.
- Emiroğlu, Ö. Çiçek, A., Arslan, N., Aksan, S., & Rüzgar, M. (2010). Boron concentration in water, sediment and different organisms around large borate deposits of Turkey. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 84(4), 427-431.
- Engel, D.W., Vaughan, D.S., (1996). Biomarkers, natural variability, and risk assessment: Can they coexist? *Human and Ecological Risk Assessment* 2(2), 257-262.
- Engström, Y. (1999). Induction and regulation of antimicrobial peptides in *Drosophila*. *Developmental & Comparative Immunology*, 23(4), 345-358.
- Enserink, E. L., Maas-Diepeveen, J. L., & Van Leeuwen, C. J. (1991). Combined effects of metals; an ecotoxicological evaluation. *Water Research*, 25(6), 679-687.

- EPA, Environmental Protection Agency, (1990). Technical Support Document on Health Risk Assessment of Chemical Mixtures. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Washington, DC. EPA/600/8-90/064.
- EPA, Environmental Protection Agency, (2000). Supplementary Guidance for Conducting Health Risk Assessment of Chemical Mixtures. U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum, Washington, DC. EPA/630R-00/002.
- EPS (1990). Environment Canada, Canada. Environmental Protection Directorate, Gordon R. (Gordon Ross) Craig, & Hart, D. R. (1990). *Guidance Document on Control of Toxicity Test Precision Using Reference Toxicants*. Environment Canada. Report EPS 1/RM/12.
- Ercal, N., Gurer-Orhan, H., & Aykin-Burns, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current topics in medicinal chemistry*, 1(6), 529-539.
- Escobar, J. (2003). La contaminación de los ríos y sus efectos en las áreas costeras y el mar (Vol. 50). United Nations Publications.
- Esler, D., Trust, K.A., Ballachey, B.E., Iverson, S.A., Lewis, T.L., Rizzolo, D.J., et al., (2010). Cytochrome P4501A biomarker indication of oil exposure in harlequin ducks up to 20 years after the Exxon Valdez oil spill. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29, 1138-1145.
- Etxeberria, M., Sastre, I., Cajaraville, M. P., & Marigómez, I. (1994). Digestive lysosome enlargement induced by experimental exposure to metals (Cu, Cd, and Zn) in mussels collected from a zinc-polluted site. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 27(3), 338-345.
- Ezgeta-Balić, D., Rinaldi, A., Peharda, M., Prusina, I., Montalto, V., Niceta, N., & Sarà, G. (2011). An energy budget for the subtidal bivalve *Modiolus barbatus* (Mollusca) at different temperatures. *Marine environmental research*, 71(1), 79-85.

## F

- Fabris, J. G., Richardson, B. J., O'Sullivan, J. E., & Brown, F. C. (1994). Estimation of cadmium, lead, and mercury concentrations in estuarine waters using the mussel *Mytilus edulis* planulatus L. *Environmental Toxicology and Water Quality*, 9(3), 183-192.
- Famme, P., Riisgård, H. U., & Jørgensen, C. B. (1986). On direct measurement of pumping rates in the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 92(3), 323-327.
- Fang, T. H., Li, J. Y., Feng, H. M., & Chen, H. Y. (2009). Distribution and contamination of trace metals in surface sediments of the East China Sea. *Marine environmental research*, 68(4), 178-187.
- Fang, Y., Yang, H., Wang, T., Liu, B., Zhao, H., & Chen, M. (2010). Metallothionein and superoxide dismutase responses to sublethal cadmium exposure in the clam *Macra veneriformis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 151(3), 325-333.
- Faria, M., López, M. A., Fernández-Sanjuan, M., Lacorte, S., & Barata, C. (2010). 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(12), 2452-2458.

- Farrington, J. W., (1983). Bivalves as sentinels of coastal chemical pollution: The mussel (and oyster) watch. *Oceanus*, 26 (2): 18-26.
- Fathallah, S., Medhioub, M. N., & Kraiem, M. M. (2013). Combined Toxicity of Lead and Cadmium on Embryogenesis and Early Larval Stages of the European Clam *Ruditapes decussatus*. *Environmental Engineering Science*, 30(7), 357-364.
- Fatoki, O. S., Okoro, H. K., Adekola, F. A., Ximba, B. J., & Snyman, R. G. (2012). Bioaccumulation of metals in black mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in Cape Town Harbour, South Africa. *The Environmentalist*, 32(1), 48-57.
- Favretto, L., Campisi, B., Reisenhofer, E., & Adami, G. (1997). Terrigenous debris and mussel pollution—a differentiation based on trace element concentration by means of multivariate analysis. *Analytica chimica acta*, 344(3), 251-259.
- Fdil, M. A., Mouabad, A., Outzourhit, A., Benhra, A., Maarouf, A., & Pihan, J. C. (2006). Valve movement response of the mussel *Mytilus galloprovincialis* to metals (Cu, Hg, Cd and Zn) and phosphate industry effluents from Moroccan Atlantic coast. *Ecotoxicology*, 15(5), 477-486.
- Felten, V., Charmantier, G., Mons, R., Geffard, A., Rousselle, P., Coquery, M., Garric, J., Geffard, O. (2008). Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda) exposed to cadmium. *Aquatic Toxicology*, 86(3), 413-425.
- Feng, H., Zhang, W., Zhang, L., Wang, X.-C., Yu, L., Yu, D., 2008. Chapter 9. Heavy metal contamination in selected urban coastal regions in US and China. In: Sánchez, M.L. (Ed.), Causes and Effects of Heavy Metal Pollution. Nova Science Publishers, Inc, Hauppauge, pp. 265e28
- Ferm, V. H., & Layton, W. M. (1981). Teratogenic and Mutagenic Effects of Cadmium. *John Wiley & Sons, Inc., 605 Third Avenue, New York, 10158.* 743-756.
- Fernández Galindo, B. (2012b). Evaluacion de Respuestas bioquímicas y anormalidades cito-genotóxicas en mejillon silvestre (*Mytilus galloprovincialis*) como biomarcadores de contaminación ambiental Tesis doctoral. Universidad de Murcia
- Fernández Suárez, A.T. (2012a). Proteínas enlazadoras de cadmio en hemolinfa del mejillón verde *Perna viridis* (Mollusca: Bivalvia). (Tesis de grado), Cumaná: Universidad de Oriente.
- Ferrer, O. J., Koburger, J. A., Simpson, B. K., Gleeson, R. A., & Marshall, M. R. (1989). Phenoloxidase levels in Florida spiny lobster (*Panulirus argus*): relationship to season and molting stage. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 93(3), 595-599.
- Field, J. (1992). Biology and economic value of the sea mussel (*Mytilus edulis*). Bulletin of the United States Bureau of Fisheries, 26 -240.
- Figueras, A. J. (2007). *Biología y cultivo del mejillón (Mytilus galloprovincialis) en Galicia* (Vol. 26). Editorial CSIC-CSIC Press.
- Filgueira, C. R., (2007). Comportamiento alimentario del mejillón *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) en las condiciones tróficas de las Rías Gallegas. Tesis Doctoral. Universidad de Vigo, Departamento de Ecología e Biología animal. España. Pp. 151.
- Filgueira, R., Comeau, L. A., Landry, T., Grant, J., Guyonnet, T., & Mallet, A. (2013). Bivalve condition index as an indicator of aquaculture intensity: a meta-analysis. *Ecological Indicators*, 25, 215-229.

- Filgueira, R., Labarta, U., & Fernández-Reiriz, M. J. (2008). Effect of condition index on allometric relationships of clearance rate in *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 43(2), 391-398.
- Firat, Ö. & Kargin, F. (2010). Biochemical alterations induced by Zn and Cd individually or in combination in the serum of *Oreochromis niloticus*. *Fish physiology and biochemistry*, 36(3), 647-653.
- Fishbein, L. (1981). Sources, transport and alterations of metal compounds: an overview. I. Arsenic, beryllium, cadmium, chromium, and nickel. *Environmental health perspectives*, 40, 43.
- Fitriawan F., & Sutarno, S. (2011). Microanatomy alteration of gills and kidneys in freshwater mussel (*Anodonta woodiana*) due to cadmium exposure. *Nusantara Bioscience*, 3, 28-35.
- Flemming, C. A., & Trevors, J. T. (1989). Copper toxicity and chemistry in the environment: a review. *Water, Air, and Soil Pollution*, 44(1-2), 143-158.
- Flohe, L., Günzler, W. A., & Schock, H. H. (1973). Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS letters*, 32(1), 132-134.
- Fokina, N. N., Ruokolainen, T. R., Nemova, N. N., & Bakhmet, I. N. (2013). Changes of blue mussels *Mytilus edulis* L. lipid composition under cadmium and copper toxic effect. *Biological trace element research*, 154(2), 217-225.
- Forbes VE, Palmqvist A, Bach L. (2006). The use and misuse of biomarkers in ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25(1):272-280
- Fournier, E., Tran, D., Denison, F., Massabuau, J. C., & Garnier-Laplace, J. (2004). Valve closure response to uranium exposure for a freshwater bivalve (*Corbicula fluminea*): Quantification of the influence of pH. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(5), 1108-1114.
- Fraga, C. G. (2005). Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Molecular aspects of medicine*, 26(4), 235-244.
- Francesconi, K. A., Moore, E. J., & Joll, L. M. (1993). Cadmium in the saucer scallop, *Amusium balloti*, from Western Australian waters: Concentrations in adductor muscle and redistribution following frozen storage. *Marine and Freshwater Research*, 44(6), 787-797.
- Fraser, M., Rault, P., Fortier, M., Brousseau, P., Fournier, M., Surette, C., & Vaillancourt, C. (2014). Immune response of blue mussels (*Mytilus edulis*) in spawning period following exposure to metals. *Journal of Xenobiotics*, 4(2).
- Fraysse, B., Baudin, J. P., Garnier-Laplace, J., Adam, C., & Boudou, A. (2002). Effects of Cd and Zn waterborne exposure on the uptake and depuration of <sup>57</sup>Co, <sup>110m</sup>Ag and <sup>134</sup>Cs by the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) and the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*)—whole organism study. *Environmental pollution*, 118(3), 297-306.
- Frías-Espéricueta, M. G., Castro-Longoria, R., Barrón-Gallardo, G. J., Osuna-López, J. I., Abad-Rosales, S. M., Paez-Osuna, F., & Voltolina, D. (2008). Histological changes and survival of *Litopenaeus vannamei* juveniles with different copper concentrations. *Aquaculture*, 278(1), 97-100.
- Friend, M., Franson, J.C., Anderson, W.L., (2009). Biological and societal dimensions of lead poisoning in birds in the USA. In: Watson, R.T., Fuller, M., Pokras, M., Hunt, W.G. (Eds.), *Ingestion of Lead from Spent Ammunition: Implications for Wild-life and Humans*. The Peregrine Fund, Boise, Idaho, USA

- Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Escriche, I., & Serra, J. A. (2009). Comparison of physico-chemical parameters and composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk.) from different Spanish origins. *Food Chemistry*, 112(2), 295-302.
- Furness, R.W. (1996). Cadmium in birds. In: Beyer WN, Heinz GH, Redmon-Norwood AW, editors. *Environmental contaminants in wildlife: interpreting tissue concentrations*. Boca Raton, FL: Lewis Publi. 389-404.

## G

- Gabbott, P. A. (1975). Storage cycles in marine bivalve molluscs: a hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. In *Ninth European Marine Biology Symposium* (pp. 191-211). Aberdeen University Press: Aberdeen, UK.
- Gad, S.C., 2005. Lead, in: Philip Wexler (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology* (Second Edition). Elsevier, New York, pp. 705–709.
- Gaete, H., & Chávez, C. (2008). Evaluación de la toxicidad de mezclas binarias de cobre, cinc y arsénico sobre *Daphnia obtusa* (Kurz, 1874)(Cladocera, Crustacea). In *Limnetica* (Vol. 27, pp. 001-10).
- Gaetke, L. M., & Chow, C. K. (2003). Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189(1), 147-163.
- Gagnaire, B., Thomas-Guyon, H., & Renault, T. (2004). In vitro effects of cadmium and mercury on Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), haemocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 16(4), 501-512.
- Gammon, M., Turner, A., & Brown, M. T. (2009). Accumulation of Cu and Zn in discarded antifouling paint particles by the marine gastropod, *Littorina littorea*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 84(4), 447-452.
- Gao, A., Wang, L., & Yuan, H. (2012). Expression of metallothionein cDNA in a freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense*, exposed to cadmium. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(3), 253-258.
- Gao, X., & Chen, C. T. A. (2012). Heavy metal pollution status in surface sediments of the coastal Bohai Bay. *Water research*, 46(6), 1901-1911.
- Gao, X., & Li, P. (2012). Concentration and fractionation of trace metals in surface sediments of intertidal Bohai Bay, China. *Marine pollution bulletin*, 64(8), 1529-1536.
- García-Fernández, A. J., Bayoumi, A. E., Pérez-Pertejo, Y., Motas, M., Reguera, R. M., Ordoñez, C.,... & Ordoñez, D. (2002). Alterations of the glutathione–redox balance induced by metals in CHO-K1 cells. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 132(3), 365-373.
- Geeraerts, C., & Belpaire, C. (2010). The effects of contaminants in European eel: a review. *Ecotoxicology*, 19(2), 239-266.
- Geffard, A., Jeantet, A. Y., Amiard, J. C., Pennec, M. L., Ballan-Dufrançais, C., & Amiard-Triquet, C. (2004). Comparative study of metal handling strategies in bivalves *Mytilus edulis* and *Crassostrea gigas*: a multidisciplinary approach. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 84(03), 641-650.

- George, S. G. (1980). Correlation of metal accumulation in mussels with the mechanisms of uptake, metabolism and detoxification: a review. *Thalassia jugoslavica*, 16(2-4), 347-365.
- George, S. G., & Pirie, B. J. (1979). The occurrence of cadmium in sub-cellular particles in the kidney of the marine mussel, *Mytilus edulis*, exposed to cadmium: The use of electron microprobe analysis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*, 580(2), 234-244.
- Géret, F., & Bebianno, M. J. (2004). Does zinc produce reactive oxygen species in *Ruditapes decussatus*? *Ecotoxicology and environmental safety*, 57(3), 399-409.
- Géret, F., Jouan, A., Turpin, V., Bebianno, M. J., & Cosson, R. P. (2002). Influence of metal exposure on metallothionein synthesis and lipid peroxidation in two bivalve mollusks: the oyster (*Crassostrea gigas*) and the mussel (*Mytilus edulis*). *Aquatic Living Resources*, 15(01), 61-66.
- GESAMP (1994) Anthropogenic influences on sediment discharge to the coastal zone and environmental consequences. Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of marine Pollution IMO/FAO/UNESCO/WHO/IAEA/UN/UNEP Reports and Studies No. 52, 67 pp.
- Giambérini, L., & Cajaraville, M. P. (2005). Lysosomal responses in the digestive gland of the freshwater mussel, *Dreissena polymorpha*, experimentally exposed to cadmium. *Environmental research*, 98(2), 210-214.
- Giambérini, L., & Pihan, J. C. (1996). The pericardial glands of the zebra mussel: Ultrastructure and implication in lead detoxication process. *Biology of the Cell*, 86(1), 59-65.
- Giambérini, L., & Pihan, J. C. (1997). Lysosomal changes in the hemocytes of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* experimentally exposed to lead and zinc. *Diseases of aquatic organisms*, 28(3), 221-227.
- Gibson, R., Smith, M. D., Spary, C. J., Tyler, C. R., & Hill, E. M. (2005). Mixtures of estrogenic contaminants in bile of fish exposed to wastewater treatment works effluents. *Environmental science & technology*, 39(8), 2461-2471.
- Gil, M. N., Torres, A., Harvey, M., & Esteves, J. L. (2006). Metales pesados en organismos marinos de la zona costera de la Patagonia argentina continental. *Revista de biología marina y oceanografía*, 41(2), 167-176.
- Gimeno, S.; Sarasquete, M. y González, M. (1991). El glucógeno de las células de almacenamiento del mejillón *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819: demostración histoquímica. *Scientia Marina*, 55(2), 453-457.
- Ginebreda, A., Muñoz, I., de Alda, M. L., Brix, R., López-Doval, J., & Barceló, D. (2010). Environmental risk assessment of pharmaceuticals in rivers: relationships between hazard indexes and aquatic macroinvertebrate diversity indexes in the Llobregat River (NE Spain). *Environment International*, 36(2), 153-162.
- Gisbert, J. A. (1998). *Medicina legal y toxicología*. 6ª ed. Madrid: Masson; 2004
- Gismondi, E., Rigaud, T., Beisel, J. N., & Cossu-Leguille, C. (2012). Microsporidia parasites disrupt the responses to cadmium exposure in a gammarid. *Environmental Pollution*, 160, 17-23.
- Giusti, L., Williamson, A. C., & Mistry, A. (1999). Biologically available trace metals in *Mytilus edulis* from the coast of northeast England. *Environment international*, 25(8), 969-981.

- Gobe, G., & Crane, D. (2010). Mitochondria, reactive oxygen species and cadmium toxicity in the kidney. *Toxicology letters*, 198(1), 49-55.
- Goldberg, E.D., (1975). The mussel watch: a first step in global marine monitoring, *Marine Pollution Bulletin*, 6, 111.
- Goldberg, E. D. (1986). The mussel watch concept. *Environmental Monitoring and Assessment*, 7(1), 91-103.
- Gomes, T., Pinheiro, J. P., Cancio, I., Pereira, C. G., Cardoso, C., & Bebianno, M. J. (2011). Effects of copper nanoparticles exposure in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental science & technology*, 45(21), 9356-9362.
- Gómez-Mendikute, A., & Cajaraville, M. P. (2003). Comparative effects of cadmium, copper, paraquat and benzo [a] pyrene on the actin cytoskeleton and production of reactive oxygen species (ROS) in mussel haemocytes. *Toxicology in vitro*, 17(5), 539-546.
- González de Canales, M. L., & Sarasquete, C. (1990). Enzimas hidrolíticas en el aparato digestivo de las almejas *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) y *Ruditapes philippinarum* (Adams and Reeve, 1850) (Pelecípoda: Veneridae). *Scientia Marina*, 54(1), 89-93.
- González-Fernández, C., Albentosa, M, Campillo, J.A., Viñas L., Fumega, J., Franco, A., Besada, V., González-Quijano, A., Bellas J. (2015a). Influence of mussel biological variability on pollution biomarkers. *Environmental research*, (137), 14-31.
- González-Fernández, C., Albentosa, M., Campillo, J. A., Viñas, L., Romero, D., Franco, A., & Bellas, J. (2015b). Effect of nutritive status on *Mytilus galloprovincialis* pollution biomarkers: Implications for large-scale monitoring programs. *Aquatic Toxicology*, 167, 90-105.
- González-Rey, M., Mattos, J. J., Piazza, C. E., Bainy, A. C. D., & Bebianno, M. J. (2014). Effects of active pharmaceutical ingredients mixtures in mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology*, 153, 12-26.
- Gosling, E. (1992). Systematics and geographic distribution of *Mytilus*. In: E.M. Gosling (Ed.), *The Mussel Mytilus; Ecology, physiology, genetic and culture*. (pp. 1-20). Amsterdam: Elsevier.
- Goswami, P., Hariharan, G., Godhantaraman, N., & Munuswamy, N. (2014). An integrated use of multiple biomarkers to investigate the individual and combined effect of copper and cadmium on the marine green mussel (*Perna viridis*). *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 49(13), 1564-1577.
- Goutte, A., Chevreuil, M., Alliot, F., Chastel, O., Cherel, Y., Eléaume, M., & Massé, G. (2013). Persistent organic pollutants in benthic and pelagic organisms off Adélie Land, Antarctica. *Marine pollution bulletin*, 77(1), 82-89.
- Goyer RA, Clarksom WT. *Toxic effects of metals* In: Klaassen C.D. ed. *Casarett and Doull's Toxicology: The basic Science of poisons*. New York: McGraw-Hill; 2001: 811-67.
- Grace, A. L., & Gainey, L. F. (1987). The effects of copper on the heart rate and filtration rate of *Mytilus edulis*. *Marine pollution bulletin*, 18(2), 87-91.
- Graham, M. C., Vinogradoff, S. I., Chipchase, A. J., Dunn, S. M., Bacon, J. R., & Farmer, J. G. (2006). Using size fractionation and Pb isotopes to study Pb transport in the waters of an organic-rich upland catchment. *Environmental science & technology*, 40(4), 1250-1256.

- Grajeda y Ortega, M. D. L. A., Ortiz Ordoñez, E., Favari, L., Shibayama, M., Silva Olivares, A., & López López, E. (2011). Cambios Bioquímicos y Mitocondriales Inducidos por Cd, Fe y Zn en *Limnodrillus hoffmeisteri*. *International Journal of Morphology*, 29(2), 412-419.
- Green, N. W., & Knutzen, J. (2003). Organohalogenes and metals in marine fish and mussels and some relationships to biological variables at reference localities in Norway. *Marine Pollution Bulletin*, 46(3), 362-374.
- Gregus Z, Klaassen, CD. (2001). Mechanisms of Toxicity. In: Klaassen C.D. ed. *Casarett and Doull's Toxicology: The basic Science of poisons*. New York: McGraw-Hill; 2001: 35-81.
- Grosell, M., & Wood, C. M. (2002). Copper uptake across rainbow trout gills mechanisms of apical entry. *Journal of Experimental Biology*, 205(8), 1179-1188.
- Grosell, M., Gerdes, R., & Brix, K. V. (2006). Influence of Ca, humic acid and pH on lead accumulation and toxicity in the fathead minnow during prolonged water-borne lead exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143(4), 473-483.
- Grout, J., Levings, 2001. Effects of acid mine drainage from an abandoned copper mine, Britannia Mines, Howe Sound, BC, on transplanted blue mussels (*Mytilus edulis*). *Marine Environmental Research* 51, 265–288.
- Guerra-García, J. M., & García-Gómez, J. C. (2005). Assessing pollution levels in sediments of a harbour with two opposing entrances. Environmental implications. *Journal of Environmental Management*, 77(1), 1-11.
- Guidi, P., Frenzilli, G., Benedetti, M., Bernardeschi, M., Falleni, A., Fattorini, D., Regoli, F., Scarcelli, V., Nigro, M., (2010). Antioxidant, genotoxic and lysosomal biomarkers in the freshwater bivalve (*Unio pictorum*) transplanted in a metal polluted river basin. *Aquatic toxicology*, 100(1), 75-83.
- Guitart, R., Serratosa, J., & Thomas, V. G. (2002). Lead-poisoned wildfowl in Spain: a significant threat for human consumers. *International Journal of Environmental Health Research*, 12(4), 301-309.
- Gulkowska, A., He, Y., So, M.K., Yeung, L.W.Y., Leung, H.W., Giesy, J.P., et al., (2007). The occurrence of selected antibiotics in Hong Kong coastal waters. *Marine Pollution Bulletin* 54 (8), 1287e1293.
- Gundacker, C. (2000). Comparison of heavy metal bioaccumulation in freshwater molluscs of urban river habitats in Vienna. *Environmental Pollution*, 110(1), 61-71.
- Gust, K. A., & Fleeger, J. W. (2006). Exposure to cadmium-phenanthrene mixtures elicits complex toxic responses in the freshwater tubificid oligochaete, *Ilyodrilus templetoni*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 51(1), 54-60.
- Gutiérrez Galindo, E. A., Pérez Rodríguez, J. C., & Muñoz Barbosa, A. (2014). Cadmio, cobre y zinc en el mejillón *Mytilus californianus* (Conrad 1837) de la costa oeste de Baja California. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 30(3), 285-295.
- Gutiérrez-Galindo, E. A., Villaescusa-Celaya, J. A., & Arreola-Chimal, A. (1999). Bioacumulación de metales en mejillones de cuatro sitios selectos de la región costera de Baja California. *Ciencias Marinas*, 25(4), 557-578.



## H

- Haberkorn, H., Lambert, C., Le Goïc, N., Quéré, C., Bruneau, A., Riso, R.,... & Soudant, P. (2014). Cellular and biochemical responses of the oyster *Crassostrea gigas* to controlled exposures to metals and *Alexandrium minutum*. *Aquatic Toxicology*, 147, 158-167.
- Hadjispyrou, S., Kungolos, A., & Anagnostopoulos, A. (2001). Toxicity, bioaccumulation, and interactive effects of organotin, cadmium, and chromium on *Artemia franciscana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49(2), 179-186.
- Hagopian-Schlekat, T., Chandler, G. T., & Shaw, T. J. (2001). Acute toxicity of five sediment-associated metals, individually and in a mixture, to the estuarine meiobenthic harpacticoid copepod *Amphiascus tenuiremis*. *Marine Environmental Research*, 51(3), 247-264.
- Ham, K. D., & Peterson, M. J. (1994). Effect of fluctuating low-level chlorine concentrations on valve-movement behavior of the asiatic clam (*Corbicula fluminea*). *Environmental toxicology and chemistry*, 13(3), 493-498.
- Hammerschmidt, C. R., & Fitzgerald, W. F. (2006). Bioaccumulation and trophic transfer of methylmercury in Long Island Sound. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51(3), 416-424.
- Handy, R. D., Galloway, T. S., & Depledge, M. H. (2003). A proposal for the use of biomarkers for the assessment of chronic pollution and in regulatory toxicology. *Ecotoxicology*, 12(1-4), 331-343.
- Hariharan, G., Purvaja, R., & Ramesh, R. (2014). Toxic Effects of Lead on Biochemical and Histological Alterations in Green Mussel (*Perna viridis*) Induced by Environmentally Relevant Concentrations. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 77(5), 246-260.
- Harris, E. D. (2000). Cellular copper transport and metabolism. *Annual review of nutrition*, 20(1), 291-310.
- Haszprunar, G., & Wanninger, A. (2012). Molluscs. *Current Biology*, 22(13), R510-R514.
- Hauton, C., Hawkins, L. E., & Williams, J. A. (1997). In situ variability in phenoloxidase activity in the shore crab, *Carcinus maenas* (L.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 117(2), 267-271.
- Hedgspeth, M. L., Nilsson, P. A., & Berglund, O. (2014). Ecological implications of altered fish foraging after exposure to an antidepressant pharmaceutical. *Aquatic Toxicology*, 151, 84-87.
- Hellio, C., Bado-Nilles, A., Gagnaire, B., Renault, T., & Thomas-Guyon, H. (2007). Demonstration of a true phenoloxidase activity and activation of a ProPO cascade in Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) in vitro. *Fish & shellfish immunology*, 22(4), 433-440.
- Helm, M. M., Bourne, N., Lovatelli, A. (2006). *Cultivo de bivalvos en criadero: Un manual práctico*. Documento Técnico de Pesca FAO, Roma. 182 p.
- Hemelraad, J., Holwerda, D. A., & Zandee, D. I. (1986). Cadmium kinetics in freshwater clams. I. The pattern of cadmium accumulation in *Anodonta cygnea*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 15(1), 1-7.
- Hemelraad, J., Holwerda, D. A., Wijnne, H. J. A., & Zandee, D. I. (1990). Effects of cadmium in freshwater clams. I. Interaction with essential elements in *Anodonta cygnea*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 19(5), 686-690.

- Henkel, G., & Krebs, B. (2004). Metallothioneins: zinc, cadmium, mercury, and copper thiolates and selenolates mimicking protein active site features-structural aspects and biological implications. *Chemical reviews*, *104*(2), 801-824.
- Hernández-López, J., Gollas-Galván, T., & Vargas-Albores, F. (1996). Activation of the prophenoloxidase system of the brown shrimp *Penaeus californiensis* Holmes). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, *113*(1), 61-66.
- Hertzberg, R.C., Rice, G., Teuschler, L.K., (1999). Methods for health risk assessment of combustion mixtures. In: Roberts, S., Teaf, C., Bean, J. (Eds.), *Hazardous Waste Incineration: Evaluating the Human Health and Environmental Risks*. CRC Press LLC, Boca Raton, pp. 105–148.
- Hietanen, B., Sunila, I., & Kristoffersson, R. (1988a). Toxic effects of zinc on the common mussel *Mytilus edulis* L. (Bivalvia) in brackish water. I. Physiological and histopathological studies. In *Annales Zoologici Fennici* (Vol. 25, No. 4, pp. 341-347).
- Hietanen, B., Sunila, I., & Kristoffersson, R. (1988b). Toxic effects of zinc on the common mussel *Mytilus edulis* L. (Bivalvia) in brackish water. II. Accumulation studies. In *Annales Zoologici Fennici* (Vol. 25, pp. 349-352). Societas zoologica botanica fennica Vanamo.
- Hinkle, P. M., Kinsella, P. A., & Osterhoudt, K. C. (1987). Cadmium uptake and toxicity via voltage-sensitive calcium channels. *Journal of Biological Chemistry*, *262*(34), 16333-16337.
- Hinz, W., & Scheil, H. G. (1972). Zur Filtrationsleistung von *Dreissena*, *Sphaerium* und *Pisidium* (Eulamellibranchiata). *Oecologia*, *11*(1), 45-54.
- Hoare, K., Davenport, J., & Beaumont, A. R. (1995). Effects of exposure and previous exposure to copper on growth of veliger larvae and survivorship of *Mytilus edulis* juveniles. *Marine ecology progress series. Oldendorf*, *120*(1), 163-168.
- Hoffmann, J. A., Kafatos, F. C., Janeway, C. A., & Ezekowitz, R. A. B. (1999). Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science*, *284*(5418), 1313-1318.
- Höher, N., Köhler, A., Strand, J., & Broeg, K. (2012). Effects of various pollutant mixtures on immune responses of the blue mussel (*Mytilus edulis*) collected at a salinity gradient in Danish coastal waters. *Marine environmental research*, *75*, 35-44.
- Höher, N., Regoli, F., Dissanayake, A., Nagel, M., Kriews, M., Köhler, A., & Broeg, K. (2013). Immunomodulating effects of environmentally realistic copper concentrations in *Mytilus edulis* adapted to naturally low salinities. *Aquatic Toxicology*, *140*, 185-195.
- Holopainen, I. J., & Lopez, G. R. (1989, January). Functional anatomy and histology of the digestive tract of fingernail clams (Sphaeriidae, Bivalvia). In *Annales Zoologici Fennici* (pp. 61-72). Finnish Zoological Publishing Board, formed by the Finnish Academy of Sciences, Societas Scientiarum Fennica, Societas pro Fauna et Flora Fennica and Societas Biologica Fennica Vanamo.
- Holwerda, D. A. (1991). Cadmium kinetics in freshwater clams. V. Cadmium-copper interaction in metal accumulation by *Anodonta cygnea* and characterization of the metal-binding protein. *Archives of environmental contamination and toxicology*, *21*(3), 432-437.
- Hong, S., Boutron, C. F., Gabrielli, P., Barbante, C., Ferrari, C. P., Petit, J. R., Lee, K., Lipenkov, V. Y. (2004). Past natural changes in Cu, Zn and Cd in Vostok Antarctic ice dated back to the penultimate interglacial period. *Geophysical research letters*, *31*(20) 5–8

- Hooper S.L., Hobbs K.H., Thuma J.B. (2008). Invertebrate muscles: Thin and thick filament structure; molecular basis of contraction and its regulation, catch and asynchronous muscle. *Progress in Neurobiology*, 86 (2008) 72–127
- Huang, H. Q., Cao, T. M., & Lin, Q. M. (2004). Characteristics of trapping copper ions with scrolled ferritin reactor in the flowing seawater. *Environmental science & technology*, 38(8), 2476-2481.
- Huanxin, W., Lejun, Z., & Presley, B. J. (2000). Bioaccumulation of heavy metals in oyster (*Crassostrea virginica*) tissue and shell. *Environmental Geology*, 39(11), 1216-1226.
- Hummel, H., Amiard-Triquet, C., Bachelet, G., Desprez, M., Marchand, J., Sylvand, B. ... & De Wolf, L. (1996). Sensitivity to stress of the estuarine bivalve *Macoma balthica* from areas between the Netherlands and its southern limits (Gironde). *Journal of Sea Research*, 35(4), 315-321.
- Hutchinson, T. H., Lyons, B. P., Thain, J. E., & Law, R. J. (2013). Evaluating legacy contaminants and emerging chemicals in marine environments using adverse outcome pathways and biological effects-directed analysis. *Marine pollution bulletin*, 74(2), 517-525.
- Hvilsom, M. M. (1983). Copper-induced differential mortality in the mussel *Mytilus edulis*. *Marine biology*, 76(3), 291-295.

## I

- Iannacone, J., & Salazar, N. (2007). Efecto de mezclas binarias de tres metales pesados sobre larvas de *Chironomus calligraphus*. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 2(3), 211-217.
- IARC (2011). *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Cadmium and Cadmium Compounds*. Volume 100C. Lyon, France.
- IARC. (2006) Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *Inorganic and organic lead compounds*. World Health Organization International Agency for Research on Cancer. En *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Inorganic and Organic Lead Compounds*. Volume 87.
- IARC. (2012) Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Cadmium and cadmium compounds. World Health Organization International Agency for Research on Cancer. En *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. A Review of Human Carcinogens: Arsenic, Metals, Fibres, and Dusts*. Volume 100C, 121-146
- Ibáñez, M. (1986). La contaminación por metales pesados en la costa de Guipúzcoa. Lurralde: Investigación y espacio, (9), 105-111.
- ICES International Council. For the Exploration of the Sea, Copenhagen (Denmark). (2012). Integrated marine environmental monitoring of chemicals and their effects. I. M. Davies & D. Vethaak (Eds.).
- Ince, N. H., Dirilgen, N., Apikyan, I. G., Tezcanli, G., & Üstün, B. (1999). Assessment of toxic interactions of heavy metals in binary mixtures: a statistical approach. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 36(4), 365-372.
- International Maritime Organization. <http://www.imo.org>.

- IPCC (2014). Intergovernmental Panel on Climate Change. Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (<http://www.ipcc.ch/>) fecha de acceso 18/12/2014.
- IPCS (1998). World Health Organization (WHO), P. D. Howe, G. C. Becking, P. Callan, C. Dameron and L. Tomaska. 1998. Environmental Health Criteria 200. Copper. Int. Prog. Chem. Safety, World Health Org.; Geneva, Switzerland. 360 pp.
- IPSO, (2014) (<http://www.stateoftheocean.org/research.cfm>) fecha de acceso 8/7/2015
- Isani, G., Monari, M., Andreani, G., Fabbri, M., & Carpene, E. (2003). Effect of copper exposure on the antioxidant enzymes in bivalve mollusc *Scapharca inaequalvis*. *Veterinary research communications*, 27, 691-693.
- Islam, M. S., & Tanaka, M. (2004). Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. *Marine pollution bulletin*, 48(7), 624-649.
- Ivanina, A. V., Sokolov, E. P., & Sokolova, I. M. (2010). Effects of cadmium on anaerobic energy metabolism and mRNA expression during air exposure and recovery of an intertidal mollusk *Crassostrea virginica*. *Aquatic toxicology*, 99(3), 330-342.
- Iyengar. (1989). "Element Analysis of Biological Systems". Volumen I, (1989). Ed. CRC Press. Boca Ratón, Florida, Estados Unidos.

## J

- Jachowicz, D., Brodnicke, O. B., Hansen, A., & Thomasen, R. E. (2014). An investigation of the uptake rate of zinc in a freshwater amphipod (*Gammarus pulex*) in binary mixtures with cadmium and copper (Doctoral dissertation). Roskilde University
- Jaenicke, E., Föll, R., & Decker, H. (1999). Spider hemocyanin binds ecdysone and 20-OH-ecdysone. *Journal of Biological Chemistry*, 274(48), 34267-34271.
- Jakubowski, M., & Trzcinka-Ochocka, M. (2005). Biological monitoring of exposure: trends and key developments. *Journal of occupational health*, 47(1), 22-48.
- Järup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British medical bulletin*, 68(1), 167-182.
- Järup, L., & Åkesson, A. (2009). Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicology and applied pharmacology*, 238(3), 201-208.
- Järup, L., Berglund, M., Elinder, C. G., Nordberg, G., & Vanter, M. (1998). Health effects of cadmium exposure—a review of the literature and a risk estimate. *Scandinavian journal of work, environment & health*, 1-51.
- Jebali, J., Chouba, L., Banni, M., & Boussetta, H. (2014). Comparative study of the bioaccumulation and elimination of trace metals (Cd, Pb, Zn, Mn and Fe) in the digestive gland, gills and muscle of bivalve *Pinna nobilis* during a field transplant experiment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(2), 212-217.
- Jensen, A., & Bro-Rasmussen, F. (1992). Environmental cadmium in Europe. In *Reviews of environmental contamination and toxicology* (pp. 101-181). Springer New York.

- Jiang, T. J., & Niu, T., (2006). Effects of heavy metals on superoxide dismutase (SOD) of *Crassostrea rivularis*. *Ecology and Environment*, 15(2): 289-294. (In Chinese with English abstract)
- Jiang, Z., Huang, Y., Chen, Q., Zeng, J., & Xu, X. (2012). Acute toxicity of crude oil water accommodated fraction on marine copepods: the relative importance of acclimatization temperature and body size. *Marine environmental research*, 81, 12-17.
- Jing, G., Li, Y., Xie, L., & Zhang, R. (2006). Metal accumulation and enzyme activities in gills and digestive gland of pearl oyster (*Pinctada fucata*) exposed to copper. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 144(2), 184-190.
- Jing, G., Li, Y., Xie, L., & Zhang, R. (2007). Different effects of Pb<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> on immune and antioxidant enzyme activities in the mantle of *Pinctada fucata*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 24(2), 122-128.
- Jing, G., Li, Y., Xie, L., & Zhang, R. (2007). Different effects of Pb<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> on immune and antioxidant enzyme activities in the mantle of *Pinctada fucata*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 24(2), 122-128.
- Jiraungkoorskul, W., Upatham, E. S., Kruatrachue, M., Sahaphong, S., Vichasri-Grams, S., & Pokethitiyook, P. (2003). Biochemical and histopathological effects of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environmental toxicology*, 18(4), 260-267.
- Joksimovic, D., Tomic, I., Stankovic, A. R., Jovic, M., & Stankovic, S., (2011). Trace metal concentrations in Mediterranean blue mussel and surface sediments and evaluation of the mussels quality and possible risks of high human consumption. *Food chemistry*, 127(2), 632-637.
- Jomova, K., & Valko, M. (2011). Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, 283(2), 65-87.
- Jones, H. D., Richards, O. G., & Southern, T. A. (1992). Gill dimensions, water pumping rate and body size in the mussel *Mytilus edulis* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 155(2), 213-237.
- Jones, W. G., & Walker, K. F. (1979). Accumulation of iron, manganese, zinc and cadmium by the Australian freshwater mussel *Velesunio ambiguus* (Phillipi) and its potential as a biological monitor. *Marine and Freshwater Research*, 30(6), 741-751.
- Jorge, M. B., Loro, V. L., Bianchini, A., Wood, C. M., & Gillis, P. L. (2013). Mortality, bioaccumulation and physiological responses in juvenile freshwater mussels (*Lampsilis siliquoidea*) chronically exposed to copper. *Aquatic toxicology*, 126, 137-147.
- Jorge, M.B., Lauer, M.M., Martins, C.M.G., Bianchini, A., (2014). Ionoregulatory and respiratory disturbances induced by copper in the osmoconforming clam *Mesodesma mactroides*. *Aquatic Toxicology*. (Submitted for publication).
- Jørgensen CB (1996) Bivalve filter feeding revisited. *Marine Ecology Progress Series* 142:287-302
- Jørgensen, C. B. (1981). A hydromechanical principle for particle retention in *Mytilus edulis* and other ciliary suspension feeders. *Marine Biology*, 61(4), 277-282.
- Jørgensen, C.B., (1990). Bivalves filter feeding: hydrodynamics, bioenergetics, physiology and ecology. Olsen and Olsen Inc., Freedenberg, pp: 140.

- Jørgensen, C.B., Larsen, P. S., Møhlenberg, F. y Riisgård, H.U., (1988). The bivalve pump: properties and modelling. *Marine Ecology Progress Series*, 45:205–216.
- Jović, M., Stanković, A., Slavković-Beskoski, L., Tomić, I., Degetto, S., & Stanković, S. (2011). Mussels as a bio-indicator of the environmental quality of the coastal water of the Boka Kotorska Bay (Montenegro). *Journal of the Serbian Chemical Society*, 76(6), 933-946.
- Julshamn, K., Torpe, E. K., Børnes, C., Sæthre, L. J., & Maage, A. (2001). Cadmium, lead, copper and zinc in blue mussels (*Mytilus edulis*) sampled in the Hardangerfjord, Norway. *Journal of Environmental Monitoring*, 3(5), 539-542.

## K

- Kádár, E., Costa, V., Santos, R. S., & Lopes, H. (2005). Behavioural response to the bioavailability of inorganic mercury in the hydrothermal mussel *Bathymodiolus azoricus*. *The Journal of experimental biology*, 208(3), 505-513.
- Kádár, E., Salánki, J., & Powell, J. (2002). Effect of sub-lethal concentrations of aluminium on the filtration activity of the freshwater mussel *Anodonta cygnea* L. at neutral pH. *Acta Biologica Hungarica*, 53(4), 485-494.
- Kakkar, P., & Jaffery, F. N. (2005). Biological markers for metal toxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19(2), 335-349.
- Kalantzi, I., Shimmield, T. M., Pergantis, S. A., Papageorgiou, N., Black, K. D., & Karakassis, I. (2013). Heavy metals, trace elements and sediment geochemistry at four Mediterranean fish farms. *Science of the Total Environment*, 444, 128-137.
- Kamel, N., Attig, H., Dagnino, A., Boussetta, H., & Banni, M. (2012). Increased temperatures affect oxidative stress markers and detoxification response to benzo [a] pyrene exposure in mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 63(4), 534-543.
- Kamunde, C. (2009). Early subcellular partitioning of cadmium in gill and liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following low-to-near-lethal waterborne cadmium exposure. *Aquatic toxicology*, 91(4), 291-301.
- Kaoud, H. A., & El-Dahshan, A. R. (2010). Bioaccumulation and histopathological alterations of the heavy metals in *Oreochromis niloticus* fish. *Nature and Science*, 8(4), 147-156.
- Kara, Yvonne, "Physiological and Toxicological Effects of Pb Plus Cd Mixtures on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Soft Acidic Water" (2010). *Theses and Dissertations (Comprehensive)*. Paper 1008. <http://scholars.wlu.ca/etd/1008>
- Kazantzis, G. (2004). Cadmium, osteoporosis and calcium metabolism. *Biometals*, 17(5), 493-498.
- Keddy, C. J., Greene, J. C., & Bonnell, M. A. (1995). Review of whole-organism bioassays: soil, freshwater sediment, and freshwater assessment in Canada. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 30(3), 221-251.
- Khargarot, B. S., & Rathore, R. S. (2003). Effects of copper on respiration, reproduction, and some biochemical parameters of water flea *Daphnia magna* Straus. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 70(1), 0112-0117.

- Khebbeb, M.E.H., Nadji, N., & Amrani, A. (2010). The effect of cadmium exposure on malonaldehyde and reduced glutathione concentrations in several tissues of a bivalve mollusc (*Ruditapes decussatus*) fished from Mellah lagoon (North East of Algeria). *Annals of Biological Research*, 1(2), 166-173.
- Khessiba, A., Hoarau, P., Gnassia-Barelli, M., Aissa, P., & Roméo, M. (2001). Biochemical response of the mussel *Mytilus galloprovincialis* from Bizerta (Tunisia) to chemical pollutant exposure. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 40(2), 222-229.
- Kiaune, L., & Singhasemanon, N. (2011). Pesticidal copper (I) oxide: environmental fate and aquatic toxicity. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 213* (pp. 1-26). Springer New York.
- Kidd, K. A., Blanchfield, P. J., Mills, K. H., Palace, V. P., Evans, R. E., Lazorchak, J. M., & Flick, R. W. (2007). Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(21), 8897-8901.
- Kilgour, B. W., Mackie, G. L., Baker, M. A., & Keppel, R. (1994). Effects of salinity on the condition and survival of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). *Estuaries*, 17(2), 385-393.
- Kim, S. G., Jee, J. H., & Kang, J. C. (2004). Cadmium accumulation and elimination in tissues of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* after sub-chronic cadmium exposure. *Environmental Pollution*, 127(1), 117-123.
- Kimbrough, K. L., W. E. Johnson, G. G. Lauenstein, J. D. Christensen and D. A. Apeti. (2008). An assessment of two decades of contaminant monitoring in the Nation's Coastal Zone. Silver Spring, MD. NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS 74. 105 pp.
- Klaassen, C. D. (Ed.). (2013). *Casarett and Doull's Toxicology: the basic science of poisons* (Vol. 1236). New York (NY): McGraw-Hill.
- Klaassen, C. D., & Watkins, J. B. (2005). Casarett y Doull fundamentos de toxicología. In *Casarett y Doull fundamentos de toxicología*. McGraw-Hill Interamericana.
- Klavins, M., Briede, A., Rodinov, V., Kokorite, I., Parele, E., & Klavina, I. (2000). Heavy metals in rivers of Latvia. *Science of the Total Environment*, 262(1), 175-183.
- Klein, R. T., Lohmann, K. C., & Thayer, C. W. (1996). Sr/Ca and <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C ratios in skeletal calcite of *Mytilus trossulus*: Covariation with metabolic rate, salinity, and carbon isotopic composition of seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60(21), 4207-4221.
- Klerks, P. L., & Fraleigh, P. C. (1997). Uptake of nickel and zinc by the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 32(2), 191-197.
- Kljaković-Gašpić, Z., Herceg-Romanić, S., Kožul, D., & Veža, J. (2010). Biomonitoring of organochlorine compounds and trace metals along the Eastern Adriatic coast (Croatia) using *Mytilus galloprovincialis*. *Marine pollution bulletin*, 60(10), 1879-1889.
- Kljaković-Gašpić, Z., Odžak, N., Ujević, I., Zvonarić, T., Horvat, M., & Barić, A. (2006). Biomonitoring of mercury in polluted coastal area using transplanted mussels. *Science of the total environment*, 368(1), 199-209.

- Kobayashi, J., (1971). Relation between Itai-Itai disease and the pollution of river water by cadmium from mine. In: Jenkins, S.H. (Ed.), *Advances in Water Pollution Research 1970*, vol. 1. Pergamon Press, Oxford, pp. 1–25.
- Kobayashi, N., & Okamura, H. (2004). Effects of heavy metals on sea urchin embryo development. 1. Tracing the cause by the effects. *Chemosphere*, 55(10), 1403-1412.
- Kobayashi, N., & Okamura, H. (2005). Effects of heavy metals on sea urchin embryo development. Part 2. Interactive toxic effects of heavy metals in synthetic mine effluents. *Chemosphere*, 61(8), 1198-1203.
- Kobayashi, N., (1971). Fertilized sea urchin eggs as an indicatory material for marine pollution bioassay, preliminary experiments. *Seto Marine Biological Laboratory*. 18, 376–406.
- Koliadima, A., & Karaiskakis, G. (1990). Coastal water pollution: dissolved heavy metals and suspended particulate matter. *Zeitschrift für Wasser-und Abwasser-Forschung*, 23(3), 102-105.
- Kolyuchkina, G. A., & Ismailov, A. D. (2011). Morpho-functional characteristics of bivalve mollusks under the experimental environmental pollution by heavy metals. *Oceanology*, 51(5), 804-813.
- Kopecka-Pilarczyk, J. (2010). The effect of pesticides and metals on acetylcholinesterase (AChE) in various tissues of blue mussel (*Mytilus trossulus* L.) in short-term in vivo exposures at different temperatures. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 45(4), 336-346.
- Kostial, K. (1986). Cadmium. In: Mertz W (Ed.), *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. Volume II, Academic Press, Florida, US, pp: 319-345.
- Koukouzika, N., Raftopoulou, E. K., & Dimitriadis, V. K. (2009). Seasonal differences of lysosomal, lipid and lipofuscin parameters in the digestive gland of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Journal of Molluscan Studies*, eyp022.
- Koutsogiannaki, S., Franzellitti, S., Fabbri, E., & Kaloyianni, M. (2014). Oxidative stress parameters induced by exposure to either cadmium or 17 $\beta$ -estradiol on *Mytilus galloprovincialis* hemocytes. The role of signaling molecules. *Aquatic Toxicology*, 146, 186-195.
- Kraak, M. H. S., Schoon, H., Peeters, W. H. M., & Vanstraelen, N. M. (1993). Chronic ecotoxicity of mixtures of Cu, Zn, and Cd to the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Ecotoxicology and environmental Safety*, 25(3), 315-327.
- Kraak, M. H. S., Stuijzand, S. C., & Admiraal, W. (1999). Short-term ecotoxicity of a mixture of five metals to the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 63(6), 805-812.
- Kraak, M. H., Lavy, D., Peeters, W. H., & Davids, C. (1992). Chronic ecotoxicity of copper and cadmium to the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 23(3), 363-369.
- Kraak, M. H., Lavy, D., Schoon, H., Toussaint, M., Peeters, W. H., & van Straalen, N. M. (1994b). Ecotoxicity of mixtures of metals to the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13(1), 109-114.
- Kraak, M. H., Toussaint, M., Lavy, D., & Davids, C. (1994c). Short-term effects of metals on the filtration rate of the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Environmental Pollution*, 84(2), 139-143.



- Kraak, M. H., Wink, Y. A., Stuijzand, S. C., Buckert-de Jong, M. C., de Groot, C. J., & Admiraal, W. (1994a). Chronic ecotoxicity of Zn and Pb to the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Aquatic toxicology*, 30(1), 77-89.
- Kramer, K. J., Jenner, H. A., & de Zwart, D. (1989). The valve movement response of mussels: a tool in biological monitoring. In *Environmental Bioassay Techniques and their Application* (pp. 433-443). Springer Netherlands.
- Krause-Nehring, J., Brey, T., & Thorrold, S. R. (2012). Centennial records of lead contamination in northern Atlantic bivalves (*Arctica islandica*). *Marine pollution bulletin*, 64(2), 233-240.
- Krishnakumar, P. K. (1987). Physiological effects of some heavy metals on *Perna viridis* (Linnaeus) (Doctoral dissertation), Cochin: University of Science and Technology.
- Krishnakumar, P. K., & Damodaran, R. (1991). Effect of body size and copper exposure on physiological responses of green mussel *Perna viridis* (Linnaeus). *Indian Journal of Fisheries*, 38(2), 83-88.
- Kubrak, O. I., Atamaniuk, T. M., Husak, V. V., & Lushchak, V. I. (2013). Transient effects of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) exposure on some metabolic and free radical processes in goldfish white muscle. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 356-361.
- Kuchel, R. P., McCarthy, A., & Raftos, D. A. (2012). Phenoloxidase activity as an indicator of stress in the silver-lip pearl oyster, *Pinctada maxima*. *Aquaculture*, 364, 224-229.
- Kucuksezgin, F., Kayatekin, B. M., Uluturhan, E., Uysal, N., Acikgoz, O., & Gonenc, S. (2008). Preliminary investigation of sensitive biomarkers of trace metal pollution in mussel (*Mytilus galloprovincialis*) from Izmir Bay (Turkey). *Environmental monitoring and assessment*, 141(1), 339-345.
- Kungolos, A., Emmanouil, C., Tsiridis, V., & Tsiropoulos, N. (2009). Evaluation of toxic and interactive toxic effects of three agrochemicals and copper using a battery of microbiotests. *Science of the Total Environment*, 407(16), 4610-4615.
- Kungolos, A., Samaras, P., Kipopoulou, A. M., Zoumboulis, A., & Sakellaropoulos, G. P. (1999). Interactive toxic effects of agrochemicals on aquatic organisms. *Water science and technology*, 40(1), 357-364.
- Kunz, P. Y., Kienle, C., & Gerhardt, A. (2010). Gammarus spp. in aquatic ecotoxicology and water quality assessment: toward integrated multilevel tests. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 205* (pp. 1-76). Springer New York.
- Kurnia, A. I., Purwanto, E., & Mahajoeno, E. (2010). Exposure copper heavy metal (Cu) on freshwater mussel (*Anodonta woodiana*) and its relation to Cu and protein content in the body shell. *Bioscience*, 2, 48-53.

## L

- LaBarbera, M. (1984). Feeding currents and particle capture mechanisms in suspension feeding animals. *American Zoologist*, 24(1), 71-84.
- Labrot, F., Narbonne, J. F., Ville, P., Saint Denis, M., & Ribera, D. (1999). Acute toxicity, toxicokinetics, and tissue target of lead and uranium in the clam *Corbicula fluminea* and the worm *Eisenia fetida*:

- comparison with the fish *Brachydanio rerio*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 36(2), 167-178.
- Lagadic, L., Caquet, T., & Ramade, F. (1994). The role of biomarkers in environmental assessment (5). Invertebrate populations and communities. *Ecotoxicology*, 3(3), 193-208.
- Lall S.P. (2002). The Minerals. En Fish Nutrition (Third Edition), John E. Halver and Ronald W. Hardy (Ed). Academic Press, San Diego. Pp 259-308.
- Landis, W. G., Sofield, R. M., & Yu, M. H. *Introduction to environmental toxicology: molecular substructures to ecological landscapes*. Boca Raton: CRC Press; 2010
- Landner, L., & Reuther, R. (Eds.). (2004). *Metals in society and in the environment: a critical review of current knowledge on fluxes, speciation, bioavailability and risk for adverse effects of copper, chromium, nickel and zinc* (Vol. 8). Springer Science & Business Media.
- Lane, T. W., Saito, M. A., George, G. N., Pickering, I. J., Prince, R. C., & Morel, F. M. (2005). Biochemistry: a cadmium enzyme from a marine diatom. *Nature*, 435(7038), 42-42.
- Lang, T., Wosniok, W., Baršienė, J., Broeg, K., Kopecka, J., & Parkkonen, J. (2006). Liver histopathology in Baltic flounder (*Platichthys flesus*) as indicator of biological effects of contaminants. *Marine pollution bulletin*, 53(8), 488-496.
- Langston, W. J., & Spence, S. K. (1995). Biological factors involved in metal concentrations observed in aquatic organisms. *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*, 3, 407-478.
- Langston, W.J., O'Hara, S., Pope, N.D., Davey, M., Shortridge, E., Imamura, M., Harino, H., Kim, A., Vane, C.H., (2012). Bioaccumulation surveillance in Milford Haven Waterway. *Environmental monitoring and assessment*, 184(1), 289-311.
- Larsson, Å., Bengtsson, B. E., & Haux, C. (1981). Disturbed ion balance in flounder, *Platichthys flesus* L. exposed to sublethal levels of cadmium. *Aquatic toxicology*, 1(1), 19-35.
- LaTouche, Y. D., & Mix, M. C. (1982). The effects of depuration, size and sex on trace metal levels in bay mussels. *Marine Pollution Bulletin*, 13(1), 27-29.
- Laurent, C., Variación estacional de la concentración de metales pesados (Zinc, Cobre, Cadmio, Cromo, Plomo y Níquel) en machos y hembras de *Perna viridis*, en la localidad de Guayacán, Península de Araya Edo. Sucre-Venezuela (Trabajo de grado). Cumaná: Departamento de Biología, Universidad de Oriente; 2009.
- Laurent, C., Variación estacional de la concentración de metales pesados (Zinc, Cobre, Cadmio, Cromo, Plomo y Níquel) en machos y hembras de *Perna viridis*, en la localidad de Guayacán, Península de Araya Edo. Sucre-Venezuela (Trabajo de grado). G: Departamento de Biología, Universidad de Oriente; 2009.
- Laxton, J. (1967). The bivalve gut whit special reference to the Amphidesmatidae. *Tane*, 13: 21-32.
- Le, T. H., Lim, E. S., Hong, N. H., Lee, S. K., Shim, Y. S., Hwang, J. R., ... & Min, J. (2013). Proteomic analysis in *Daphnia magna* exposed to As (III), As (V) and Cd heavy metals and their binary mixtures for screening potential biomarkers. *Chemosphere*, 93(10), 2341-2348.
- Lecoœur, S., Videmann, B., & Berny, P. (2004). Evaluation of metallothionein as a biomarker of single and combined Cd/Cu exposure in *Dreissena polymorpha*. *Environmental research*, 94(2), 184-191.

- Lee, B. G., Wallace, W. G., & Luoma, S. N. (1998). Uptake and loss kinetics of Cd, Cr and Zn in the bivalves *Potamocorbula amurensis* and *Macoma balthica*: effects of size and salinity. *Marine Ecology-Progress Series*, 175, 177-189.
- Lee, J. G. y Morel F. M. M., 1995. Replacement of zinc by cadmium in marine phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, 127, 305-309.
- Lee, K., Do Hur, S., Hou, S., Hong, S., Qin, X., Ren, J., Liu, Y., Rosman, K.J.R., Barbante, C., Boutron, F. (2008). Atmospheric pollution for trace elements in the remote high-altitude atmosphere in central Asia as recorded in snow from Mt. Qomolangma (Everest) of the Himalayas. *Science of the total environment*, 404(1), 171-181.
- Lee, M. R., & Correa, J. A. (2007). An assessment of the impact of copper mine tailings disposal on meiofaunal assemblages using microcosm bioassays. *Marine environmental research*, 64(1), 1-20.
- Lehtonen, K. K., & Leiniö, S. (2003). Effects of exposure to copper and malathion on metallothionein levels and acetylcholinesterase activity of the mussel *Mytilus edulis* and the clam *Macoma balthica* from the Northern Baltic Sea. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 71(3), 0489-0496.
- Lei, W., Wang, L., Liu, D., Xu, T., & Luo, J. (2011). Histopathological and biochemical alternations of the heart induced by acute cadmium exposure in the freshwater crab *Sinopotamon yangtsekiense*. *Chemosphere*, 84(5), 689-694.
- Lemus, M., Eucaris, E., Salazar-Lugo, R., & Chung, K. (2014). Modulación de la síntesis de metalotioninas en *Perna viridis* preexpuestos a cobre y expuestos a cadmio. *Saber*, 26(1).
- Lemus, M., Laurent, C., Arlys, A., Meris, C., Aponte, A., & Chung, K. (2010). Variación estacional de metales pesados en *Perna viridis*, de la localidad de Guayacán, península de Araya, estado Sucre, Venezuela. *The Biologist*, 8(2), 126-138.
- Leung, K. M., & Furness, R. W. (2001). Metallothionein induction and condition index of dogwhelks *Nucella lapillus* (L.) exposed to cadmium and hydrogen peroxide. *Chemosphere*, 44(3), 321-325.
- Ley 41/2010, de 29 de diciembre, de protección del medio marino. Boletín Oficial del Estado, 30 de diciembre de 2010, núm. 317, pp.108464-108488
- Li, G., Cao, Z., Lan, D., Xu, J., Wang, S., & Yin, W. (2007). Spatial variations in grain size distribution and selected metal contents in the Xiamen Bay, China. *Environmental geology*, 52(8), 1559-1567.
- Li, G., Hu, B., Bi, J., Leng, Q., Xiao, C., & Yang, Z. (2013a). Heavy metals distribution and contamination in surface sediments of the coastal Shandong Peninsula (Yellow Sea). *Marine pollution bulletin*, 76(1), 420-426.
- Li, G., Li, J., & Li, D. (2010b). Seasonal variation in nutrient composition of *Mytilus coruscus* from China. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(13), 7831-7837.
- Li, S., Xie, L., Zhang, C., Zhang, Y., Gu, M., & Zhang, R. (2004). Cloning and expression of a pivotal calcium metabolism regulator: calmodulin involved in shell formation from pearl oyster (*Pinctada fucata*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 138(3), 235-243.

- Li, X. B., Hou, X. L., Mao, Q., Zhao, Y. L., Cheng, Y. X., & Wang, Q. (2009a). Toxic effects of copper on antioxidative and metabolic enzymes of the marine gastropod, *Onchidium struma*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 56(4), 776-784.
- Li, Y., Chai, X., Wu, H., Jing, W., & Wang, L. (2013b). The Response of Metallothionein and Malondialdehyde after Exclusive and Combined Cd/Zn Exposure in the Crab *Sinopotamon henanense*. *PloS one*, 8(11), e80475.
- Li, Y., Gu, Z., Liu, H., Shen, H., & Yang, J. (2012). Biochemical response of the mussel *Mytilus coruscus* (Mytiloidea: Mytilidae) exposed to in vivo sub-lethal copper concentrations. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 30, 738-745.
- Li, Y., Qin, J. G., Abbott, C. A., Li, X., & Benkendorff, K. (2007). Synergistic impacts of heat shock and spawning on the physiology and immune health of *Crassostrea gigas*: an explanation for summer mortality in Pacific oysters. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 293(6), R2353-R2362.
- Li, Y., Qin, J. G., Li, X., & Benkendorff, K. (2009b). Spawning-dependent stress responses in Pacific oysters *Crassostrea gigas*: A simulated bacterial challenge in oysters. *Aquaculture*, 293(3), 164-171.
- Li, Y., Qin, J. G., Li, X., & Benkendorff, K. (2010a). Assessment of metabolic and immune changes in postspawning Pacific oyster *Crassostrea gigas*: identification of a critical period of vulnerability after spawning. *Aquaculture Research*, 41(9), e155-e165.
- Li, Y., Yang, H., Liu, N., Luo, J., Wang, Q., & Wang, L. (2015). Cadmium Accumulation and Metallothionein Biosynthesis in Cadmium-Treated Freshwater Mussel *Anodonta woodiana*. *PloS one*, 10(2).
- Libes, S.M. *Introduction to Marine Biogeochemistry*. 2<sup>a</sup> ed. London: Elsevier; 2009.
- Lin, M. H., Lee, C. H., Lin, Y. C., & Yang, K. H. (2011). Potentially toxic trace elements accumulating in marine sediment and bivalves in the outfall area of a desalination plant. *Desalination and Water Treatment*, 25(1-3), 106-112.
- Lin, Y. C., Chang-Chien, G. P., Chiang, P. C., Chen, W. H., & Lin, Y. C. (2013). Multivariate analysis of heavy metal contaminations in seawater and sediments from a heavily industrialized harbor in Southern Taiwan. *Marine pollution bulletin*, 76(1), 266-275.
- Liu, D., Yang, J., & Wang, L. (2013). Cadmium induces ultrastructural changes in the hepatopancreas of the freshwater crab *Sinopotamon henanense*. *Micron*, 47, 24-32.
- Liu, F., & Wang, W. X. (2015). Linking trace element variations with macronutrients and major cations in marine mussels *Mytilus edulis* and *Perna viridis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*.
- Liu, F., Wang, D. Z., & Wang, W. X. (2012). Cadmium-induced changes in trace element bioaccumulation and proteomics perspective in four marine bivalves. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(6), 1292-1300.
- Liu, J., Lu, G., Wu, D., & Yan, Z. (2014). A multi-biomarker assessment of single and combined effects of norfloxacin and sulfamethoxazole on male goldfish (*Carassius auratus*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 102, 12-17.

- Liu, S., Shi, X., Liu, Y., Zhu, Z., Yang, G., Zhu, A., Gao, J., 2011. Concentration distribution and assessment of heavy metals in sediments of mud area from inner continental shelf of the East China Sea. *Environmental Earth Sciences* 64, 567–579.
- Lobel, P. B., & Wright, D. A. (1982). Gonadal and nongonadal zinc concentrations in mussels. *Marine Pollution Bulletin*, 13(9), 320-323.
- Logan, P. (2001). Ecological quality assessment of rivers and integrated catchment management in England and Wales. *Journal of Limnology*, 60(1s), 25-32.
- Long, E. R., MacDonald, D. D., Smith, S. L., & Calder, F. D. (1995). Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental management*, 19(1), 81-97.
- Longcore, J. R., Locke, L. N., Bagley, G. E., & Andrews, R. (1974). *Significance of lead residues in mallard tissues*. US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service.
- López-San Nicolás, J., Albertosa, M., Campillo, JA., González-Fernández, C., Sevilla, A., Bernal, C., Cánovas, M., Romero, D. Respuesta metabólica en glándula digestiva de mejillón silvestre *Mytilus galloprovincialis* tras la exposición a cadmio. 9º Congreso Ibérico y 6º Iberoamericano de Contaminación y Toxicología.
- Lowe, D. M., Moore, M. N., & Bayne, B. L. (1982). Aspects of gametogenesis in the marine mussel *Mytilus edulis* L. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 62(01), 133-145.
- Lucas, A., & Beninger, P. G. (1985). The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture*, 44(3), 187-200.
- Luna-Acosta, A., Bustamante, P., Godefroy, J., Fruitier-Arnaudin, I., & Thomas-Guyon, H. (2010). Seasonal variation of pollution biomarkers to assess the impact on the health status of juvenile Pacific oysters *Crassostrea gigas* exposed in situ. *Environmental Science and Pollution Research*, 17(4), 999-1008.
- Luna-González, A. 2003. Susceptibilidad a *Vibrio alginolyticus* y mecanismos de defensa de moluscos bivalvos. Tesis doctoral. CIBNOR, La Paz, B.C.S. México. 108 pp.
- Luster, M. I., Ackermann, M. F., Germolec, D. R., & Rosenthal, G. J. (1989). Perturbations of the immune system by xenobiotics. *Environmental health perspectives*, 81, 157.

## M

- M. Johannesson, A review of risks associated to arsenic, cadmium, lead, mercury and zinc, p. 62. Appendix A in Johannesson, M. (Ed.) et al. 2002, The Market Implication of Integrated Management for Heavy Metals Flows for Bioenergy use in the European Union, Kalmar University, Department of Biology and Environmental Science, Sweden, 2002, p. 115.
- Macdonald, A., Silk, L., Schwartz, M., & Playle, R. C. (2002). A lead–gill binding model to predict acute lead toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 133(1), 227-242.
- Macdonald, D. D., Carr, R. S., Calder, F. D., Long, E. R., & Ingersoll, C. G. (1996). Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. *Ecotoxicology*, 5(4), 253-278.

- Macklin, M. G., Hudson-Edwards, K. A., & Dawson, E. J. (1997). The significance of pollution from historic metal mining in the Pennine orefields on river sediment contaminant fluxes to the North Sea. *Science of the total Environment*, 194, 391-397.
- Mager, E. M., Brix, K. V., & Grosell, M. (2010). Influence of bicarbonate and humic acid on effects of chronic waterborne lead exposure to the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Aquatic toxicology*, 96(2), 135-144.
- Mann, R., 1978. A comparison of morphometric, biochemical, and physiological indexes of condition in marine bivalve molluscs. In: Thorp, J.H., Gibbons, J.W. (Eds.), *Energy and Environmental Stress in Aquatic Systems*. Technical Information Center, U. S. Department of Energy, pp. 484–497.
- Mao, J. S., Cao, J., & Graedel, T. E. (2009). Losses to the environment from the multilevel cycle of anthropogenic lead. *Environmental pollution*, 157(10), 2670-2677.
- Marasinghe, C.P.M., Maher, W.A., Taylor, A.M., Krikowa, F., (2014a). Exposure–dose–response relationships of the freshwater bivalve *Hyridella australis* to cadmium spiked sediments. *Aquatic Toxicology*, 152 (0), 361–371.
- Marasinghe, C.P.M., Taylor, A.M., Maher, W.A., Ubrihien, R.P., Krikowa, F., (2014b). Effects of lead-spiked sediments on freshwater bivalve, *Hyridella australis*: linking organism metal exposure-dose-response. *Aquatic Toxicology*, 149 (0), 83–93.
- Marcano, M. Histología gonadal de *Perna* Linnaeus 1758 (Bivalvia: Mytilidae) del Morro de Guarapo, Costa Norte del Estado Sucre, Venezuela. (Trabajo de pregrado). Cumaná: Departamento de Biología, Universidad de Oriente; 2004
- Maret, W., & Sandstead, H. H. (2006). Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20(1), 3-18.
- Marigómez, I., Izagirre, U., & Lekube, X. (2005). Lysosomal enlargement in digestive cells of mussels exposed to cadmium, benzo [a] pyrene and their combination. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 141(2), 188-193.
- Marigómez, I., Soto, M., Cajaraville, M. P., Angulo, E., & Giambérini, L. (2002). Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Microscopy research and technique*, 56(5), 358-392.
- Markert, B. (2007). Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals in the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 21, 77-82.
- Markich, S. J., Brown, P. L., Jeffree, R. A., & Lim, R. P. (2000). Valve movement responses of *Vesunio angasi* (Bivalvia: Hyriidae) to manganese and uranium: An exception to the free ion activity model. *Aquatic Toxicology*, 51(2), 155-175.
- Markl, J. (2013). Evolution of molluscan hemocyanin structures. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1834(9), 1840-1852.
- Marsden, A. D., DeWreede, R. E., & Levings, C. D. (2003). Survivorship and growth of *Fucus gardneri* after transplant to an acid mine drainage-polluted area. *Marine pollution bulletin*, 46(1), 65-73.
- Martel, P., Kovacs, T., Voss, R., & Megraw, S. (2003). Evaluation of caged freshwater mussels as an alternative method for environmental effects monitoring (EEM) studies. *Environmental pollution*, 124(3), 471-483.

- Martinez-Tabche, L., Cabrera, I. G., Olivan, L. G., Martínez, M. G., & Faz, C. G. (2000). Toxic effects of zinc from trout farm sediments on ATP, protein, and hemoglobin concentrations of *Limnodrilus hoffmeisteri*. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 59(7), 575-583.
- Martinez-Tabche, L., Ortega, M. D. L. A. G., Mora, B. R., Faz, C. G., Lopez, E. L., & Martinez, M. G. (2001). Hemoglobin concentration and acetylcholinesterase activity of oligochaetes in relation to lead concentration in spiked sediments from Ignacio Ramirez reservoir. *Ecotoxicology and environmental safety*, 49(1), 76-83.
- Mastromatteo, E., & Sullivan, F. (1994). Summary: International Symposium on the Health Effects of Boron and its Compounds. *Environmental health perspectives*, 102(Suppl 7), 139.
- Matozzo, V., Ballarin, L., Pampanin, D. M., & Marin, M. G. (2001). Effects of copper and cadmium exposure on functional responses of hemocytes in the clam, *Tapes philippinarum*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 41(2), 163-170.
- Mattie, M.D., Freedman, J.H., (2001). Protective effects of aspirin and vitamin E (alpha-tocopherol) against copper and cadmium-induced toxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 285, 921-925.
- Mazorra, M. T., Rubio, J. A., & Blasco, J. (2002). Acid and alkaline phosphatase activities in the clam *Scrobicularia plana*: kinetic characteristics and effects of heavy metals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 131(2), 241-249.
- McCarthy LS, Munkittrick KR. (1996). Environmental biomarkers in aquatic toxicology: Fiction, fantasy, or functional? *Human and Ecological Risk Assessment* 2(2):268-274.
- McConchie, D. M., Mann, A. W., Lintern, M. J., Longman, D., Talbot, V., Gabelish, A. J., & Gabelish, M. J. (1988). Heavy metals in marine biota, sediments and waters from the Shark Bay area, Western Australia. *Journal of Coastal research*, 37-58.
- McDowell LR, (2003). General introduction. In: *Minerals in animal and human nutrition*, 2nd ed., pp. 1–32. Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands.
- Medzhitov, R. (2001). Toll-like receptors and innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, 1(2), 135-145.
- Meister, M., Lemaitre, B., & Hoffmann, J. A. (1997). Antimicrobial peptide defense in *Drosophila*. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 19(EPFL-REVIEW-151770), 1019-26.
- Menon, N. R., Prabhudeva, K. N., & Baby, K. V. (1988). Combined toxicity studies on *Perna* spp. *CMFRI Bulletin*, 42(2), 397-403.
- Mercer, J. F. (2001). The molecular basis of copper-transport diseases. *Trends in molecular medicine*, 7(2), 64-69.
- Mersch, J., & Pihan, J. C. (1993). Simultaneous assessment of environmental impact on condition and trace metal availability in zebra mussels *Dreissena polymorpha* transplanted into the Wiltz River, Luxembourg. Comparison with the aquatic moss. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 25(3), 353-364.

- Mersch, J., Wagner, P., & Pihan, J. C. (1996). Copper in indigenous and transplanted zebra mussels in relation to changing water concentrations and body weight. *Environmental toxicology and chemistry*, 15(6), 886-893.
- Metayer, C., Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., & Marchand, J. (1980). Transfer of Several Trace Elements in Neritic and Estuarine Food Chains: Bioaccumulation in Omnivorous and Carnivorous Fishes. *Helgolander Meeresunters*, 34(2), 179-191.
- Metcalfe-Smith, J. L., Green, R. H., & Grapentine, L. C. (1996). Influence of biological factors on concentrations of metals in the tissues of freshwater mussels (*Elliptio complanata* and *Lampsilis radiata radiata*) from the St. Lawrence River. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(1), 205-219.
- Meyhöfer, E. (1985). Comparative pumping rates in suspension-feeding bivalves. *Marine Biology*, 85(2), 137-142.
- Miao, A. J., Wang, W. X., & Juneau, P. (2005). Comparison of Cd, Cu, and Zn toxic effects on four marine phytoplankton by pulse-amplitude-modulated fluorometry. *Environmental toxicology and chemistry*, 24(10), 2603-2611.
- Micallef, S., & Tyler, P. A. (1990). Effect of mercury and selenium on the gill function of *Mytilus edulis*. *Marine pollution bulletin*, 21(6), 288-292.
- Mikac, N., Branica, M., & Harrison, R. M. (2001). Total and organic lead distribution in water, sediment and organisms from the Eastern Adriatic coast. *Chemical Speciation & Bioavailability*, 13(4), 121-128.
- Miner, M. I. M., Gonzalo, C., & Camargo, J. A. Toxicidad y bioacumulación de los iones fluoruro (F<sup>-</sup>) en el mejillón cebra *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771).
- Mohan, C. V., Gupta, T. R. C., Shetty, H. P. C., & Menon, N. R. (1986). Combined toxicity of mercury and cadmium to the tropical green mussel *Perna viridis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2(1), 65-72.
- Möller, A., Sturm, R., Xie, Z., Cai, M., He, J., & Ebinghaus, R. (2012). Organophosphorus flame retardants and plasticizers in airborne particles over the Northern Pacific and Indian Ocean toward the Polar Regions: Evidence for global occurrence. *Environmental science & technology*, 46(6), 3127-3134.
- Morgan, J. D., Mitchell, D. G., & Chapman, P. M. (1986). Individual and combined toxicity of manganese and molybdenum to mussel, *Mytilus edulis*, larvae. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 37(1), 303-307.
- Morrisey, D. J., Underwood, A. J., & Howitt, L. (1996). Effects of copper on the faunas of marine soft-sediments: an experimental field study. *Marine Biology*, 125(1), 199-213.
- Morton, B. (1971). Studies on the biology of *Dreissena polymorpha* pall V. Some aspects of filter-feeding and the effect of micro-organisms upon the rate of filtration. *Journal of Molluscan Studies*, 39(4), 289-301.
- Moschino, V., Bressan, M., Cavaleri, L., & Da Ros, L. (2015). Shell-shape and morphometric variability in *Mytilus galloprovincialis* from micro-tidal environments: responses to different hydrodynamic drivers. *Marine Ecology*.



- Mosher, S. (2008). Biomarkers of Lead Exposure in the Freshwater Mussel *Elliptio complanata* for assessing transportation related impacts (dissertation) *Graduate Faculty of North Carolina State University*. Raleigh, North Carolina.
- Mottin, E., Caplat, C., Mahaut, M. L., Costil, K., Barillier, D., Lebel, J. M., & Serpentine, A. (2010). Effect of in vitro exposure to zinc on immunological parameters of haemocytes from the marine gastropod *Haliotis tuberculata*. *Fish & shellfish immunology*, 29(5), 846-853.
- Mowat, F. S., & Bundy, K. J. (2002). Experimental and mathematical/computational assessment of the acute toxicity of chemical mixtures from the Microtox® assay. *Advances in Environmental Research*, 6(4), 547-558.
- Mubiana, V. K., Qadah, D., Meys, J., & Blust, R. (2005). Temporal and spatial trends in heavy metal concentrations in the marine mussel *Mytilus edulis* from the Western Scheldt estuary (The Netherlands). *Hydrobiologia*, 540(1-3), 169-180.
- Mumtaz, M.M., Hertzberg, R.C., (1993). The status of interactions data in risk assessment of chemical mixtures. In: Saxena, J. (Ed.), *Hazard Assessment of Chemicals*, vol. 8. Taylor and Francis, Washington, DC, pp. 47-79
- Murozumi, M., Chow, T. J., & Patterson, C. (1969). Chemical concentrations of pollutant lead aerosols, terrestrial dusts and sea salts in Greenland and Antarctic snow strata. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 33(10), 1247-1294.
- Mussali-Galante, P., Tovar-Sánchez, E., Valverde, M., & Rojas, C. E. (2013). Biomarkers of exposure for assessing environmental metal pollution: from molecules to ecosystems. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 29(1), 117-140.

## N

- Nacci, D., Serbst, J., Gleason, T. R., Cayula, S., Thursby, G., Munns Jr, W. R., & Johnston, R. K. (2000). Biological responses of the sea urchin, *Arbacia punctulata*, to lead contamination for an estuarine ecological risk assessment. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, 7(3), 187-199.
- Naimo, T. J. (1995). A review of the effects of heavy metals on freshwater mussels. *Ecotoxicology*, 4(6), 341-362.
- Nappi, A. J., & Ottaviani, E. (2000). Cytotoxicity and cytotoxic molecules in invertebrates. *Bioessays*, 22(5), 469-480.
- Nappi, A. J., & Vass, E. (1993). Melanogenesis and the generation of cytotoxic molecules during insect cellular immune reactions. *Pigment Cell Research*, 6(3), 117-126.
- Nappi, A.J. y Vass, E. (2000). *Cytotoxic reactions associated with insect immunity: Signaling pathways and killing molecules*. En *Phylogenetic Perspectives on the Vertebrate Immune System*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 329-348.
- Narváez, N., Lodeiros, C., Nusetti, O., Lemus, M. y Maeda, A. (2005). Incorporación, Depuración y efecto del cadmio en el mejillón verde *Perna viridis* (L. 1758) (Mollusca: Bivalvia). *Ciencias Marinas*, 31, 91-102.
- Naser, H. A. (2013). Assessment and management of heavy metal pollution in the marine environment of the Arabian Gulf: A review. *Marine pollution bulletin*, 72(1), 6-13.

- Naz, S., & Javed, M. (2013a). Evaluation of Acute Toxicity of Metals Mixture and Bioaccumulation in Freshwater Fish. *Bioscience Methods*, 4.
- Naz, S., & Javed, M. (2013b). Studies on the toxic effects of lead and nickel mixture on two freshwater fishes, *Ctenopharygon idella* and *Hypothalmichthys molitrix*. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 23(3), 798-804.
- Naz, S., & Javed, M., 2012. Acute toxicity of metals mixtures for fish, *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhina mrigala*. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences* 49(3), 357-361.
- Neff, J. M. Bioaccumulation in marine organisms: Effect of contaminants from oil well produced water. Elsevier Ltd. The Boulevard, Langford Lane Kidlington, Oxford OX5 1GB UK 2002.
- Neff, J. M., Hillman, R. E., Carr, R. S., Buhl, R. L., & Lahey, J. I. (1987). Histopathologic and biochemical responses in arctic marine bivalve molluscs exposed to experimentally spilled oil. *Arctic*, 220-229.
- Negri A, Oliveri C, Sforzini S, Mignione F, Viarengo A, Banni M (2013) Transcriptional Response of the Mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lam.) following Exposure to Heat Stress and Copper. *PLoS ONE* 8(6): e66802.
- Neira, C.D., Castroviejo, R.A., Caamaño J.S., *El Mejillón. Biología, Cultivo y Comercialización*". 1990 Ed. Galicia Editorial. Santiago de Compostela, España
- Nero, V., Farwell, A., Lister, A., Van Der Kraak, G., Lee, LEJ, Van Meer, T., et al., (2006). Gill and liver histopathological changes in yellow perch (*Perca flavescens*) and goldfish (*Carassius auratus*) exposed to oil sands process-affected water. *Ecotoxicol Environ Saf*, 63(3), 365–377,
- Nesto, N., Romano, S., Moschino, V., Mauri, M., & Da Ros, L. (2007). Bioaccumulation and biomarker responses of trace metals and micro-organic pollutants in mussels and fish from the Lagoon of Venice, Italy. *Marine Pollution Bulletin*, 55(10), 469-484.
- Neuberger-Cywiak, L., Achituv, Y., & Garcia, E. M. (2003). Effects of Zinc and Cadmium on the Burrowing Behavior, LC 50, and LT 50 on *Donax trunculus* Linnaeus (Bivalvia-Donacidae). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 70(4), 0713-0722.
- Neuberger-Cywiak, L., Achituv, Y., & Garcia, E. M. (2005). Sublethal effects of Zn<sup>++</sup> and Cd<sup>++</sup> on respiration rate, ammonia excretion, and O: N ratio of *Donax trunculus* (Bivalvia; Donacidae). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 75(3), 505-514.
- Neuberger-Cywiak, L., Achituv, Y., & Garcia, E. M. (2007). Effects of sublethal Zn<sup>++</sup> and Cd<sup>++</sup> concentrations on filtration rate, absorption efficiency and scope for growth in *Donax trunculus* (Bivalvia; Donacidae). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 79(6), 622-627.
- Newell, R. I. E., & Thompson, R. J. (1984). Reduced clearance rates associated with spawning in the mussel, *Mytilus edulis* (L.) (Bivalvia, Mytilidae). *Marine biology letters*, 5(1), 21-33.
- Newman, M.C. & Unger, M.A., 2002. *Fundamentals of Ecotoxicology*, CRC Press, Boca Raton, 458 pp.
- Newton, T. J., Monroe, E. M., Kenyon, R., Gutreuter, S., Welke, K. I., & Thiel, P. A. (2001). Evaluation of relocation of unionid mussels into artificial ponds. *Journal of the North American Benthological Society* 20 (3):468-485.
- Ng, T. Y. T., & Wang, W. X. (2004). Detoxification and effects of Ag, Cd, and Zn pre-exposure on metal uptake kinetics in the clam *Ruditapes philippinarum*. *Marine ecology. Progress series*, 268, 161-172.

- Ni, I. H., Wang, W. X., & Tarn, Y. K. (2000). Transfer of Cd, Cr and Zn from zooplankton prey to mudskipper *Periophthalmus cantonensis* and glassy *Amphiprion* fishes. *Marine Ecology Progress Series*, 194, 203-210.
- Nicholson, S. (2001). Ecocytological and toxicological responses to copper in *Perna viridis* (L.) (Bivalvia: Mytilidae) haemocyte lysosomal membranes. *Chemosphere*, 45(4), 399-407.
- Nicholson, S. (2003). Lysosomal membrane stability, phagocytosis and tolerance to emersion in the mussel *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) following exposure to acute, sublethal, copper. *Chemosphere*, 52(7), 1147-1151.
- Nicholson, S., & Lam, P. K. S. (2005). Pollution monitoring in Southeast Asia using biomarkers in the mytilid mussel *Perna viridis* (Mytilidae: Bivalvia). *Environment International*, 31(1), 121-132.
- Nicolau, A., Mota, M., & Lima, N. (2004). Effect of different toxic compounds on ATP content and acid phosphatase activity in axenic cultures of *Tetrahymena pyriformis*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 57(2), 129-135.
- Niemann, H., Hagenow, J., Chung, M. Y., Hellio, C., Weber, H., & Proksch, P. (2015). SAR of Sponge-Inspired Hemibastadin Congeners Inhibiting Blue Mussel PhenolOxidase. *Marine drugs*, 13(5), 3061-3071.
- Niyogi, S., & Wood, C. M. (2004). Kinetic analyses of waterborne Ca and Cd transport and their interactions in the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and yellow perch (*Perca flavescens*), two species differing greatly in acute waterborne Cd sensitivity. *Journal of Comparative Physiology B*, 174(3), 243-253.
- Nogueira, L. S., Wood, C. M., Gillis, P. L., & Bianchini, A. (2013). Isolation and fractionation of gill cells from freshwater (*Lasmigona costata*) and seawater (*Mesodesma mactroides*) bivalves for use in toxicological studies with copper. *Cytotechnology*, 65(5), 773-783.
- Nolan, C. V., Fowler, S. W., & Teyssie, J. L. (1992). Cobalt speciation and bioavailability in marine organisms. *Marine Ecology-Progress Series*, 88, 105-105.
- Nonnotte, L., Boitel, F., & Truchot, J. P. (1993). Waterborne copper causes gill damage and hemolymph hypoxia in the shore crab *Carcinus maenas*. *Canadian Journal of Zoology*, 71(8), 1569-1576.
- Nordberg GF, Nogawa K, Nordberg M, et al., *Cadmium* In: Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, Friberg LT, eds. *Handbook on the Toxicology of Metals*. New York: Elsevier; 2007: 445-486
- Nordberg, G. F. (2010). Biomarkers of exposure, effects and susceptibility in humans and their application in studies of interactions among metals in China. *Toxicology letters*, 192(1), 45-49.
- Norelys, M. (2011). Histología de los Mejillones *Perna perna* (Linnaeus, 1758) y *Perna viridis* (Linnaeus, 1758) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae). Tesis de Grado. Cumaná. Universidad de Oriente.
- Norwood, W. P., Borgmann, U., & Dixon, D. G. (2007). Interactive effects of metals in mixtures on bioaccumulation in the amphipod *Hyalella azteca*. *Aquatic toxicology*, 84(2), 255-267.
- NOS NCCOS (20014). National Ocean Services, .National Oceanic and Atmospheric Administration, 5: 19-167.
- Novais, S. C., Gomes, S. I., Gravato, C., Guilhermino, L., De Coen, W., Soares, A. M., & Amorim, M. J. (2011). Reproduction and biochemical responses in *Enchytraeus albidus* (Oligochaeta) to zinc or cadmium exposures. *Environmental Pollution*, 159(7), 1836-1843.

- Novás Maseda, A. (2005). Estudio de la respuesta inmune en hemocitos en "*Mytilus galloprovincialis*" Lmk. (Tesis Doctoral). Universidad de Santiago de Compostela Lugo.
- Novelli Filho, J. L. V., Novelli, E. L., Manzano, M. A., Lopes, A. M., Cataneo, A. C., Barbosa, L. L., & Ribas, B. O. (2000). Effect of alpha-tocopherol on superoxide radical and toxicity of cadmium exposure. *International Journal of Environmental Health Research*, 10(2), 125-134.
- Novelli, A.A., Losso, C., Ghetti, P.F., Ghirardini, A.M., 2003. Toxicity of heavy metals using sperm cell and embryo toxicity bioassays with *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea): comparisons with exposure concentrations in the lagoon of Venice, Italy. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 1295–1301.
- NRC (1987). Committee on biological Markers of the National Research Council. Biological markers in environmental health research. *Environmental Health Perspectives*, 74, 3-9.
- NRC (1989). Biological markers in reproductive toxicology. National Research Council. Washington, DC. National Academy Press, 420 pp.
- NTP (2011). *Cadmium and cadmium compounds*. National Toxicology Program Report on Carcinogenesis. 12th ed. Research Triangle Park, NC: NTP 201:80-83.
- Nugroho, A. P., & Frank, H. (2011). Uptake, distribution, and bioaccumulation of copper in the freshwater mussel *Anodonta anatina*. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 93(9), 1838-1850.
- Nugroho, A. P., & Frank, H. (2012a). Effects of copper on lipid peroxidation, glutathione, metallothionein, and antioxidative enzymes in the freshwater mussel *Anodonta anatina*. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 94(5), 918-929.
- Nugroho, A. P., & Frank, H. (2012b). Effects of copper exposure on calcium, carbohydrate, and protein levels in the freshwater mussel *Anodonta anatina*. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 94(1), 99-108.

## O

- O'Connor, T. P. (2004). The sediment quality guideline, ERL, is not a chemical concentration at the threshold of sediment toxicity. *Marine pollution bulletin*, 49(5), 383-385.
- O'Connor, T. P. (2002). National distribution of chemical concentrations in mussels and oysters in the USA. *Marine Environmental Research*, 53(2), 117-143.
- Okbah, M.A., Nasr, S.M., & Kasem, S.M., (2011). Fractionation of trace metals (Mn, Zn, Cu, Pb) in Red Sea sediments, Gulf of Aden, Yemen. *Chemistry and Ecology*, 27(1), 81–90.
- Ólafsdóttir, K., Petersen, A. E. Magnúsdóttir, E. V., Björnsson, T., & Jóhannesson, T. (2005). Temporal trends of organochlorine contamination in Black Guillemots in Iceland from 1976 to 1996. *Environmental pollution*, 133(3), 509-515.
- OMS (1993). Organización Mundial de la Salud. Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series No 837, Geneva.
- OMS (2003). Organización Mundial de la Salud. Copper in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Disponible en: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/chemicals/copper.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/copper.pdf) [acceso: 21-3-12].

- OMS (2011). Organización Mundial de la Salud. Evaluation of certain food additives and contaminants. Seventy-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series No 960, Geneva.
- ONU, (1982) Division for Ocean affairs and the law of the sea. Convention on the Law of the sea: 10 December 1982, (Last updated 22 august 2013)  
[http://www.un.org/Depts/los/convention\\_agreements/convention\\_overview\\_convention.htm](http://www.un.org/Depts/los/convention_agreements/convention_overview_convention.htm)
- Orban, E., Di Lena, G., Navigato, T., Casini, I., Marzetti, A., & Caproni, R. (2002). Seasonal changes in meat content, condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different Italian sites. *Food Chemistry*, 77(1), 57-65.
- Orden AAA/705/2014, de 28 de abril, por la que se crean los Comités de Seguimiento de las estrategias marinas y se regula su composición, funciones y régimen de funcionamiento. *Boletín Oficial del Estado*, 3 de mayo de 2014, núm. 108, pp 34510-34513.
- Orden PRE/375/2003, de 24 de febrero, por la que se modifica el anexo I del Real Decreto 1406/1989, de 10 de noviembre, por el que se imponen limitaciones a la comercialización y al uso de ciertas sustancias y preparados peligrosos (compuestos organoestánicos). *Boletín Oficial del Estado*, 25 de febrero de 2003, núm. 48, pp 7585-7586.
- Orren, M. J., Eagle, G. A., Hennig, H. K., & Green, A. (1980). Variations in trace metal content of the mussel *Choromytilus meridionalis* (Kr.) with season and sex. *Marine Pollution Bulletin*, 11(9), 253-257.
- Orrenius, S., McConkey, D. J., Bellomo, G., & Nicotera, P. (1989). Role of Ca<sup>+2</sup> in toxic cell killing. *Trends in Pharmacological Sciences*, 10(7), 281-285.
- Osca, D., Irisarri, I., Todt, C., Grande, C., & Zardoya, R. (2014). The complete mitochondrial genome of *Scutopus ventrolineatus* (Mollusca: Chaetodermomorpha) supports the Aculifera hypothesis. *BMC evolutionary biology*, 14(1), 197.
- OSPAR, 2004a. Strategy for a Joint Assessment and Monitoring Programme (JAMP). OSPAR Commission, reference number 2004-17-E.
- OSPAR, 2004b. Coordinated Environmental Monitoring Programme (CEMP). OSPAR Commission, reference number 2004-16-E.
- Otitoloju, A. A. (2002). Evaluation of the joint-action toxicity of binary mixtures of heavy metals against the mangrove periwinkle *Tympanotonus fuscatus* var. *radula* (L.). *Ecotoxicology and Environmental safety*, 53(3), 404-415.
- Ozlem, S., Görkem, Y., (2004). Determination of trace metal levels in *Mytilus galloprovincialis* collected from Izmir bay, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 14 (9), 777-782.

## P

- Pacyna, J. M., & Pacyna, E. G. (2001). An assessment of global and regional emissions of trace metals to the atmosphere from anthropogenic sources worldwide. *Environmental Reviews*, 9(4), 269-298.
- Pain, D. J. (1995). Lead in the environment. In: Handbook of Ecotoxicology. Hoffman DJ, Rattner EA, Burton GA, Cairns J (Eds) Lewis Publishers, USA A CRC Press Inc., 356-391.

- Pain, D. J., & Rattner, B. A. (1988). Mortality and hematology associated with the ingestion of one number four lead shot in black ducks, *Anas rubripes*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 40(2), 159-164.
- Palacios, Z. J. (2008). Histopatología de branquias y hepatopáncreas del mejillón verde *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) expuesto a dosis dubletales de mercurio. (Tesis de grado) Cumaná. Universidad de Oriente.
- Palais, F., Dedourge-Geffard, O., Beaudon, A., Pain-Devin, S., Trapp, J., Geffard, O.,... & Geffard, A. (2012). One-year monitoring of core biomarker and digestive enzyme responses in transplanted zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). *Ecotoxicology*, 21(3), 888-905.
- Palais, F., Mouneyrac, C., Dedourge-Geffard, O., Giambérini, L., Biagianti-Risbourg, S., & Geffard, A. (2011). One-year monitoring of reproductive and energy reserve cycles in transplanted zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). *Chemosphere*, 83(8), 1062-1073.
- Pampanin, D. M., Marangon, I., Volpato, E., Campesan, G., & Nasci, C. (2005). Stress biomarkers and alkali-labile phosphate level in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) collected in the urban area of Venice (Venice Lagoon, Italy). *Environmental Pollution*, 136(1), 103-107.
- Pan, K., & Wang, W. X. (2008). The subcellular fate of cadmium and zinc in the scallop *Chlamys nobilis* during waterborne and dietary metal exposure. *Aquatic toxicology*, 90(4), 253-260.
- Pan, K., & Wang, W.X., 2012. Trace metal contamination in estuarine and coastal environments in China. *Science of the Total Environment* 421, 3–16.
- Parry, H. E., & Pipe, R. K. (2004). Interactive effects of temperature and copper on immunocompetence and disease susceptibility in mussels (*Mytilus edulis*). *Aquatic toxicology*, 69(4), 311-325.
- Passi, S., Cataudella, S., Di Marco, P., De Simone, F., & Rastrelli, L. (2002). Fatty acid composition and antioxidant levels in muscle tissue of different Mediterranean marine species of fish and shellfish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25), 7314-7322.
- Patrick, L. (2006a). Lead toxicity, a review of the literature. Part 1: Exposure, evaluation, and treatment. *Alternative Medicine Review: a journal of clinical therapeutic*, 11(1), 2-22.
- Patrick, L. (2006b). Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Alternative Medicine Review: a journal of clinical therapeutic*, 11(2):114-27
- Pattee, O. H., Wiemeyer, S. N., Mulhern, B. M., Sileo, L., & Carpenter, J. W. (1981). Experimental lead-shot poisoning in bald eagles. *The Journal of Wildlife Management*, 806-810.
- Paul, R. J., & Pirow, R. (1998). The physiological significance of respiratory proteins in invertebrates. *Zoology*, 100(4), 298-306.
- Pavanello S., Clonfero E. (2000). Biological indicators of genotoxic risk and metabolic polymorphisms. *Mutation Research/reviews in mutation research*, 463(2), 285-308.
- Pavičić, J., Škrebliin, M., Kregar, I., Tušek-Žnidarič, M., & Stegnart, P. (1994a). Embryo-larval tolerance of *Mytilus galloprovincialis*, exposed to the elevated sea water metal concentrations—I. Toxic effects of Cd, Zn and Hg in relation to the metallothionein level. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 107(2), 249-257.

- Pavičić, J., Smodiš, B., Škreblin, M., Kregar, I., & Stegnar, P. (1994b). Embryo-larval tolerance of *Mytilus galloprovincialis*, exposed to elevated seawater metal concentrations—II. Stage-specific fluctuations in sensitivity toward Zn and Cd and their bioaccumulation into veliger larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 109(1), 37-46.
- Peakall, D.B. (1994). The role of biomarkers in environmental assessment. *Ecotoxicology*, 3(3), 157-160.
- Perceval, O., Couillard, Y., Pinel-Alloul, B., Giguère, A., Campbell, P.G., (2004). Metal-induced stress in bivalves living along a gradient of Cd contamination: relating sub-cellular metal distribution to population-level responses. *Aquatic Toxicology*, 69(4), 327-345.
- Perera, F. P. & Weinstein, I. B. (2000). Molecular epidemiology: recent advances and future directions. *Carcinogenesis* 21(3), 517-524.
- Perera, F. P. (1996). Molecular epidemiology: insights into cancer susceptibility. Risk assess prevention. *Journal of the National Cancer Institute*, 88(8), 496-509.
- Pérez-Camacho, A., & González, R. (1984). La filtración del mejillón (*Mytilus edulis* L.) en laboratorio. *Actas do Primeiro Seminario de Ciencias do Mar as Rías Galegas. Cuadernos de Area de Ciencias Marinas. Seminario de Estudos Galegos, 1*, 427-437.
- Peterson, C.H., Rice, S.D., Short, J.W., Elser, D., Bodkin, J.L., Ballachey, B.E., & Irons, D.B. (2003). Long-term ecosystem response to the Exxon Valdez oil spill. *Science* 302(5653), 2082-2086.
- Phillips, B.M., Nicely, P.A., Hunt, J.W., Anderson, B.S., Tjeerdema, R.S., Palmer, S.E., et al., (2003). Toxicity of cadmium-copper-nickel-zinc mixtures to larval purple sea urchins. (*Strongylocentrotus purpuratus*). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 70(3), 0592-0599.
- Phillips, D. J. (1977). The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments—a review. *Environmental Pollution (1970)*, 13(4), 281-317.
- Phillips, D. J. (1980b). *Quantitative aquatic biological indicators*. Applied Science Publishers.
- Phillips, D. J. H. (1976). The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. I. Effects of environmental variables on uptake of metals. *Marine Biology*, 38(1), 59-69.
- Phillips, D. J. H. (1980a) Toxicity and accumulation of cadmium in marine and estuarine biota. In: Nriagu, J. O. (Ed) *Cadmium in the environment*. John Wiley and Sons, New York, pp 425-569
- Pichaud, N., Pellerin, J., Fournier, M., Gauthier-Clerc, S., Rioux, P., & Pelletier, É. (2008). Oxidative stress and immunologic responses following a dietary exposure to PAHs in *Mya arenaria*. *Chemistry Central Journal*, 2(1), 23.
- Pillay, K. (2013, April). Mucus Secretion Responses to Various Sublethal Copper (II) Concentrations in the Mussel *Perna perna*. In *Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology* (No. 76, p. 867). World Academy of Science, Engineering and Technology (WASET).
- Pinto, A. L., Varandas, S., Coimbra, A. M., Carrola, J., & Fontainhas-Fernandes, A. (2010). Mullet and gudgeon liver histopathology and macroinvertebrate indexes and metrics upstream and downstream from a wastewater treatment plant (Febros River—Portugal). *Environmental monitoring and assessment*, 169(1-4), 569-585.

- Piola, R. F., & Johnston, E. L. (2006). Differential resistance to extended copper exposure in four introduced bryozoans. *Marine Ecology Progress Series*, 311, 103-114.
- Pipe, R. K., Coles, J. A., Carissan, F. M. M., & Ramanathan, K. (1999). Copper induced immunomodulation in the marine mussel, *Mytilus edulis*. *Aquatic toxicology*, 46(1), 43-54.
- Pitcher, T. J., & Cheung, W. W. (2013). Fisheries: Hope or despair? *Marine pollution bulletin*, 74(2), 506-516.
- Planchon, F. A., Boutron, C. F., Barbante, C., Cozzi, G., Gaspari, V., Wolff, E. W., Ferrari, C.P., Cescon, P. (2002). Changes in heavy metals in Antarctic snow from Coats Land since the mid-19th to the late-20th century. *Earth and Planetary Science Letters*, 200(1), 207-222.
- Playle, R. C. (2004). Using multiple metal–gill binding models and the toxic unit concept to help reconcile multiple-metal toxicity results. *Aquatic Toxicology*, 67(4), 359-370.
- Pond WG, Church DC, Pond KR, Schoknecht PA, (2005), Micro- (trace) mineral elements. *In: Basic animal nutrition and feeding. John Wille and Sons. Inc. New York, USA. 5th ed., pp. 185–216.*
- Ponder, W.F., Lindberg, D.R.: *Phylogeny and Evolution of the Mollusca*. Univ. California Press, California; 2008.
- Popham, J. D., & D'Auria, J. M. (1982). Effects of season and seawater concentrations on trace metal concentrations in organs of *Mytilus edulis*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 11(3), 273-282.
- Popovic, D., Bozic, T., Stevanovic, J., Frontasyeva, M., Todorovic, D., Ajtic, J., & Jokic, V. S. (2010). Concentration of trace elements in blood and feed of homebred animals in Southern Serbia. *Environmental Science and Pollution Research*, 17(5), 1119-1128.
- Postel, U., Petrausch, G., Riestenpatt, S., Weihrauch, D., Malykh, J., Becker, W., & Siebers, D. (1998). Inhibition of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase and of active ion-transport functions in the gills of the shore crab *Carcinus maenas* induced by cadmium. *Marine biology*, 130(3), 407-416.
- Poté, J., Haller, L., Loizeau, J., Bravo, A.G., Sastre, V., & Wildi, W. (2008). Effects of a sewage treatment plant outlet pipe extension on the distribution of contaminants in the sediments of the Bay of Vidy, Lake Geneva, Switzerland. *Bioresource Technology*, 99(15), 7122-7131.
- Pourang, N., & Amini, G. (2001). Distribution of trace elements in tissues of two shrimp species from Persian Gulf and effects of storage temperature on elements transportation. *Water, Air, and Soil Pollution*, 129(1-4), 229-243.
- Pourang, N., & Dennis, J. H. (2005). Distribution of trace elements in tissues of two shrimp species from the Persian Gulf and roles of metallothionein in their redistribution. *Environment international*, 31(3), 325-341.
- Pourang, N., Dennis, J. H., & Ghourchian, H. (2004). Tissue distribution and redistribution of trace elements in shrimp species with the emphasis on the roles of metallothionein. *Ecotoxicology*, 13(6), 519-533.
- Pourang, N., Dennis, J. H., & Ghourchian, H. (2005). Distribution of heavy metals in *Penaeus semisulcatus* from Persian Gulf and possible role of metallothionein in their redistribution during storage. *Environmental monitoring and assessment*, 100(1-3), 71-88.



- Povinec, P. P., Gera, M., Holý, K., Hirose, K., Lujanienė, G., Nakano, M., et al., (2013). Dispersion of Fukushima radionuclides in the global atmosphere and the ocean. *Applied Radiation and Isotopes*, 81, 383-392.
- Powell, S.R., 2000. The antioxidant properties of zinc. *The Journal of nutrition*, 130(5), 1447S\_1454S.
- Prakash, N. T., & Rao, K. J. (1995). Modulations in antioxidant enzymes in different tissues of marine bivalve *Perna viridis* during heavy metal exposure. *Molecular and cellular biochemistry*, 146(2), 107-113.
- Prato, E., & Biandolino, F. (2007). Combined toxicity of mercury, copper and cadmium on embryogenesis and early larval stages of the *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental technology*, 28(8), 915-920.
- Prato, E., Biandolino, F., & Scardicchio, C. (2006). Test for acute toxicity of copper, cadmium, and mercury in five marine species. *Turkish Journal of Zoology*, 30(3), 285-290.
- Prchalová, M., Kubečka, J., Říha, M., Čech, M., Jůza, T., Ketelaars, H. A., et al., (2013). Eel attacks—a new tool for assessing European eel (*Anguilla anguilla*) abundance and distribution patterns with gillnet sampling. *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters*, 43(3), 194-202.
- Preston, S., Coad, N., Townend, J., Killham, K., & Paton, G. I. (2000). Biosensing the acute toxicity of metal interactions: are they additive, synergistic, or antagonistic? *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(3), 775-780.
- Price, N. M., & Morel, F. M. M., (1990). Cadmium and cobalt substitution for zinc in a marine diatom. *Nature*, 344(6267), 658-660.
- Priya, S. L., Senthilkumar, B., Hariharan, G., Selvam, A. P., Purvaja, R., & Ramesh, R. (2011). Bioaccumulation of heavy metals in mullet (*Mugil cephalus*) and oyster (*Crassostrea madrasensis*) from Pulicat lake, south east coast of India. *Toxicology and industrial health*, 27(2), 117-126.
- Prozialeck, W. C., & Edwards, J. R. (2010). Early biomarkers of cadmium exposure and nephrotoxicity. *Biometals*, 23(5), 793-809.
- Przytarska, J. E., Sokołowski, A., Wołowicz, M., Hummel, H., & Jansen, J. (2010). Comparison of trace metal bioavailabilities in European coastal waters using mussels from *Mytilus edulis* complex as biomonitors. *Environmental monitoring and assessment*, 166(1-4), 461-476.
- Pyatt, F. B., Pyatt, A. J., Walter, C., Sheen, T., & Grattan, J. P. (2005). The heavy metal content of skeletons from an ancient metalliferous polluted area in Southern Jordan with particular reference to bioaccumulation and human health. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 60(3), 295-300.
- Pyle, G. G., Rajotte, J. W., & Couture, P. (2005). Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. *Ecotoxicology and environmental safety*, 61(3), 287-312.
- Pytharopoulou, S., Grintzalis, K., Sazakli, E., Leotsinidis, M., Georgiou, C. D., & Kalpaxis, D. L. (2011). Translational responses and oxidative stress of mussels experimentally exposed to Hg, Cu and Cd: one pattern does not fit at all. *Aquatic Toxicology*, 105(1), 157-165.
- Pytharopoulou, S., Kournoutou, G. G., Leotsinidis, M., Georgiou, C. D., & Kalpaxis, D. L. (2013). Cadmium versus copper toxicity: Insights from an integrated dissection of protein synthesis pathway in the digestive glands of mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Journal of hazardous materials*, 260, 263-271.

## Q

- Qiao, S., Yang, Z., Pan, Y., Guo, Z. (2007). Metals in suspended sediments from the Changjiang (Yangtze River) and Huanghe (Yellow River) to the sea, and their comparison. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 74(3), 539-548.
- Qiu, J. W., Xie, Z. C., & Wang, W. X. (2005). Effects of calcium on the uptake and elimination of cadmium and zinc in Asiatic clams. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48(2), 278-287.

## R

- Radenac, G., Fichet, D., & Miramand, P., (2001). Bioaccumulation and toxicity of four dissolved metals in *Paracentrotus lividus* sea-urchin embryo. *Marine Environmental Research*, 51(2), 151–166.
- Raftopoulou, E. K., & Dimitriadis, V. K. (2011). Comparative study of the accumulation and detoxification of Cu (essential metal) and Hg (nonessential metal) in the digestive gland and gills of mussels *Mytilus galloprovincialis*, using analytical and histochemical techniques. *Chemosphere*, 83(8), 1155-1165.
- Rahnama, R., Javanshir, A., & Mashinchian, A. (2011). The effect of lead bioaccumulation on condition indices of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) from Anzali wetland-Caspian Sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11, 561-568.
- Rainbow, P. S., & Black, W. H. (2005). Cadmium, zinc and the uptake of calcium by two crabs, *Carcinus maenas* and *Eriocheir sinensis*. *Aquatic toxicology*, 72(1), 45-65.
- Rainbow, P. S., & Phillips, D. J. H. (1993). Cosmopolitan biomonitors of trace metals. *Marine Pollution Bulletin* 26(11): 593-601.
- Rainbow, P.S. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution* 120(3), 497-507.
- Rainbow, P.S. (2007). Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. *Environment International* 33(4), 576–582.
- Rainbow, P.S., Amiard-Triquet, C., Amiard, J.C., Smith, B.D., & Langston, W.J. (2000). Observations on the interaction of zinc and cadmium uptake rates in crustaceans (amphipods and crabs) from coastal sites in UK and France differentially enriched with trace metals. *Aquatic Toxicology*, 50(3), 189–204.
- Rainbow, P.S., Luoma, S.N. (2011). Metal toxicity, uptake and bioaccumulation in aquatic invertebrates- modelling zinc in crustaceans. *Aquatic Toxicology* 105(3), 455–465.
- Rajalakshmi, S., & Mohandas, A. (2005). Copper-induced changes in tissue enzyme activity in a freshwater mussel. *Ecotoxicology and environmental safety*, 62(1), 140-143.
- Rajkumar, J. S. I. (2013). Reduced glutathione and acetylcholinesterase expressions in *Perna indica* exposed to trivalent arsenic. *International Journal of Biological Research*, 1(1), 1-4.
- Rajkumar, J. S. I., & Milton, M. J. (2011). Biochemical changes induced by cadmium, copper, lead and zinc exposure to *Perna viridis* under longterm toxicity test. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(83), 50-59.

- Rajkumar, J. S. I., Milton, M. J., & Rita, J. A. (2011). Long-term effects of cadmium, copper, lead and zinc exposure on the growth of juvenile green mussel (*Perna viridis*). *International Journal of Recent Scientific Research*, 2(5), 132-135.
- Ramírez-Llodra, E., Tyler, P. A., Baker, M. C., Bergstad, O. A., Clark, M. R., Escobar, E., et al., (2011). Man and the last great wilderness: human impact on the deep sea. *PLoS One*, 6(8), e22588.
- Ramsak, A., Scancar, J., & Horvat, M. (2012). Evaluation of Metallothioneins in Blue Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) as a Biomarker of Mercury and Cadmium Exposure in the Slovenian waters (Gulf of Trieste): A Long-term Field Study. *Acta Adriatica*, 53(1), 71-85.
- Rand, G. M., & Petrocelli, S. R. (1985). Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications. Capítulo 13, 374-415, In Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications. Hemisphere Publishing, New York.
- Ravera, O., Cenci, R., Beone, G. M., Dantas, M., & Loadigiani, P. (2003). Trace element concentrations in freshwater mussels and macrophytes as related to those in their environment. *Journal of Limnology*, 62(1), 61-70.
- Ray, S. (1984). Bioaccumulation of cadmium in marine organisms. *Experientia*, 40(1), 14-23.
- Real Decreto 106/2008, de 1 de febrero, sobre pilas y acumuladores y la gestión ambiental de sus residuos *Boletín Oficial del Estado* de 12 de febrero de 2008, núm. 37, pp. 7399-7410.
- Real Decreto 1383/2002, de 20 de diciembre, sobre gestión de vehículos al final de su vida útil. *Boletín Oficial del Estado* de 3 de enero de 2003, núm. 3, pp. 185-191.
- Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. *Boletín Oficial del Estado* de 8 de febrero de 2013, núm. 34, pp. 11370-11421.
- Real Decreto 581/2001, de 1 de junio, por el que en determinadas zonas húmedas se prohíbe la tenencia y el uso de municiones que contengan plomo para el ejercicio de la caza y el tiro deportivo. *Boletín Oficial del Estado*, 15 de junio de 2001, núm. 143, pp. 21284-21285.
- Real Decreto 60/2011, de 21 de enero, sobre las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas. *Boletín Oficial del Estado*, 22 de enero de 2011, núm. 19, pp. 6854-6870.
- Real Decreto 785/2001, de 6 de julio, por el que se adelanta la prohibición de comercialización de las gasolinas con plomo y se establecen las especificaciones de las gasolinas que sustituirán a aquéllas. *Boletín Oficial del Estado*, 7 de julio de 2001, núm. 162, pp. 24775-24776 (HOY DEROGADO POR RD 1700/2003 de 15 de diciembre)
- Real Decreto 715/2012 de 200 de abril, por el que se crea la Comisión Interministerial de Estrategias Marinas. *Boletín Oficial del Estado*, 11 de mayo de 2012, núm. 113, pp. 35071-35072.
- Reboreda, R., & Davies, M. S. (2006). Characterisation by X-ray microanalysis of metal granules in the mucus trails of *Littorina littorea* (Gastropoda) along a putative pollution gradient. *Ecotoxicology*, 15(5), 403-410.
- Redpath, K. J., & Davenport, J. (1988). The effect of copper, zinc and cadmium on the pumping rate of *Mytilus edulis* L. *Aquatic Toxicology*, 13(3), 217-225.
- Reglamento (CE) no 440/2008 de la Comisión de 30 de mayo de 2008 por el que se establecen métodos de ensayo de acuerdo con el Reglamento (CE) no 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo

- relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH) *Diario Oficial de la Unión Europea* L 142, 31 de mayo de 2008, pp 1-739.
- Reglamento (UE) no 1881/2006 de la Comisión de 19 de diciembre de 2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea* L 364, 20 de diciembre de 2006, pp 5-24.
- Regoli F, Nigro M, & Orlando E. (1998). Lysosomal and antioxidant responses to metals in the Antarctic scallop *Adamussium colbecki*. *Aquatic Toxicology*, 40(4): 375-392.
- Regoli, F. (1998). Trace metals and antioxidant enzymes in gills and digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34(1), 48-63.
- Regoli, F., & Principato, G. (1995). Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 31(2), 143-164.
- Reish, D. L., & Oshida, P. S. (1987). *Manual of methods in aquatic environment research, Part 10: short-term static bioassays* (No. 247). Food & Agriculture Organization.
- Renella, G., Ortigoza, A. L. R., Landi, L. & Nannipieri, P. (2003). Additive effects of copper and zinc on cadmium toxicity to phosphatase activities and ATP content of soil as estimated by the ecological dose (ED50). *Soil Biology Biochemistry*, 35(9), 1203-1210.
- Repetto M, Repetto G. "Toxicología fundamental". Díaz de Santos. 4ª Ed. 2009. Trimbell, J. "Introduction to Toxicology" (3rd ed.). Taylor and Francis, 2001.
- Reyes, J. (2014). Toxicidad y bioacumulación del plomo en *Macrobrachium americanum*. (Tesis de Grado). Guasave, Sinaloa; México: Instituto Politécnico Nacional CIICIR-IPN.
- Reyes, M. L. D. C. L. (1995). *Mussels as indicators of Cadmium and Lead in the marine environment* (Doctoral dissertation, University of British Columbia).
- Ribeiro, A. M., Risso, W. E., Fernandes, M. N., & Martínez, C. B. (2014). Lead accumulation and its effects on the branchial physiology of *Prochilodus lineatus*. *Fish physiology and biochemistry*, 40(3), 645-657.
- Ribeiro, M. G. L., Pedrenho, A. R., & Hasson-Voloch, A., (2002). Electrocyte (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>)-ATPase inhibition induced by zinc is reverted by dithiothreitol. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 34(5), 516-524.
- Ribelin, B.W., & Collier, A. (1977). Studies on the gill ciliation of the American oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin) *Journal of Morphology*, 151(3), 439-450
- Richir, J. *Coastal pollution of the Mediterranean and extension of its biomonitoring to trace elements of emerging concern* (dissertation). Liège: Laboratory of Oceanology Department of Environmental Sciences and Management, Faculty of Sciences, University of Liège; 2012
- Richir, J., & Gobert, S. (2014). The effect of size, weight, body compartment, sex and reproductive status on the bioaccumulation of 19 trace elements in rope-grown *Mytilus galloprovincialis*. *Ecological Indicators*, 36, 33-47.
- Riget, F., Bignert, A., Braune, B., Stow, J. & Wilson, S. (2010). Temporal trends of legacy POPs in Arctic biota, an update. *Science of the Total Environment*, 408 (15), 2874-2884.

- Riisgård, H. U., & Larsen, P. S. (1995). Filter-feeding in marine macro-invertebrates: pump characteristics, modelling and energy cost. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 70(1), 67-106.
- Riisgård, H. U., & Larsen, P. S. (2010). Particle capture mechanisms in suspension-feeding invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, 418, 255-293.
- Riisgård, H. U., Larsen, P. S., & Pleissner, D. (2014). Allometric equations for maximum filtration rate in blue mussels *Mytilus edulis* and importance of condition index. *Helgoland Marine Research*, 68(1), 193-198.
- RINBIO, 2001. Evaluation de la qualité des eaux basée sur l'utilisation de stations artificielles de moules en Méditerranée: résultats de la campagne 2000. Ifremer et Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable. 94 pp.
- Ritz, D. A., Swain, R., & Elliott, N. G. (1982). Use of the mussel *Mytilus edulis planulatus* (Lamarck) in monitoring heavy metal levels in seawater. *Marine and Freshwater Research*, 33(3), 491-506.
- Rivero, Á. F. (2006). Enciclopedia de los alimentos: productos del mar y de las aguas continentales (II). *Distribución y consumo*, 16(85), 121-143.
- Roccheri, M.C., Matranga, V. Cellular, biochemical and molecular effects of cadmium on marine invertebrates: focus on *Paracentrotus lividus* sea urchin development G. Parvau Reini (Ed.), *Cadmium in the Environment*, Nova Science Publishers Inc., New York (2010), pp. 337-366
- Rodrigues, A. P., Oliva-Teles, T., Mesquita, S. R., Delerue-Matos, C., & Guimarães, L. (2014). Integrated biomarker responses of an estuarine invertebrate to high abiotic stress and decreased metal contamination. *Marine environmental research*, 101, 101-114.
- Rodrigues, E. T., & Pardal, M. Â. (2014). The crab *Carcinus maenas* as a suitable experimental model in ecotoxicology. *Environment international*, 70, 158-182.
- Rodríguez de la Rúa, A., Arellano, J. M., González de Canales, M. L., Blasco, J., & Sarasquete, C. (2005). Acumulación de cobre y alteraciones histopatológicas en el ostión *Crassostrea angulata*. *Ciencias Marinas*, 31(3), 455-466.
- Rodríguez, J. P., Rodríguez-Clark, K. M., Baillie, J. E., Ash, N., Benson, J., Boucher, T., et al., (2011). Definición de Categorías de UICN para Ecosistemas Amenazados. *Conservation Biology*, 25, 21-29.
- Rodríguez, W.D. Metalotioneínas y metales pesados en el guacuco *Tivela mactroides* (Born, 1778) (Bivalvia), colectado en playa Caicara, estado Anzoátegui, Venezuela (Trabajo de grado). Cumaná: Departamento de Biología, Universidad de Oriente; 2010
- Roesijadi, G. y Robinson W. E., 1994. Metal regulation in aquatic animals: mechanisms of uptake, accumulation, and release. Chapter 9. En Malins D. C. y Ostrander G. K., *Aquatic Toxicology: molecular, biochemical, and cellular perspectives*. Editorial Lewis Publisher, 387-420.
- Roesijadi, G., & Unger, M. E. (1993). Cadmium uptake in gills of the mollusc *Crassostrea virginica* and inhibition by calcium channel blockers. *Aquatic toxicology*, 24(3), 195-205.
- Roesijadi, G., Fellingham, G.W., (1987). Influence of Cu, Cd, and Zn preexposure on Hg toxicity in the mussel *Mytilus edulis*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 44, 680-684.

- Roesijadi, G., Young, J. S., Drum, A. S., & Gurtisen, J. M. (1984). Behavior of trace metals in *Mytilus edulis* during a reciprocal transplant field experiment. *Marine ecology. Progress series*, 18(1-2), 155-170.
- Rogers, A. D., & Laffoley, D. (2013). Introduction to the special issue: The global state of the ocean; interactions between stresses, impacts and some potential solutions. Synthesis papers from the International Programme on the State of the Ocean 2011 and 2012 workshops. *Marine pollution bulletin*, 74(2), 491.
- Rogers, J. T., & Wood, C. M. (2004). Characterization of branchial lead-calcium interaction in the freshwater rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of experimental biology*, 207(5), 813-825.
- Rogers, J. T., Patel, M., Gilmour, K. M., & Wood, C. M. (2005). Mechanisms behind Pb-induced disruption of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> balance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 289(2), R463-R472.
- Rogers, J. T., Richards, J. G., & Wood, C. M. (2003). Ionoregulatory disruption as the acute toxic mechanism for lead in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic toxicology*, 64(2), 215-234.
- Roméo, M., & Gnassia-Barelli, M. (1997). Effect of Heavy Metals on Lipid Peroxidation in the Mediterranean Clam *Ruditapes decussatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 118(1), 33-37.
- Roméo, M., Hoarau, P., Garello, G., Gnassia-Barelli, M., & Girard, J. P. (2003). Mussel transplantation and biomarkers as useful tools for assessing water quality in the NW Mediterranean. *Environmental Pollution*, 122(3), 369-378.
- Romero, J. E. R., Ramírez, J. E. R., Tovar, R. B., Fuenmayor, P. C. O., & Leal, J. C. M. (2014). Contenido de glucógeno e índice de condición de tejido de la almeja estuarina *Polymesoda solida phillippi* 1846 del lago de Maracaibo. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 46(4).
- Rosenberg, G.D. Hughes W.W. (1991). A metabolic model for the determination of shell composition in the bivalve mollusk, *Mytilus edulis*. *Lethaia*, 24 (1991), pp. 83–96
- Roth, J. R., Lawrence, J. G., & Bobik, T. A. (1996). Cobalamin (coenzyme B12): synthesis and biological significance. *Annual Reviews in Microbiology*, 50(1), 137-181.
- Roussiez, V., Ludwig, W., Monaco, A., Probst, J. L., Bouloubassi, I., Buscail, R., & Saragoni, G. (2006). Sources and sinks of sediment-bound contaminants in the Gulf of Lions (NW Mediterranean Sea): a multi-tracer approach. *Continental Shelf Research*, 26(16), 1843-1857.
- Ruangsomboon, S., & Wongrat, L. (2006). Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*Chlorella vulgaris*), zooplankton (*Moina macrocopa*), and the predatory catfish *Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*. *Aquatic Toxicology*, 78(1), 15-20.
- Rubenstein, D. I., & Koehl, M. A. R. (1977). The mechanisms of filter feeding: some theoretical considerations. *American Naturalist*, 981-994.

## S

- Saager, P. M., de Baar, H. J., de Jong, J. T., Nolting, R. F., & Schijf, J. (1997). Hydrography and local sources of dissolved trace metals Mn, Ni, Cu, and Cd in the northeast Atlantic Ocean. *Marine Chemistry*, 57(3), 195-216.
- Sadiq, M. Toxic metal chemistry in marine environments. Marcel Dekker Inc. New York, USA, (1992).
- Sajwan, K. S., Kumar, K. S., Paramasivam, S., Compton, S. S., & Richardson, J. P. (2008). Elemental status in sediment and American oyster collected from Savannah marsh/estuarine ecosystem: A preliminary assessment. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 54(2), 245-258.
- Sakai, T. (2000). Biomarkers of lead exposure. *Industrial health*, 38(2), 127-142.
- Salánki, J., & Hiripi, L. (1990). Effect of heavy metals on the serotonin and dopamine systems in the central nervous system of the freshwater mussel (*Anodonta cygnea* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 95(2), 301-305.
- Salánki, J., & Katalin, V. (1989). Physiological background for using freshwater mussels in monitoring copper and lead pollution. *Hydrobiologia*, 188(1), 445-453.
- Sánchez-Marín, P. (2010). Dissolved organic matter and Pb and Cu bioavailability in the marine environment. A test of free ion based models. (Tesis doctoral dissertation), Universida de de Vigo, Galicia, Spain.
- Sánchez-Marín, P., Bellas, J., Mubiana, V. K., Lorenzo, J. I., Blust, R., & Beiras, R. (2011). Pb uptake by the marine mussel *Mytilus* sp. Interactions with dissolved organic matter. *Aquatic Toxicology*, 102(1), 48-57.
- Sánchez-Marín, P., Lorenzo, J. I., Mubiana, V. K., Blust, R., & Beiras, R. (2012). Copper uptake by the marine mussel *Mytilus edulis* in the presence of fulvic acids. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(8), 1807-1813.
- Sánchez-Marín, P., Santos-Echeandía, J., Nieto-Cid, M., Álvarez-Salgado, X. A., & Beiras, R. (2010). Effect of dissolved organic matter (DOM) of contrasting origins on Cu and Pb speciation and toxicity to *Paracentrotus lividus* larvae. *Aquatic toxicology*, 96(2), 90-102.
- Sandhir, R., Gill, K., (1995). Effect of lead on lipid peroxidation in liver of rats. *Biological trace element research* 48 (1), 91-97.
- Sandrini, J. Z., Lima, J. V., Regoli, F., Fattorini, D., Notti, A., Marins, L. F., & Monserrat, J. M. (2008). Antioxidant responses in the nereidid *Laeonereis acuta* (Annelida, Polychaeta) after cadmium exposure. *Ecotoxicology and environmental safety*, 70(1), 115-120.
- Santiago, S. Contribución a la determinación de la fracción de metales traza ligados a las proteínas similares a las metalotioneínas en muestras de mejillón (Tesis doctoral) Santiago de Compostela: Universidade. Servizo de Publicacións e Intercambio Científico; 2007.
- Santos, D. C. M. D., Matta, S. L. P. D., Oliveira, J. A. D., & Santos, J. A. D. D. (2012). Histological alterations in gills of *Astyanax aff. bimaculatus* caused by acute exposition to zinc. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(7), 861-866.
- Santos, I., Diniz, M. S., Carvalho, M. L., & Santos, J. P. (2014). Assessment of Essential Elements and Heavy Metals Content on *Mytilus galloprovincialis* from River Tagus Estuary. *Biological trace element research*, 159(1-3), 233-240.

- Sarkar, A., Ray, D., Shrivastava, A. N., & Sarker, S. (2006). Molecular biomarkers: their significance and application in marine pollution monitoring. *Ecotoxicology*, 15(4), 333-340.
- Sarma, S. S. S., & Nandini, S. (2006). Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 41(8), 1417-1430.
- Sastry, A.N. (1979). Pelecypoda (excluding Ostreidae). En: Reproduction of Marine invertebrates: Pelecypods and Lesser Classes, A.C. Giese y J.S. Pearse (eds), Academic Press, New York, pp. 113-292.
- Satarug, S., & Moore, M. R. (2004). Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. *Environmental health perspectives*, 112(10), 1099.
- Satyaparameshwar, K., Reddy, T. R., & Kumar, N. V. (2006). Study of carbohydrate metabolism in selected tissues of freshwater mussel, *Lamellidens marginalis* under copper sulphate toxicity. *Change*, 45(50.36), 41-83.
- Saul, S. J., Bin, L., & Sugumaran, M. (1987). The majority of prophenoloxidase in the hemolymph of *Manduca sexta* is present in the plasma and not in the hemocytes. *Developmental & Comparative Immunology*, 11(3), 479-485.
- Sauvé, S., Brousseau, P., Pellerin, J., Morin, Y., Senecal, L., Goudreau, P., & Fournier, M. (2002). Phagocytic activity of marine and freshwater bivalves: in vitro exposure of hemocytes to metals (Ag, Cd, Hg and Zn). *Aquatic toxicology*, 58(3), 189-200.
- Sayre, L. M., Perry, G., Harris, P. L., Liu, Y., Schubert, K. A., & Smith, M. A. (2000). In situ oxidative catalysis by neurofibrillary tangles and senile plaques in Alzheimer's disease. *Journal of neurochemistry*, 74(1), 270-279.
- Scarpato, A., Romanelli, G., Galgani, F., Andral, B., Amici, M., Giordano, P., Caixach, J., Calvo, M., Campillo, J.A., Albaladejo, J.B., Cento, A., BenBrahim, B., Sammari, C., Deudero, S., Boulahdid, M., Giovanardi, F. (2010). Western Mediterranean coastal waters—Monitoring PCBs and pesticides accumulation in *Mytilus galloprovincialis* by active mussel watching: the Mytilos project. *Journal of Environmental Monitoring*, 12(4), 924-935.
- SCF (2003) Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Copper. SCF/CS/NUT/UPPLEV/57 Final. Disponible en: [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out176\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out176_en.pdf) (acceso 8/03/2015).
- Schafer, H. A., Hershelman, G. P., Young, D. R., & Mearns, A. J. (1981). Contaminants in ocean food webs. *Coastal Water Research Project. Biennial Report for the Years, 1982*, 17-28.
- Schmidlin, L., von Fumetti, S., & Nagel, P. (2014). Effects of increased temperatures on *Gammarus fossarum* under the influence of copper sulphate. *Ecotoxicology*, 1-12.
- Schoenmakers, T. J., Klaren, P. H., Flik, G., Lock, R. A., Pang, P. K., & Bonga, S. E. W. (1992). Actions of cadmium on basolateral plasma membrane proteins involved in calcium uptake by fish intestine. *The Journal of membrane biology*, 127(3), 161-172.
- Seed, R. (1976). Ecology. In: Bayne, B. L. (ed.) *Marine mussels: their ecology and physiology*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 13-65
- Seed, R. (1992). Systematics evolution and distribution of mussels belonging to the genus *Mytilus*: an overview. *American Malacological Bulletin*, 9(2), 123-137.



- Serafim, A., Lopes, B., Cravo, A., Gomes, T., Sousa, V., & Bebianno, M. J. (2011). A multi-biomarker approach in cross-transplanted mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Ecotoxicology*, 20(8), 1959-1974.
- Serafim, M. A., Company, R. M., Bebianno, M. J., & Langston, W. J. (2002). Effect of temperature and size on metallothionein synthesis in the gill of *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium. *Marine environmental research*, 54(3), 361-365.
- Serra, R., Isani, G., Tramontano, G., & Carpené, E. (1999). Seasonal dependence of cadmium accumulation and Cd-binding proteins in *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 123(2), 165-174.
- Seshan, B. R. R., Natesan, U., & Deepthi, K. (2012). Geochemical evidence of terrigenous influence in sediments of Buckingham canal, Ennore, Southeast coast of India. *Environmental Earth Sciences*, 66(2), 489-503.
- Shanmugam, P., Neelamani, S., Ahn, Y. H., Philip, L., & Hong, G. H. (2007). Assessment of the levels of coastal marine pollution of Chennai city, Southern India. *Water Resources Management*, 21(7), 1187-1206.
- Sharbidre, A. A., Metkari, V., & Patode, P. (2011). Effect of methyl parathion and chlorpyrifos on certain biomarkers in various tissues of guppy fish, *Poecilia reticulata*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 101(2), 132-141.
- Sharma, S. R., Asokan, P. K., & Sahoo, A. K. (2006). Effect of sub-lethal level of copper and mercury on digestive gland cells and lysosomal enzyme activity in the green mussel (*Perna viridis* L.). *Journal of the Marine Biological Association of India*, 48(2), 245-248.
- Sheir, S. K., & Handy, R. D. (2010). Tissue injury and cellular immune responses to cadmium chloride exposure in the common mussel *Mytilus edulis*: modulation by lipopolysaccharide. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 59(4), 602-613.
- Sheir, S. K., Handy, R. D., & Galloway, T. S. (2010). Tissue injury and cellular immune responses to mercuric chloride exposure in the common mussel *Mytilus edulis*: modulation by lipopolysaccharide. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73(6), 1338-1344.
- Sheir, S. K., Handy, R. D., & Henry, T. B. (2013). Effect of pollution history on immunological responses and organ histology in the marine mussel *Mytilus edulis* exposed to cadmium. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 64(4), 701-716.
- Sherrell, R. M., & Boyle, E. A. (1992). The trace metal composition of suspended particles in the oceanic water column near Bermuda. *Earth and Planetary Science Letters*, 111(1), 155-174.
- Shi, D., & Wang, W. X. (2004). Modification of trace metal accumulation in the green mussel *Perna viridis* by exposure to Ag, Cu, and Zn. *Environmental Pollution*, 132(2), 265-277.
- Shi, D., & Wang, W. X. (2005). Uptake of aqueous and dietary metals by mussel *Perna viridis* with different Cd exposure histories. *Environmental science & technology*, 39(23), 9363-9369.
- Shuhaimi-Othman, M., & Pascoe, D. (2007). Bioconcentration and depuration of copper, cadmium, and zinc mixtures by the freshwater amphipod *Hyaella azteca*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 66(1), 29-35.

- Simkiss, K., Wilbur, K.M., (1989). *Biom mineralization: Cell Biology and Mineral Deposition*. Academic Press, New York.
- Simonich, S.L., & Hites, R.A., (1995). Global distribution of persistent organochlorine compounds. *Science* 269, 1851–1854.
- Simpson, S. L., Yverneau, H., Cremazy, A., Jarolimek, C. V., Price, H. L., & Jolley, D. F. (2012). DGT-induced copper flux predicts bioaccumulation and toxicity to bivalves in sediments with varying properties. *Environmental science & technology*, 46(16), 9038-9046.
- Singer, C., Zimmermann, S., & Sures, B. (2005). Induction of heat shock proteins (hsp70) in the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) following exposure to platinum group metals (platinum, palladium and rhodium): Comparison with lead and cadmium exposures. *Aquatic toxicology*, 75(1), 65-75.
- Sivaperumal, P., Sankar T. V., and P.G. Viswanathan Nair (2007). Heavy metal concentrations in fish, shellfish and fish products from internal markets of India vis-à-vis International standards. *Food Chemistry*. 102 (3), 612–620.
- Sloane, P. I. W., & Norris, R. H. (2003). Relationship of AUSRIVAS-based macroinvertebrate predictive model outputs to a metal pollution gradient. *Journal of the North American Benthological Society*, 22(3), 457-471.
- Slooff, W., de Zwart, D., & Marquenie, J. M. (1983). Detection limits of a biological monitoring system for chemical water pollution based on mussel activity. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 30(1), 400-405.
- Smith, M. A., Harris, P. L., Sayre, L. M., & Perry, G. (1997). Iron accumulation in Alzheimer disease is a source of redox-generated free radicals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(18), 9866-9868.
- Smith, V. J., & Söderhäll, K. (1983). Induction of degranulation and lysis of haemocytes in the freshwater crayfish, *Astacus astacus* by components of the prophenoloxidase activating system in vitro. *Cell and tissue research*, 233(2), 295-303.
- Smith, V. J., & Söderhäll, K. (1991). A comparison of phenoloxidase activity in the blood of marine invertebrates. *Developmental & Comparative Immunology*, 15(4), 251-261.
- Smolders, R., Bervoets, L., & Blust, R. (2002). Transplanted zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) as active biomonitors in an effluent-dominated river. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(9), 1889-1896.
- Smolders, R., Bervoets, L., De Coen, W., & Blust, R. (2004). Cellular energy allocation in zebra mussels exposed along a pollution gradient: linking cellular effects to higher levels of biological organization. *Environmental Pollution*, 129(1), 99-112.
- Sobha, K., Poornima, A., Harini, P., & Veeraiah, K. (2007). A study on biochemical changes in the fresh water fish, *Catla catla* (Hamilton) exposed to the heavy metal toxicant cadmium chloride. *Kathmandu university journal of science, engineering and technology*, 3(2), 1-11.
- Sobrinho Figueroa, A. S. (2001). Efecto de los metales Cd, Cr, Pb y sus mezclas en la almeja Catarina *Argopecten ventricosus* (Sowerby, 1842), (Bivalvia, Pectinidae) (Doctoral dissertation, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.).

- Sobrino-Figueroa, A. S., & Cáceres-Martínez, C. (2014). Evaluation of the effects of the metals Cd, Cr, Pb and their mixture on the filtration and oxygen consumption rates in Catarina scallop, juveniles *Argopecten ventricosus*. *Laboratorio, 1*, 2.
- Söderhäll, K., & Smith, V. J. (1983). Separation of the haemocyte populations of *Carcinus maenas* and other marine decapods, and prophenoloxidase distribution. *Developmental & Comparative Immunology, 7*(2), 229-239.
- Söderhäll, K., & Smith, V. J. (1986). The prophenoloxidase activating system: the biochemistry of its activation and role in arthropod cellular immunity, with special reference to crustaceans. In *Immunity in invertebrates* (pp. 208-223). Springer Berlin Heidelberg.
- Soegianto, A., Charmantier-Daures, M., Trilles, J. P., & Charmantier, G. (1999). Impact of copper on the structure of gills and epipodites of the shrimp *Penaeus japonicus* (Decapoda). *Journal of Crustacean Biology, 19*(2), 209-223.
- Sokolova, I. M., & Lannig, G. (2008). Interactive effects of metal pollution and temperature on metabolism in aquatic ectotherms: implications of global climate change. *Climate research (Open Access for articles 4 years old and older), 37*(2), 181.
- Soldevilla, G. L. (2010). *Metales pesados: aportaciones al estudio de la toxicología de especies y alimentos marinos en las Islas Canarias*. Tesis Doctoral. Universidad de La Laguna.
- Soto, M., Ireland, M. P., & Marigómez, I. (2000). Changes in mussel biometry on exposure to metals: implications in estimation of metal bioavailability in 'Mussel-Watch' programmes. *Science of the total environment, 247*(2), 175-187.
- Soto, M., Marigómez, I., Cancio, I. (2013) Biological aspects of metal accumulation and storage. University of the Basque Country. Bilbo, Basque Country, Spain.  
url:[http://www.ehu.es/europeanclass2003/biological\\_aspects\\_of\\_metal\\_accu.htm](http://www.ehu.es/europeanclass2003/biological_aspects_of_metal_accu.htm).  
Acceso:9/04/2015.
- Spada, L., Annicchiarico, C., Cardellicchio, N., Giandomenico, S., & Di Leo, A. (2013). Heavy metals monitoring in mussels *Mytilus galloprovincialis* from the Apulian coasts (Southern Italy). *Mediterranean Marine Science, 14*(1), 99-108.
- Sparks, C., Odendaal, J., & Snyman, R. (2014). An analysis of historical Mussel Watch Programme data from the west coast of the Cape Peninsula, Cape Town. *Marine pollution bulletin, 87*(1), 374-380.
- Spehar, R. L., & Fiandt, J. T. (1986). Acute and chronic effects of water quality criteria-based metal mixtures on three aquatic species. *Environmental Toxicology and Chemistry, 5*(10), 917-931.
- Spicer, J. I., & Weber, R. E. (1991). Respiratory impairment in crustaceans and molluscs due to exposure to heavy metals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology, 100*(3), 339-342.
- Spokas, E. G., Spur, B. W., Smith, H., Kemp, F. W., & Bogden, J. D. (2006). Tissue lead concentration during chronic exposure of *Pimephales promelas* (fathead minnow) to lead nitrate in aquarium water. *Environmental science & technology, 40*(21), 6852-6858.
- Sprague, J. B., & Ramsay, B. A. (1965). Lethal levels of mixed copper-zinc solutions for juvenile salmon. *Journal of the Fisheries Board of Canada, 22*(2), 425-432.

- Sprung, M., & Rose, U. (1988). Influence of food size and food quantity on the feeding of the mussel *Dreissena polymorpha*. *Oecologia*, 77(4), 526-532.
- Sreejamole, K. L., & Remya, L. S. (2014). Biomarker studies for the assessment of cadmium toxicity in green mussel *Perna viridis* (Innaeus). *Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, 2(1), 265-268.
- Stankovic, S., & Jovic, M. (2012). Health risks of heavy metals in the mediterranean mussels as seafood. *Environmental Chemistry Letters*, 10(2), 119-130.
- Stauber, J. L., Benning, R. J., Hales, L. T., Eriksen, R., & Nowak, B. (2000). Copper bioavailability and amelioration of toxicity in Macquarie Harbour, Tasmania, Australia. *Marine and Freshwater Research*, 51(1), 1-10.
- Stecher, H. A., Krantz, D. E., Lord, C. J., Luther, G. W., & Bock, K. W. (1996). Profiles of strontium and barium in *Mercenaria mercenaria* and *Spisula solidissima* shells. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60(18), 3445-3456.
- Steffensen, I. L., Mesna, O. J., Andruchow, E., Namork, E., Hylland, K., & Andersen, R. A. (1994). Cytotoxicity and accumulation of Hg, Ag, Cd, Cu, Pb and Zn in human peripheral T and B-lymphocytes and monocytes in vitro. *General Pharmacology: The Vascular System*, 25(8), 1621-1633.
- Stern, B. R. (2010). Essentiality and toxicity in copper health risk assessment: overview, update and regulatory considerations. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 73(2-3), 114-127.
- Stewart, A. R. (1999). Accumulation of Cd by a freshwater mussel (*Pyganodon grandis*) is reduced in the presence of Cu, Zn, Pb, and Ni. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56(3), 467-478.
- St-Jean, S. D., Courtenay, S. C., & Parker, R. W. (2003). Immunomodulation in blue mussels (*Mytilus edulis*) exposed to a pulp and paper mill effluent in eastern Canada. *Water quality research journal of Canada*, 38(4), 647-666.
- Stohs, S. J., & Bagchi, D. (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(2), 321-336.
- Stohs, S. J., Bagchi, D., Hassoun, E., & Bagchi, M. (1999). Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology: official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, 19(3), 201-213.
- Stohs, S. J., Bagchi, D., Hassoun, E., & Bagchi, M. (2001). Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 20(2).
- Strausak, D., Mercer, J. F., Dieter, H. H., Stremmel, W., & Multhaup, G. (2001). Copper in disorders with neurological symptoms: Alzheimer's, Menkes, and Wilson diseases. *Brain research bulletin*, 55(2), 175-185.
- Strömngren, T. (1982). Effect of heavy metals (Zn, Hg, Cu, Cd, Pb, Ni) on the length growth of *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 72(1), 69-72.

- Sturludottir, E., Gunnlaugsdottir, H., Jorundsdottir, H. O., Magnusdottir, E. V., Olafsdottir, K., & Stefansson, G. (2014). Temporal trends of contaminants in cod from Icelandic waters. *Science of the Total Environment*, 476, 181-188.
- Sunila, I. (1986). Chronic histopathological effects of short-term copper and cadmium exposure on the gill of the mussel, *Mytilus edulis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 47(2), 125-142.
- Sunila, I. (1988). Acute histological responses of the gill of the mussel, *Mytilus edulis*, to exposure by environmental pollutants. *Journal of Invertebrate Pathology*, 52(1), 137-141.
- Supanopas, P., Sretarugsa, P., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., & Upatham, E. S. (2005). Acute and subchronic toxicity of lead to the spotted babylon, *Babylonia areolata* (Neogastropoda, Buccinidae). *Journal of Shellfish Research*, 24(1), 91-98.
- Svecevičius, G., Sauliutė, G., Idzelis, R. L., & Grigelevičiūtė, J. (2014). Accumulation of heavy metals in different body tissues of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., exposed to a model mixture (Cu, Zn, Ni, Cr, Pb, Cd) and singly to nickel, chromium, and lead. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 92(4), 440-445.
- Sze, P. W. C., & Lee, S. Y. (2000). Effects of chronic copper exposure on the green mussel *Perna viridis*. *Marine Biology*, 137(3), 379-392.
- Szefer, P., Frelek, K., Szefer, K., Lee, C. B., Kim, B. S., Warzocha, J., Zdrojewska, I., Ciesielski, T. (2002). Distribution and relationships of trace metals in soft tissue, byssus and shells of *Mytilus edulis trossulus* from the southern Baltic. *Environmental Pollution*, 120(2), 423-444.
- Szefer, P., Kim, B. S., Kim, C. K., Kim, E. H., & Lee, C. B. (2004). Distribution and coassociations of trace elements in soft tissue and byssus of *Mytilus galloprovincialis* relative to the surrounding seawater and suspended matter of the southern part of the Korean Peninsula. *Environmental Pollution*, 129(2), 209-228.

## T

- Taboada, C., Millán, R., Miguez, I., & Fernández-Pulpeiro, E. (2008). Composición en macronutrientes, aminoácidos y minerales de algunos invertebrados marinos no utilizados habitualmente como alimento. *Revista Real Academia Galega de Ciencias*, 27, 95-106.
- Tam, N. F. Y., & Wong, Y. S. (2000). Spatial variation of heavy metals in surface sediments of Hong Kong mangrove swamps. *Environmental Pollution*, 110(2), 195-205.
- Tammes, P. M. L. (1964). Isoboles, a graphic representation of synergism in pesticides. *Netherlands journal of plant pathology*, 70(3), 73-80.
- Tamtam, F., Mercier, F., Eurin, J., Chevreuil, M., & Le Bot, B. (2009). Ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry performance evaluation for analysis of antibiotics in natural waters. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 393(6-7), 1709-1718.
- Tan, W. H., & Lim, L. H. (1984). The tolerance to and uptake of lead in the green mussel, *Perna viridis* (L.). *Aquaculture*, 42(3), 317-332.
- Taylor, A. M., & Maher, W. A. (2012). Exposure–dose–response of *Anadara trapezia* to metal contaminated estuarine sediments. 1. Cadmium spiked sediments. *Aquatic toxicology*, 109, 234-242.

- Tellis, M. S., Lauer, M. M., Nadella, S., Bianchini, A., & Wood, C. M. (2014a). The Effects of Copper and Nickel on the Embryonic Life Stages of the Purple Sea Urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*). *Archives of environmental contamination and toxicology*, 67(3), 453-464.
- Tellis, M. S., Lauer, M. M., Nadella, S., Bianchini, A., & Wood, C. M. (2014b). Sublethal mechanisms of Pb and Zn toxicity to the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) during early development. *Aquatic Toxicology*, 146, 220-229.
- Tenabe, S., (2000). Asia-Pacific mussel watch progress report. Editorial. *Marine Pollution Bulletin*, 40 (8), 651.
- Tessier, A., Couillard, Y., Campbell, P. G. C., & Auclair, J. C. (1993). Modeling Cd partitioning in oxic lake sediments and Cd concentrations in the freshwater bivalve *Anodonta grandis*. *Limnology and Oceanography*, 38(1), 1-17.
- Thiagarajan, R., Gopalakrishnan, S., & Thilagam, H. (2006). Immunomodulation the marine green mussel *Perna viridis* exposed to sub-lethal concentrations of Cu and Hg. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 51(3), 392-399.
- Thiagarajan, R., Gopalakrishnan, S., & Thilagam, H. (2006). Immunomodulation the marine green mussel *Perna viridis* exposed to sub-lethal concentrations of Cu and Hg. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 51(3), 392-399.
- Thijssen, S., Lambrichts, I., Maringwa, J., & Van Kerkhove, E. (2007a). Changes in expression of fibrotic markers and histopathological alterations in kidneys of mice chronically exposed to low and high Cd doses. *Toxicology*, 238(2), 200-210.
- Thijssen, S., Maringwa, J., Faes, C., Lambrichts, I., & Van Kerkhove, E. (2007b). Chronic exposure of mice to environmentally relevant, low doses of cadmium leads to early renal damage, not predicted by blood or urine cadmium levels. *Toxicology*, 229(1), 145-156.
- Thompson, C. B. (1995). New insights into V (D) J recombination and its role in the evolution of the immune system. *Immunity*, 3(5), 531-539.
- Thompson, D.R. (1990). Metal levels in marine vertebrates In: Furness, R.W., Rainbow, P.S. (Eds.), *Heavy Metals in the Marine Environment*. CRC Press, Boca Raton, Florida, US, pp. 143-182.
- Tian, Y., Liu, H., Wang, Q., Zhou, J., & Tang, X. (2014). Acute and chronic toxic effects of Pb 2+ on polychaete *Perinereis aibuhitensis*: Morphological changes and responses of the antioxidant system. *Journal of Environmental Sciences*, 26(8), 1681-1688.
- Timbrell, J. A. (1998). Biomarkers in toxicology. *Toxicology*, 129(1), 1-12.
- Timmermans, K. R., Van Hattum, B., Kraak, M. H. S., & Davids, C. (1989). Trace metals in a littoral foodweb: concentrations in organisms, sediment and water. *Science of the total environment*, 87, 477-494.
- Tirado, C. y Macias, J.C. (2006). *Cultivo de mejillón. Aspectos generales y experiencias en Andalucía. Junta de Andalucía*. Consejería de Agricultura y Pesca: 176 pp.
- Todd, P. A., Ong, X., & Chou, L. M. (2010). Impacts of pollution on marine life in Southeast Asia. *Biodiversity and Conservation*, 19(4), 1063-1082.

- Tokar E.J. Boyd W.A. Freedman J. H. and Waalkes M.P. *Toxic effects of metals* In: Klaassen C.D. ed. *Casarett and Doull's Toxicology: The basic Science of poisons*. New York: McGraw-Hill; 2013: pp 981-1030.
- Tosti, E., & Gallo, A. (2012). Best biomarker and bioindicator for marine environmental pollution. *Journal of Marine Science Research Development*, 2, 100-101.
- Tovar-Sánchez, A., Sánchez-Quiles, D., Basterretxea, G., Benedé, J. L., Chisvert, A., Salvador, A., et al., (2013). Sunscreen products as emerging pollutants to coastal waters. *PloS one*, 8(6), e65451.
- Travers, M. A., Le Goïc, N., Huchette, S., Koken, M., & Paillard, C. (2008). Summer immune depression associated with increased susceptibility of the European abalone, *Haliotis tuberculata* to *Vibrio harveyi* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 25(6), 800-808.
- Trevisan, R., Ferraz Mello, D., Fisher, A. S., Schuwerack, P. M., Dafre, A. L., & Moody, A. J. (2011). Selenium in water enhances antioxidant defenses and protects against copper-induced DNA damage in the blue mussel *Mytilus edulis*. *Aquatic toxicology*, 101(1), 64-71.
- Tsangaris, C., Papatthasiou, E., & Cotou, E. (2007). Assessment of the impact of heavy metal pollution from a ferro-nickel smelting plant using biomarkers. *Ecotoxicology and environmental safety*, 66(2), 232-243.
- Tsiridis, V., Petala, M., Samaras, P., Hadjispyrou, S., Sakellaropoulos, G., & Kungolos, A. (2006). Interactive toxic effects of heavy metals and humic acids on *Vibrio fischeri*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 63(1), 158-167.
- Tujula, N., Radford, J., Nair, S. V., & Raftos, D. A. (2001). Effects of tributyltin and other metals on the phenoloxidase activating system of the tunicate, *Styela plicata*. *Aquatic toxicology*, 55(3), 191-201.
- Turner, A., Barrett, M., & Brown, M. T. (2009). Processing of antifouling paint particles by *Mytilus edulis*. *Environmental pollution*, 157(1), 215-220.
- Turnlund, J.R., (1999). Copper. In: Shils, M.E., Olson, J.A., Shike, M., Ross, A.C. (Eds.), *Modern Nutrition in Health and Disease*. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, MD.

## U

- U. S. Geological Survey, in *Historical statistics for mineral and material commodities in the United States*, Eds T. D. Kelly, G. R. Matos, 2012, Vol. 140, pp. 36–37.
- US EPA (1985). United States Environmental Protection Agency *Ambient Water Quality Criteria for Copper*; Office of Water and Office of Science and Technology, U.S. Government Printing Office: Washington, DC, USA.
- US EPA (1990). United States Environmental Protection Agency *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organism*. (Fourth Edition). Report 600/4-90/027F.
- US EPA (1995). United States Environmental Protection Agency. *Ambient Water Quality Criteria Saltwater Copper Addendum*; Office of Water and Office of Science and Technology, U.S. Government Printing Office: Washington, DC, USA.

- US EPA (2002). United States Environmental Protection Agency *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms* (fifth edition). U.S. Environmental Protection Agency Office of Water (4303T) 1200 Pennsylvania Avenue, NW Washington, DC 20460.
- US EPA (2003). United States Environmental Protection Agency National air quality and emissions trends report—2003 special studies edition. EPA/454/R-03/005. Research Triangle Park, NC. URL <http://www.epa.gov/air/airtrends/aqtrnd03/> (Acceso 13/12/2014).
- US EPA (2014). United States Environmental Protection Agency, List of Priority Pollutants.. URL <http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/pollutants.cfm> (acceso 28.09.2014).
- Uauy, R., Olivares, M., & González, M. (1998). Essentiality of copper in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 67(5), 952S-959S.
- UNEP, (2009). *Marine Litter: A Global Challenge*. Nairobi: UNEP. 232 pp.
- Urbano, T., C. Lodeiros, M. De Donato, V. Acosta, D. Arrieche, and J. Himmelman. (2005). Crecimiento y supervivencia de los mejillones *Perna perna*, *Perna viridis* y de un morfotipo indefinido bajo cultivo suspendido. *Ciencias Marinas*, 31(3), 517–528.

## V

- Valdés, J.; Román, D.; Dávila, P.; Ortlieb, L. y Guiñes, M. (2006). Variabilidad estacional de cadmio en un sistema de surgencia costera del norte de Chile (Bahía Mejillones del Sur, 23° S). *Revista Chilena de Historia Natural*, 79(4), 517-535.
- Van de Flierdt, T., Frank, M., Halliday, A. N., Hein, J. R., Hattendorf, B., Günther, D., & Kubik, P. W. (2003). Lead isotopes in North Pacific deep water—implications for past changes in input sources and circulation patterns. *Earth and Planetary Science Letters*, 209(1), 149-164.
- Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), 57-149.
- Van Gestel, C. A. M., & Van Brummelen, T. C. (1996). Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. *Ecotoxicology*, 5(4), 217-225.
- Van Gestel, C. A., & Hensbergen, P. J. (1997). Interaction of Cd and Zn toxicity for *Folsomia candida* Willem (Collembola: Isotomidae) in relation to bioavailability in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(6), 1177-1186.
- Van Ginneken, M., De Jonge, M., Bervoets, L., & Blust, R. (2015). Uptake and toxicity of Cd, Cu and Pb mixtures in the isopod *Asellus aquaticus* from waterborne exposure. *Science of The Total Environment*, 537, 170-179.
- Vandenbrouck, T., Soetaert, A., van der Ven, K., Blust, R., & De Coen, W. (2009). Nickel and binary metal mixture responses in *Daphnia magna*: molecular fingerprints and (sub) organismal effects. *Aquatic Toxicology*, 92(1), 18-29.
- Vargas-Albores F., & Barracco M A. Mecanismos de defensa de los moluscos bivalvos, con énfasis en pectínidos. En: Maeda Martínez-AM, (ed). *Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura*. México: Limusa; 2001. 127-46.



- Varotto, L., Domeneghetti, S., Rosani, U., Manfrin, C., Cajaraville, M. P., Raccanelli, S., Pallavicini, A., Venier, P. (2013). DNA damage and transcriptional changes in the gills of *Mytilus galloprovincialis* exposed to nanomolar doses of combined metal salts (Cd, Cu, Hg). *PloS one*, 8(1), e54602.
- Vasanthi, L. A., Revathi, P., Arulvasu, C., & Munuswamy, N. (2012). Biomarkers of metal toxicity and histology of *Perna viridis* from Ennore estuary, Chennai, south east coast of India. *Ecotoxicology and environmental safety*, 84, 92-98.
- Vellinger, C., Felten, V., Sornom, P., Rousselle, P., Beisel, J. N., & Usseglio-Polatera, P. (2012b). Behavioural and physiological responses of gammarus pulex exposed to cadmium and arsenate at three temperatures: individual and combined effects. *PloS one*, 7(6), e39153.
- Vellinger, C., Gismondi, E., Felten, V., Rousselle, P., Mehennaoui, K., Parant, M., & Usseglio-Polatera, P. (2013). Single and combined effects of cadmium and arsenate in *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda): Understanding the links between physiological and behavioural responses. *Aquatic Toxicology*, 140, 106-116.
- Vellinger, C., Parant, M., Rousselle, P., Immel, F., Wagner, P., & Usseglio-Polatera, P. (2012a). Comparison of arsenate and cadmium toxicity in a freshwater amphipod (*Gammarus pulex*). *Environmental Pollution*, 160, 66-73.
- Vesk, P. A., & Byrne, M. (1999). Metal levels in tissue granules of the freshwater bivalve *Hyridella depressa* (Unionida) for biomonitoring: the importance of cryopreparation. *Science of the total environment*, 225(3), 219-229.
- Viant, M. R. (2007). Metabolomics of aquatic organisms: the new 'omics' on the block. *Marine Ecology Progress Series*, 332, 301-306.
- Viarengo, A. (1989). Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. *Reviews in Aquatic Science*, 1(2), 295-317.
- Viarengo, A., Arena, N., Canesi, L., Alia, F. A., & Orunesu, M. (1994). Structural and biochemical alterations in the gills of copper-exposed mussels. *Contaminants in the Environment*. Lewis Publishers, Boca Raton, 135-144.
- Viarengo, A., Burlando, B., Cavaletto, M., Marchi, B., Ponzano, E., & Blasco, J. (1999). Role of metallothionein against oxidative stress in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 277(6), R1612-R1619.
- Viarengo, A., Canesi, L. (1991). Mussels as biological indicators of pollution. *Aquaculture*, 94(2), 225-243.
- Viarengo, A., Canesi, L., Pertica, M., Poli, G., Moore, M. N., & Orunesu, M. (1990). Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis* lam. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 97(1), 37-42.
- Viarengo, A., Marro, A., Marchi, B., & Burlando, B. (2000). Single and combined effects of heavy metals and hormones on lysosomes of haemolymph cells from the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Biology*, 137(5-6), 907-912.
- Viarengo, A., Pertica, M., Mancinelli, G., Burlando, B., Canesi, L., & Orunesu, M. (1996). In vivo effects of copper on the calcium homeostasis mechanisms of mussel gill cell plasma membranes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 113(3), 421-425.

- Viarengo, A., Ponzano, E., Dondero, F., & Fabbri, R. (1997). A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Marine Environmental Research*, 44(1), 69-84.
- Vidal-Liñán, L., Bellas, J., Etxebarria, N., Nieto, O., & Beiras, R. (2014). Glutathione S-transferase, glutathione peroxidase and acetylcholinesterase activities in mussels transplanted to harbour areas. *Science of the Total Environment*, 470, 107-116.
- Vighi, M. (1981). Lead uptake and release in an experimental trophic chain. *Ecotoxicology and environmental safety*, 5(2), 177-193.
- Villanueva E., Intoxicación por plomo En Villanueva Cañadas E., Gisbert Calabuig J.A., (eds), Medicina Legal y Toxicología, Madrid: Elsevier; 2004: pp 939-946.
- Vlahogianni, T. H., & Valavanidis, A. (2007). Heavy-metal effects on lipid peroxidation and antioxidant defence enzymes in mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Chemistry and Ecology*, 23(5), 361-371.
- Voets, J., Redeker, E. S., Blust, R., & Bervoets, L. (2009). Differences in metal sequestration between zebra mussels from clean and polluted field locations. *Aquatic Toxicology*, 93(1), 53-60.
- Voigt, H. R. (2014). Concentrations of lead in some coastal fishes from the Baltic Sea. *Estonian Journal of Ecology*, 63(1), 39-52.
- Vosloo, D., Sara, J., & Vosloo, A. (2012). Acute responses of brown mussel (*Perna perna*) exposed to sub-lethal copper levels: Integration of physiological and cellular responses. *Aquatic Toxicology*, 106, 1-8.
- Vosyliënė, M. Z., Kazlauskienė, N., & Svecevičius, G. (2003). Effect of a heavy metal model mixture on biological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Environmental science and pollution research*, 10(2), 103-107.

## W

- Wallace, W. G., & Luoma, S. N. (2003). Subcellular compartmentalization of Cd and Zn in two bivalves. II. Significance of trophically available metal (TAM). *Marine Ecology Progress Series*, 257, 125-137.
- Wallace, W. G., Lee, B. G., & Luoma, S. N. (2003). Subcellular compartmentalization of Cd and Zn in two bivalves. I. Significance of metal-sensitive fractions (MSF) and biologically detoxified metal (BDM). *Marine Ecology Progress Series*, 249, 183-197.
- Walz, N. (1978). The energy balance of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* Pallas in laboratory experiments and in Lake Constance. I. Pattern of activity, feeding and assimilation efficiency. *Arch. hydrobiol. Suppl.*, 55(1), 83-105.
- Watling, H. (1981). The effects of metals on mollusc filtering rates. *Transactions of the Royal Society of South Africa.*, 44(3), 441-51.
- Wang, G., & Fowler, B. A. (2008). Roles of biomarkers in evaluating interactions among mixtures of lead, cadmium and arsenic. *Toxicology and applied pharmacology*, 233(1), 92-99.
- Wang, M. J., & Wang, W. X. (2009). Cadmium in three marine phytoplankton: accumulation, subcellular fate and thiol induction. *Aquatic toxicology*, 95(2), 99-107.

- Wang, Q., Liu, B., Yang, H., Wang, X., & Lin, Z. (2009). Toxicity of lead, cadmium and mercury on embryogenesis, survival, growth and metamorphosis of *Meretrix meretrix* larvae. *Ecotoxicology*, 18(7), 829-837.
- Wang, S. L., Xu, X. R., Sun, Y. X., Liu, J. L., & Li, H. B. (2013). Heavy metal pollution in coastal areas of South China: A review. *Marine pollution bulletin*, 76(1), 7-15.
- Wang, W. X., & Fisher, N. S. (1997). Modeling the influence of body size on trace element accumulation in the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Ecology Progress Series*, 161, 103-115.
- Wang, W. X., & Fisher, N. S. (1999). Assimilation efficiencies of chemical contaminants in aquatic invertebrates: a synthesis. *Environmental toxicology and chemistry*, 18(9), 2034-2045.
- Wang, W. X., & Rainbow, P. S. (2007). Subcellular partitioning and the prediction of cadmium toxicity to aquatic organisms. *Environmental Chemistry*, 3(6), 395-399.
- Wang, W. X., & Rainbow, P. S. (2008). Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148(4), 315-323.
- Wang, X., Sato, T., Xing, B., & Tao, S. (2005). Health risks of heavy metals to the general public in Tianjin, China via consumption of vegetables and fish. *Science of the Total Environment*, 350(1), 28-37.
- Ward, D. J., Simpson, S. L., & Jolley, D. F. (2013). Slow avoidance response to contaminated sediments elicits sublethal toxicity to benthic invertebrates. *Environmental science & technology*, 47(11), 5947-5953.
- Ward, J. E., & Shumway, S. E. (2004). Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension- and deposit-feeding bivalves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 300(1), 83-130.
- Ward, T. J., Correll, R. L., & Anderson, R. B. (1986). Distribution of cadmium, lead and zinc amongst the marine sediments, seagrasses and fauna, and the selection of sentinel accumulators, near a lead smelter in South Australia. *Marine and Freshwater Research*, 37(5), 567-585.
- Warnau, M., & Pagano, G. (1994). Developmental toxicity of PbCl<sub>2</sub> in the echinoid *Paracentrotus lividus* (Echinodermata). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 53(3), 434-441.
- Warnau, M., Temara, A., Jangoux, M., Dubois, P., Iaccarino, M., De Biase, A., & Pagano, G. (1996). Spermioxicity and embryotoxicity of heavy metals in the echinoid *Paracentrotus lividus*. *Environmental toxicology and chemistry*, 15(11), 1931-1936.
- Watkinson, A. J., Murby, E. J., Kolpin, D. W., & Costanzo, S. D. (2009). The occurrence of antibiotics in an urban watershed: from wastewater to drinking water. *Science of the total environment*, 407(8), 2711-2723.
- Watling, H. (1981). The effects of metals on mollusc filtering rates. *Transactions of the Royal Society of South Africa*, 44(3), 441-451.
- Watling, H. R., & Watling, R. J. (1982). Comparative effects of metals on the filtering rate of the brown mussel (*Perna perna*). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 29(6), 651-657.
- Webb M (1979) The chemistry, biochemistry and biology of cadmium. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam/Oxford

- Wepener, V., Bervoets, L., Mubiana, V., & Blust, R. (2008). Metal exposure and biological responses in resident and transplanted blue mussels (*Mytilus edulis*) from the Scheldt estuary. *Marine pollution bulletin*, 57(6), 624-631.
- White, S. L., & Rainbow, P. S. (1985). On the metabolic requirements for copper and zinc in molluscs and crustaceans. *Marine Environmental Research*, 16(3), 215-229.
- WHO (1993). International Programme on Chemical Safety Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles. Environmental Health Criteria n° 155. Biomarkers and risk assessment: concepts and Principles. World Health Organization. Genova.
- Widdows, J., Nasci, C., & Fossato, V. U. (1997). Effects of pollution on the scope for growth of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Venice Lagoon, Italy. *Marine Environmental Research*, 43(1), 69-79.
- Wiesner, L., Günther, B., & Fenske, C. (2001). Temporal and spatial variability in the heavy-metal content of *Dreissena polymorpha* (Pallas) (Mollusca: Bivalvia) from the Kleines Haff (northeastern Germany). *Hydrobiologia*, 443(1-3), 137-145.
- Winston, G. W., & Di Giulio, R. T. (1991). Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic toxicology*, 19(2), 137-161.
- Winter, J. E. (1978). A review on the knowledge of suspension-feeding in lamellibranchiate bivalves, with special reference to artificial aquaculture systems. *Aquaculture*, 13(1), 1-33.
- Wolff, E. W., Suttie, E. D., & Peel, D. A. (1999). Antarctic snow record of cadmium, copper, and zinc content during the twentieth century. *Atmospheric Environment*, 33(10), 1535-1541.
- Won, E. J., Rhee, J. S., Kim, R. O., Ra, K., Kim, K. T., Shin, K. H., & Lee, J. S. (2012). Susceptibility to oxidative stress and modulated expression of antioxidant genes in the copper-exposed polychaete *Perinereis nuntia*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 155(2), 344-351.
- Won, E. J., Rhee, J. S., Kim, R. O., Ra, K., Kim, K. T., Shin, K. H., & Lee, J. S. (2012). Susceptibility to oxidative stress and modulated expression of antioxidant genes in the copper-exposed polychaete *Perinereis nuntia*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 155(2), 344-351.
- Wong, C. K., & Pak, A. P. (2004). Acute and subchronic toxicity of the heavy metals copper, chromium, nickel, and zinc, individually and in mixture, to the freshwater copepod *Mesocyclops pehpeiensis*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 73(1), 190-196.
- Wong, C. K., & Wong, M. H. (2000). Morphological and biochemical changes in the gills of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to ambient cadmium exposure. *Aquatic Toxicology*, 48(4), 517-527.
- Wright, D. A., & Welbourn, P. M. (1994). Cadmium in the aquatic environment: a review of ecological, physiological, and toxicological effects on biota. *Environmental Reviews*, 2(2), 187-214.
- Wright, D. A., & Zamuda, C. D. (1987). Copper accumulation by two bivalve molluscs: salinity effect is independent of cupric ion activity. *Marine Environmental Research*, 23(1), 1-14.
- Wright, D.A. and Welbourn, P. *Environmental Toxicology*. Cambridge University Press, (2002)
- Wu, R. S., Siu, W. H., & Shin, P. K. (2005). Induction, adaptation and recovery of biological responses: implications for environmental monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, 51(8), 623-634.

- Wu, X., Liang, Y., Jin, T., Ye, T., Kong, Q., Wang, Z., Lei, L., Bergdahl, I.A., Nordberg, G. F. (2008). Renal effects evolution in a Chinese population after reduction of cadmium exposure in rice. *Environmental research*, 108(2), 233-238.
- Wyatt, J., Kenny, S., Hobbs, K. D., Mills, T., Marshall, H. D., & Murray, H. M. (2013). The effect of extended wet-storage on the condition, physiology and stress response of cultured blue mussels (*Mytilus edulis* L. 1758) during summer and fall in northeastern Newfoundland. *Aquaculture*, 372, 111-118.

## X

- Xu, W. H., Zhang, G., Zou, S. C., Li, X. D., & Liu, Y. C. (2007). Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Environmental Pollution*, 145(3), 672-679.
- Xu, X., Li, Y., Wang, Y., & Wang, Y. (2011). Assessment of toxic interactions of heavy metals in multi-component mixtures using sea urchin embryo-larval bioassay. *Toxicology in Vitro*, 25(1), 294-300.

## Y

- Yan, B., Wang, L., Li, Y., Liu, N., & Wang, Q. (2007). Effects of cadmium on hepatopancreatic antioxidant enzyme activity in freshwater crab *Sinopotamon yangtsekiense*. *Acta Zoologica Sinica* 53(6), 1121–1128.
- Yan, C., Li, Q., Zhang, X., & Li, G. (2010). Mobility and ecological risk assessment of heavy metals in surface sediments of Xiamen Bay and its adjacent areas, China. *Environmental Earth Sciences*, 60(7), 1469-1479.
- Yang, M. S., & Thompson, J. A. J. (1996). Binding of endogenous copper and zinc to cadmium-induced metal-binding proteins in various tissues of *Perna viridis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 30(2), 267-273.
- Yap, C. K., Hatta, Y., Edward, F. B., & Tan, S. G. (2008). Distribution of heavy metal concentrations (Cd, Cu, Ni, Fe and Zn) in the different soft tissues and shells of wild mussels *Perna viridis* collected from BAGAN TIANG and KUALA KEDAH Malaysian. *Applied Biology*, 37(2), 1-10.
- Yap, C. K., Ismail, A., Cheng, W. H., & Tan, S. G. (2006). Crystalline style and tissue redistribution in *Perna viridis* as indicators of Cu and Pb bioavailabilities and contamination in coastal waters. *Ecotoxicology and environmental safety*, 63(3), 413-423.
- Yap, C. K., Ismail, A., Omar, H., & Tan, S. G. (2004b). Toxicities and tolerances of Cd, Cu, Pb and Zn in a primary producer (*Isochrysis galbana*) and in a primary consumer (*Perna viridis*). *Environment international*, 29(8), 1097-1104.
- Yap, C. K., Ismail, A., Tan, S. G., & Ismail, A. R. (2004a). Assessment of different soft tissues of the green-lipped mussel *Perna viridis* (Linnaeus) as biomonitoring agents of Pb: Field and laboratory studies. *Water, air, and soil pollution*, 153(1-4), 253-268.
- Yaqin, K., Tresnati, J., Rape, R. A., & Aslam, M. (2014). The Use of Byssogenesis of Green Mussel, *Perna viridis*, as a Biomarker in Laboratory Study. *Current Nutrition & Food Science*, 10(2), 100-106.

- Yeats, P., Gagné, F., & Hellou, J. (2008). Body burden of contaminants and biological effects in mussels: an integrated approach. *Environment international*, 34(2), 254-264.
- Yebra, D. M., Kiil, S., & Dam-Johansen, K. (2004). Antifouling technology—past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Progress in organic coatings*, 50(2), 75-104.
- Yu, X., Yan, Y., & Wang, W. X. (2010). The distribution and speciation of trace metals in surface sediments from the Pearl River Estuary and the Daya Bay, Southern China. *Marine pollution bulletin*, 60(8), 1364-1371.
- Yusof, A. M., Yanta, N. F., & Wood, A. K. (2004). The use of bivalves as bio-indicators in the assessment of marine pollution along a coastal area. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 259(1), 119-127.

## Z

- Zalups, R. K., & Ahmad, S. (2003). Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicology and applied pharmacology*, 186(3), 163-188.
- Zamuda, C. D., Wright, D. A., & Smucker, R. A. (1985). The importance of dissolved organic compounds in the accumulation of copper by the American oyster, *Crassostrea virginica*. *Marine environmental research*, 16(1), 1-12.
- Zapata-Vivenes, E. (2005). Metalotioninas y enzimas glucolíticas regulatorias en el mejillón verde *Perna viridis* sujeto a estrés oxidativo. *Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Magíster Scientiarum en Biología Aplicada, mención Ecología y Toxicología Ambiental*.
- Zapata-Vivenes, E., de Astudillo, L. R., Sánchez, G., & Barreto, M. (2012). Heavy metals and related biomarkers in *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) collected on the coast of Sucre State, Venezuela. Metales pesados y biomarcadores relacionados en *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) recolectado en las costas del estado Sucre, Venezuela. *Ciencias Marinas*, 38(3), 517-528.
- Zatsepin, V. I., Filatova, Z. A., & Shilejko, A. A. (1988). Klass dwustworchatyie molljuski (*Bivalvia*). In R. K. Pasternak (Ed.), *Zhizn' Zhivotnyh-Molljuski Igloko zie-Chlenistonogie (The life of animals molluscs)* (pp. 65–112). Moscow: Prosveshchenie, Izdatelstvo, (in Russian).
- Zentz, F., Hellio, C., Valla, A., De La Broise, D., Bremer, G., & Labia, R. (2002). Antifouling activities of N-substituted imides: antimicrobial activities and inhibition of *Mytilus edulis* phenoloxidase. *Marine Biotechnology*, 4(4), 431-440.
- Zhang, M. Q., Hai-qian, C. H. E. N., & Guang-hong, W. U. (2010). Interaction of Zn and Cd on uptake and accumulation by crab, *Eriocheir sinensis*. *Journal of Fisheries of China*, 8, 018.
- Zhang, W., Liu, X., Cheng, H., Zeng, E. Y., Hu, Y., (2012b). Heavy metal pollution in sediments of a typical mariculture zone in South China. *Marine Pollution Bulletin* 64(4), 712–720.
- Zhao, L., Zhang, Y., Liang, J., Xu, X., Wang, H., Yang, F., & Yan, X. (2014). Environmental cadmium exposure impacts physiological responses in Manila clams. *Biological trace element research*, 159(1-3), 241-253.

- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., & Jiang, G. (2008). Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica chimica acta*, 606(2), 135-150.
- Zimmer, A.M., Barcarolli, I.F., Wood, C.M., Bianchini, A. "Waterborne copper exposure inhibits ammonia excretion and branchial carbonic anhydrase activity in euryhaline guppies acclimated to both fresh water and sea water." (2012). submitted to aquatic toxicology Ms. Ref. No. AQTOX-D-12-00081
- Zorita, I., Bilbao, E., Schad, A., Cancio, I., Soto, M., & Cajaraville, M. P. (2007). Tissue-and cell-specific expression of metallothionein genes in cadmium-and copper-exposed mussels analyzed by in situ hybridization and RT-PCR. *Toxicology and applied pharmacology*, 220(2), 186-196.
- Zuykov, M., Pelletier, E., & Harper, D. A. (2013). Bivalve mollusks in metal pollution studies: from bioaccumulation to biomonitoring. *Chemosphere*, 93(2), 201-208.





## ANEXO

---



## ÍNDICE DE ANEXO

Estadísticos descriptivos de las réplicas por tratamiento. FE1=fase experimental 1; FE2=fase experimental 2; NE=datos no evaluados. V=valvas, GD=glándula digestiva, BR=branquia, RE=resto de tejidos blandos, TB=total de tejidos blandos, IHS=índice hepatosomático, IB=índice branquial, IR=índice de resto de tejidos blandos, IC=índice de condición, ICval=índice de condición con valvas, ICvol= índice de condición volumétrico.  $p$ =análisis estadístico para la comparación entre réplicas.

<b>Tabla 1. 1.</b> Porcentaje de consumo de alimento en tiempo controlado (30 minutos) para cada día. ....	327
<b>Tabla 1. 2.</b> Datos relativizados del porcentaje de consumo de alimento en tiempo controlado (30 minutos) para cada día. ....	327
<b>Tabla 1. 3.</b> Porcentaje de consumo de alimento en 24 horas para cada día. ....	329
<b>Tabla 1. 4.</b> Datos relativizados del porcentaje de consumo de alimento en 24 horas para cada día. ....	330
<b>Tabla 1. 5.</b> Ingestión media (mg de materia orgánica) por individuo y día. ....	331
<b>Tabla 1. 6.</b> Ingestión total de materia orgánica (IT) por individuo. ....	332
<b>Tabla 1. 7.</b> Datos relativizados de la ingestión de materia orgánica por tanque y día. ....	333
<b>Tabla 1. 8.</b> Datos relativizados de la ingestión total de materia orgánica (IT) por individuo. ....	334
<b>Tabla 2. 1.</b> Medidas biométricas de los mejillones utilizados en la Fase Experimental 1 una vez finalizado el tiempo de exposición. Peso=gramos. $p$ =ANOVA o *Kruskal Wallis. ....	335
<b>Tabla 2. 2.</b> Medidas biométricas de los mejillones utilizados en la Fase Experimental 2 una vez finalizado el tiempo de exposición. Peso=gramos. $p$ =ANOVA o *Kruskal Wallis. ....	336
<b>Tabla 2. 3.</b> Medidas biométricas de los mejillones relativizadas con respecto a su control. Fase experimental 1. $p$ =ANOVA o *Kruskal Wallis. ....	337
<b>Tabla 2. 4.</b> Medidas biométricas de los mejillones relativizadas con respecto a su control. Fase experimental 2. $p$ =ANOVA o *Kruskal Wallis. ....	338
<b>Tabla 3. 1.</b> Actividad fenoloxidasa. UA/mg proteína para cada grupo de exposición. Fases experimental 1 y 2. $p$ =ANOVA o *Kruskal Wallis. ....	339
<b>Tabla 3. 2.</b> Actividad fenoloxidasa. Datos relativizados para cada grupo de exposición con respecto a su control. Fases experimental 1 y 2. $p$ =ANOVA o *Kruskal Wallis. ....	339
<b>Tabla 4. 1.</b> Concentración de Pb, Cd y Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ , peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 1. $p$ =Kruskal Wallis. ....	340
<b>Tabla 4. 2.</b> Concentración de Pb, Cd y Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ , peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 2. $p$ =Kruskal-Wallis. ....	342
<b>Tabla 4. 3.</b> Porcentaje de Pb, Cd y Cu en tejidos de mejillón. Fase experimental 1. $p$ =Kruskal-Wallis. ....	345
<b>Tabla 4. 4.</b> Porcentaje de Pb, Cd y Cu en tejidos de mejillón. Fase experimental 2. $p$ =Kruskal-Wallis. ....	347
<b>Tabla 5. 1.</b> Concentración de elementos traza mayoritarios (ETM) ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 1. $p$ =Kruskal Wallis. ....	350
<b>Tabla 5. 2.</b> Concentración de elementos traza mayoritarios (ETM) ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 2. $p$ =Kruskal Wallis. ....	354

<b>Tabla 5. 3.</b> Porcentaje de elementos traza mayoritarios (ETM) en tejidos de mejillón. Fase experimental 1. $p$ =Kruskal Wallis.....	359
<b>Tabla 5. 4.</b> Porcentaje de elementos traza mayoritarios ( $\text{mg kg}^{-1}$ , peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 2. $p$ =Kruskal Wallis. ....	363
<b>Tabla 5. 5.</b> Concentración de elementos traza minoritarios ( $\text{mg Kg}^{-1}$ , peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase Experimental 1. $p$ =Kruskal Wallis. ....	368
<b>Tabla 5. 6.</b> Concentración de elementos traza minoritarios ( $\text{mg kg}^{-1}$ , peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase Experimental 2. $p$ =Kruskal Wallis. ....	376
<b>Tabla 5. 7.</b> Distribución de elementos traza minoritarios ( $\text{mg kg}^{-1}$ , peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 1. $p$ =Kruskal Wallis.....	386
<b>Tabla 5. 8.</b> Distribución de elementos traza minoritarios ( $\text{mg kg}^{-1}$ , peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 2. $p$ =Kruskal Wallis.....	390
<b>Tabla 6. 1.</b> Concentración de Pb, Cd y Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en heces tras 7 días de exposición para cada réplica y grupos de exposición (media, desviación estándar, mínimo y máximo). ....	395
<b>Tabla 6. 2.</b> Concentración de elementos traza mayoritarios $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ en heces de mejillón tras 7 días de exposición para cada réplica y grupos de exposición. ....	396
<b>Tabla 6. 3.</b> Concentración de elementos traza minoritarios ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) en heces. ....	397

**Tabla 1. 1.** Porcentaje de consumo de alimento en tiempo controlado (30 minutos) para cada día.

FE1	CONTROL			Pb			Cu			Pb+Cu		
DÍA	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	NE	NE	38.04	74.45	70.54	97.34	63.79	75.06	112.29	88.13	68.76	82.26
2	NE	12.51	55.36	38.39	18.21	57.26	53.56	54.63	7.15	7.50	22.77	25.04
3	8.15	53.85	49.92	7.94	3.74	24.69	33.02	75.73	31.27	27.90	15.94	40.42
4	19.90	56.90	60.92	38.53	61.21	26.51	42.39	52.50	29.04	56.73	49.64	55.74
5	35.22	55.10	49.21	46.49	47.00	29.35	37.06	62.59	41.95	52.51	51.20	56.42
6	NE	67.05	79.23	NE	33.59	14.34	16.77	64.82	16.27	25.75	39.38	53.89
7	NE	63.28	52.90	40.64	55.22	58.07	53.65	57.30	52.11	21.75	41.81	58.40

FE2	CONTROL			Cd			Cd+Pb			Cd+Cu			Cd+Pb+Cu		
DÍA	R1	R2	R3	R1	R1	R2	R3	R1	R1	R2	R3	R1	R1	R2	R3
1	NE	69.42	66.87	0.79	19.91	24.19	42.33	61.47	46.93	62.00	73.60	62.79	NE	11.22	68.99
2	51.01	62.67	NE	NE	NE	NE	43.31	29.66	NE	33.70	34.91	24.02	NE	11.49	8.60
3	64.41	68.74	45.90	51.09	40.17	39.08	33.19	57.17	52.88	56.51	70.20	29.05	NE	22.45	32.66
4	52.19	59.25	2.80	10.63	19.54	NE	34.13	60.09	22.82	22.37	61.66	4.83	NE	9.48	16.26
5	26.52	66.76	26.29	14.44	7.10	13.63	6.98	47.69	37.81	NE	31.01	16.75	NE	NE	5.88
6	38.99	53.82	60.45	NE	NE	45.21	36.05	51.48	32.28	NE	37.78	40.10	NE	9.58	35.99
7	NE	NE	NE	NE	NE	NE	12.95	47.84	42.17	NE	47.39	34.94	7.14	21.75	19.29

**Tabla 1. 2.** Datos relativizados del porcentaje de consumo de alimento en tiempo controlado (30 minutos) para cada día.

<b>E1</b>	<b>Pb</b>			<b>Cu</b>			<b>Pb+Cu</b>		
<b>DÍA</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
<b>1</b>	195,69	185,42	255,86	167,68	197,29	295,14	231,64	180,74	216,22
<b>2</b>	113,12	53,68	168,74	157,83	160,99	21,07	22,11	67,09	73,79
<b>3</b>	21,28	10,02	66,17	88,50	202,98	83,83	74,78	42,72	108,34
<b>4</b>	83,94	133,35	57,75	92,34	114,37	63,27	123,57	108,13	121,42
<b>5</b>	99,95	101,06	63,11	79,67	134,56	90,19	112,89	110,09	121,31
<b>6</b>	NE	45,92	19,60	22,93	88,63	22,25	35,21	53,85	73,68
<b>7</b>	69,96	95,06	99,96	92,35	98,65	89,70	37,44	71,98	100,54

<b>E2</b>	<b>Cd</b>			<b>Cd+Pb</b>			<b>Cd+Cu</b>			<b>Cd+Pb+Cu</b>		
<b>DÍA</b>	<b>R1</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
<b>1</b>	1.15	29.21	35.50	62.11	90.20	68.87	90.99	108.01	92.15	NE	16.47	101.24
<b>2</b>	NE	NE	NE	76.19	52.19	NE	59.29	61.42	42.27	NE	20.21	15.13
<b>3</b>	85.60	67.31	65.48	55.62	95.78	88.61	94.68	117.62	48.67	NE	37.61	54.72
<b>4</b>	27.92	51.32	NE	89.63	157.81	59.93	58.74	161.93	12.69	NE	24.90	42.707
<b>5</b>	36.24	17.81	34.19	17.51	119.65	94.87	NE	77.81	42.04	NE	NE	14.77
<b>6</b>	NE	NE	88.49	70.56	100.78	63.19	NE	73.95	78.49	NE	18.76	70.45
<b>7</b>	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE

**Tabla 1. 3.** Porcentaje de consumo de alimento en 24 horas para cada día.

FE1	CONTROL			Pb			Cu			Pb+Cu		
DÍA	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	91.74	85.23	81.50	89.62	81.35	81.01	91.33	81.97	76.98	85.53	82.09	84.52
2	94.01	90.69	81.77	77.71	84.84	84.13	91.89	83.59	87.56	88.85	89.46	87.55
3	94.74	94.22	88.77	91.63	90.79	94.54	94.80	88.17	92.27	90.74	90.58	94.76
4	91.12	90.82	78.31	84.38	81.64	90.83	89.98	90.86	86.90	85.44	88.76	92.06
5	89.94	89.57	86.85	85.48	86.86	89.66	89.96	88.13	89.12	88.73	88.30	90.69
6	95.71	91.03	92.63	92.17	90.83	95.14	95.69	90.46	90.34	94.81	93.06	94.74
7	89.37	90.35	88.97	88.03	88.89	90.03	90.48	87.49	88.60	89.42	87.30	91.42

FE2	CONTROL			Cd			Cd+Pb			Cd+Cu			Cd+Pb+Cu		
DÍA	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	100.00	100.00	100.00	96.26	92.49	93.03	99.18	97.25	99.08	99.64	99.58	99.37	83.03	73.98	82.31
2	99.72	99.72	99.53	95.23	93.78	96.73	98.80	98.29	98.87	99.52	99.32	99.54	97.74	93.77	95.66
3	99.36	99.63	99.46	97.13	97.76	97.14	96.52	99.06	93.85	93.13	98.05	98.96	77.33	80.45	95.93
4	99.32	99.79	99.45	95.64	98.12	95.43	91.95	99.06	98.10	81.03	99.15	99.05	0.00	27.59	20.54
5	98.78	99.87	99.89	93.80	96.79	98.56	92.18	99.16	98.35	92.63	99.18	98.93	75.05	89.05	90.00
6	97.37	99.01	98.99	97.44	95.26	98.19	97.38	98.43	98.98	81.67	97.78	99.58	82.69	97.96	95.14
7	98.79	98.68	98.63	98.42	97.36	99.15	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE

**Tabla 1. 4.** Datos relativizados del porcentaje de consumo de alimento en 24 horas para cada día.

FE1	Pb			Cu			Pb+Cu		
DÍA	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	104.03	94.42	94.03	106.01	95.14	89.36	99.27	95.28	98.10
2	87.49	95.52	94.72	103.46	94.12	98.58	100.03	100.72	98.57
3	98.98	98.07	102.13	102.41	95.24	99.67	98.02	97.84	102.36
4	97.27	94.11	104.70	103.73	104.74	100.17	98.49	102.31	106.12
5	96.27	97.83	100.98	101.32	99.25	100.37	99.94	99.45	102.14
6	98.98	97.54	102.17	102.76	97.14	97.01	101.82	99.94	101.74
7	98.29	99.25	100.52	101.02	97.68	98.92	99.83	97.48	102.07

FE2	Cd			Cd+Pb			Cd+Cu			Cd+Pb+Cu		
DÍA	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	96.26	92.49	93.03	99.18	97.25	99.08	99.64	99.58	99.37	83.03	73.98	82.31
2	95.56	94.10	97.06	99.14	98.63	99.21	99.86	99.66	99.89	98.08	94.10	95.99
3	97.64	98.27	97.64	97.02	99.58	94.34	93.61	98.56	99.48	77.73	80.87	96.43
4	96.10	98.60	95.89	92.40	99.54	98.57	81.43	99.63	99.53	0.00	27.72	20.64
5	94.26	97.26	99.05	92.63	99.64	98.83	93.09	99.66	99.42	75.42	89.49	90.44
6	98.97	96.75	99.73	98.91	99.98	100.53	82.95	99.31	101.15	83.98	99.50	96.64
7	99.72	98.65	100.46	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE



Tabla 1. 5. Ingestión media (mg de materia orgánica) por individuo y día.

FE1	CONTROL			Pb			Cu			Pb + Cu		
DÍA	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	8.44	8.07	7.74	7.81	7.09	7.06	7.96	7.14	6.71	7.45	7.15	7.36
2	9.90	10.08	9.36	8.30	9.67	9.61	9.67	9.48	10.31	9.80	10.14	9.74
3	9.72	9.83	10.18	11.01	10.31	10.82	9.94	10.13	10.24	9.86	9.81	10.44
4	8.60	8.80	8.16	8.35	8.12	8.65	8.49	9.32	8.47	8.46	8.80	8.72
5	9.60	8.37	9.28	9.61	9.95	9.59	9.68	9.48	9.83	9.90	9.62	9.61
6	10.64	9.72	10.29	10.76	10.49	10.61	10.64	10.24	11.08	10.72	10.53	10.45
7	9.18	8.50	8.22	9.42	9.65	9.30	9.29	9.51	10.51	9.28	9.23	9.48

FE2	CONTROL			Cd			Cd+Pb			Cd + Cu			Cd+Pb+Cu		
DÍA	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	7.67	7.67	7.67	7.38	7.09	7.13	7.00	6.71	6.83	7.01	6.86	6.88	5.76	5.10	5.67
2	6.87	6.87	6.86	6.68	6.69	6.88	8.29	8.37	8.30	8.31	8.30	8.34	9.35	8.60	8.42
3	8.30	8.32	8.32	8.42	8.58	8.32	7.95	8.21	7.73	7.62	8.04	8.09	7.03	7.01	8.17
4	8.14	8.15	8.14	8.02	8.18	8.00	6.45	6.74	7.09	5.91	6.83	7.36	0.00	0.64	0.40
5	6.69	6.73	6.75	6.59	6.63	6.94	6.88	7.01	7.01	7.60	7.00	7.63	6.78	7.43	6.22
6	8.13	8.80	8.80	7.26	6.89	6.99	8.84	8.42	8.52	7.43	8.36	9.31	8.47	10.88	8.74
7	8.61	8.47	8.46	8.55	8.60	8.55	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE

**Tabla 1. 6.** Ingestión total de materia orgánica (IT) por individuo.

	CONTROL			Pb			Cu			Pb+Cu		
FE 1	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
IT	56,90	54,87	55,01	55,83	55,63	56,34	56,38	55,80	56,64	56,18	56,05	56,32

	CONTROL			Cd			Cd+Pb			Cd + Cu			Cd+Pb+Cu		
FE 2	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
IT	45,79	46,54	46,54	44,34	44,06	44,25	45,41	45,45	45,48	43,88	45,39	47,60	37,40	39,66	37,62

**Tabla 1. 7.** Datos relativizados de la ingestión de materia orgánica por tanque y día

<b>FE 1</b>	<b>CONTROL</b>			<b>Pb</b>			<b>Cu</b>		
<b>DÍA</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
<b>1</b>	96,63	87,71	87,35	98,47	88,38	83,01	92,22	88,51	91,13
<b>2</b>	84,84	98,87	98,30	98,92	96,96	105,44	100,24	103,66	99,56
<b>3</b>	111,06	104,07	109,18	100,30	102,25	103,33	99,46	98,95	105,34
<b>4</b>	98,05	95,26	101,48	99,69	109,35	99,46	99,28	103,28	102,35
<b>5</b>	105,81	109,60	105,65	106,56	104,45	108,21	109,04	105,99	105,88
<b>6</b>	105,30	102,65	103,80	104,15	100,21	108,42	104,84	103,07	102,26
<b>7</b>	109,21	111,77	107,81	107,69	110,22	121,84	107,52	107,00	109,88

<b>FE 2</b>	<b>CONTROL</b>			<b>Cd</b>			<b>Cd+Pb</b>			<b>Cd + Cu</b>		
<b>DÍA</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
<b>1</b>	96,21	92,45	92,98	91,30	87,46	89,01	91,44	89,46	89,67	75,05	66,47	73,94
<b>2</b>	97,18	97,33	100,16	120,62	121,89	120,79	121,03	120,84	121,33	136,16	125,19	122,52
<b>3</b>	101,27	103,21	100,09	95,70	98,76	92,99	91,66	96,71	97,38	84,63	84,32	98,36
<b>4</b>	98,54	100,48	98,29	79,21	82,79	87,15	72,55	83,86	90,40	0,00	7,89	4,89
<b>5</b>	98,06	98,72	103,25	102,34	104,25	104,29	113,11	104,21	113,48	100,96	110,62	92,52
<b>6</b>	84,60	80,31	81,41	103,02	98,12	99,33	86,59	97,44	108,49	98,70	126,79	101,84
<b>7</b>	100,42	101,09	100,46									

**Tabla 1. 8.** Datos relativizados de la ingestión total de materia orgánica (IT) por individuo.

	Pb			Cu			Pb+Cu		
FE 1	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
IT	100,44	100,07	101,35	101,43	100,38	101,89	101,07	100,83	101,32

	Cd			Cd+Pb			Cd + Cu			Cd+Pb+Cu		
FE 2	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
IT	95,79	95,18	95,60	98,09	98,19	98,25	94,80	98,05	102,83	80,79	85,68	81,26

**Tabla 2. 1.** Medidas biométricas de los mejillones utilizados en la Fase Experimental 1 una vez finalizado el tiempo de exposición. Peso=gramos.  $p$ =ANOVA o \*Kruskal Wallis.

		REPLICA 1					REPLICA 2					REPLICA 3					$p$
		N	x	SD	m	M	N	x	SD	m	M	N	x	SD	m	M	
<b>CONTROL</b>	<b>V</b>	12	3,9	0,4	3,08	4,69	12	3,99	0,61	3,35	5,72	12	3,94	0,34	3,46	4,55	
	<b>GD</b>	12	0,19	0,03	0,14	0,24	11	0,19	0,04	0,12	0,27	12	0,20	0,01	0,18	0,21	0,32 *
	<b>BR</b>	12	0,29	0,03	0,24	0,34	12	0,33	0,07	0,22	0,47	12	0,33	0,03	0,28	0,38	0,11
	<b>RE</b>	11	1,11	0,17	0,89	1,43	12	1,20	0,22	0,86	1,54	12	1,21	0,17	1,04	1,53	0,50 *
	<b>TB</b>	11	1,59	0,18	1,32	1,88	12	1,73	0,30	1,20	2,22	12	1,74	0,20	1,55	2,07	0,29 *
	<b>IHS</b>	11	0,12	0,02	0,08	0,14	11	0,11	0,01	0,09	0,12	12	0,11	0,01	0,09	0,13	0,36 *
	<b>IB</b>	11	0,18	0,02	0,14	0,23	12	0,19	0,03	0,16	0,25	12	0,19	0,01	0,17	0,21	0,58
	<b>IR</b>	11	0,70	0,04	0,64	0,76	12	0,70	0,03	0,64	0,73	12	0,69	0,02	0,66	0,74	0,99 *
	<b>IC val</b>	11	41,29	6,06	32,89	54,84	12	43,55	5,85	32,11	53,38	12	44,13	3,16	37,79	49,36	0,40
	<b>IC vol</b>	11	17,10	2,18	13,40	21,03	12	18,66	2,54	14,83	23,77	12	19,11	1,87	16,48	23,68	0,89
	<b>IC</b>	11	29,11	2,94	24,75	35,42	12	30,23	2,86	24,30	34,80	12	30,59	1,54	27,42	33,05	0,36
<b>Pb</b>	<b>V</b>	12	3,84	0,51	3,09	4,45	12	3,79	0,49	3,28	4,49	12	3,88	0,45	3,17	4,56	
	<b>GD</b>	12	0,20	0,04	0,14	0,26	12	0,20	0,03	0,14	0,25	12	0,20	0,04	0,11	0,25	0,99
	<b>BR</b>	12	0,31	0,04	0,23	0,38	12	0,32	0,03	0,26	0,36	11	0,32	0,03	0,28	0,37	0,64 *
	<b>RE</b>	12	1,11	0,16	0,81	1,38	12	1,20	0,13	1,00	1,41	12	1,12	0,13	0,88	1,30	0,20
	<b>TB</b>	12	1,62	0,19	1,37	1,93	12	1,72	0,16	1,50	1,99	12	1,63	0,20	1,13	1,82	0,29
	<b>IHS</b>	12	0,12	0,03	0,09	0,19	12	0,11	0,01	0,09	0,13	12	0,12	0,02	0,10	0,16	0,49
	<b>IB</b>	12	0,20	0,02	0,17	0,23	12	0,19	0,03	0,15	0,23	11	0,19	0,02	0,16	0,22	0,79
	<b>IR</b>	12	0,68	0,04	0,59	0,72	12	0,70	0,02	0,66	0,73	12	0,69	0,03	0,66	0,78	0,49 *
	<b>IC val</b>	12	42,52	5,47	32,96	49,07	12	46,15	6,76	36,57	59,31	12	42,12	4,26	34,01	48,47	0,17
	<b>IC vol</b>	12	18,20	1,93	15,48	22,15	12	18,80	1,59	15,65	21,38	12	17,56	1,57	13,63	19,90	0,68
	<b>IC</b>	12	29,74	2,75	24,79	32,92	12	31,45	3,06	26,78	37,23	12	0,20	0,04	0,11	0,25	0,18
<b>Cu</b>	<b>v</b>	12	3,7	0,42	2,82	4,3	12	3,78	0,55	3	4,9	11	4,04	0,39	3,55	4,98	
	<b>GD</b>	12	0,19	0,04	0,10	0,27	12	0,19	0,03	0,15	0,24	11	0,20	0,02	0,15	0,24	0,91
	<b>BR</b>	12	0,32	0,06	0,26	0,43	12	0,32	0,06	0,23	0,42	11	0,33	0,06	0,25	0,40	0,93
	<b>RE</b>	12	1,21	0,26	0,79	1,63	12	1,28	0,29	0,86	1,74	11	1,20	0,23	0,84	1,62	0,72
	<b>TB</b>	12	1,72	0,33	1,14	2,32	12	1,80	0,34	1,38	2,40	11	1,73	0,26	1,28	2,15	0,82
	<b>IHS</b>	12	0,11	0,02	0,08	0,14	12	0,11	0,01	0,09	0,12	11	0,11	0,02	0,08	0,14	0,59
	<b>IB</b>	12	0,19	0,03	0,15	0,25	12	0,18	0,04	0,14	0,27	11	0,19	0,03	0,13	0,25	0,71
	<b>IR</b>	12	0,70	0,04	0,61	0,75	12	0,71	0,04	0,63	0,76	11	0,69	0,04	0,61	0,75	0,57
	<b>IC val</b>	12	47,09	10,23	26,54	67,31	12	47,71	7,56	32,43	63,85	11	43,08	7,56	32,11	54,87	0,39
	<b>IC vol</b>	12	19,28	3,59	13,72	24,56	12	18,57	2,25	15,14	22,34	11	18,55	1,79	15,83	20,81	0,27
	<b>IC</b>	12	31,71	4,84	20,97	40,23	12	32,14	3,48	24,49	38,97	11	29,93	3,70	24,30	35,43	0,40
<b>Pb + Cu</b>	<b>V</b>	12	4,08	0,50	3,36	5,01	12	3,79	0,49	3,12	4,40	12	3,83	0,37	3,23	4,51	
	<b>GD</b>	12	0,20	0,03	0,14	0,24	12	0,18	0,04	0,10	0,26	12	0,20	0,02	0,17	0,22	0,49
	<b>BR</b>	12	0,30	0,04	0,25	0,38	12	0,32	0,06	0,18	0,40	12	0,34	0,06	0,24	0,42	0,29
	<b>RE</b>	12	1,16	0,18	0,82	1,40	12	1,15	0,25	0,80	1,56	12	1,10	0,29	0,70	1,75	0,84
	<b>TB</b>	12	1,65	0,21	1,21	1,94	12	1,65	0,29	1,17	2,13	12	1,63	0,33	1,27	2,36	0,98
	<b>IHS</b>	12	0,12	0,01	0,10	0,14	12	0,11	0,02	0,08	0,15	12	0,12	0,02	0,08	0,18	0,27
	<b>IB</b>	12	0,18	0,02	0,15	0,23	12	0,19	0,04	0,13	0,25	12	0,21	0,03	0,16	0,27	0,17
	<b>IR</b>	12	0,70	0,02	0,65	0,73	12	0,70	0,05	0,63	0,77	12	0,67	0,05	0,55	0,74	0,21
	<b>IC val</b>	12	40,98	6,70	29,79	50,60	12	43,61	6,08	37,03	57,99	12	43,11	10,45	29,47	69,06	0,70
	<b>IC vol</b>	12	17,79	1,78	14,53	20,49	12	17,85	3,23	12,79	23,83	12	17,01	2,81	11,98	22,09	0,67
	<b>IC</b>	12	28,92	3,44	22,95	33,60	12	30,26	2,84	27,02	36,71	12	29,80	4,79	22,76	40,85	0,68

**Tabla 2. 2.** Medidas biométricas de los mejillones utilizados en la Fase Experimental 2 una vez finalizado el tiempo de exposición. Peso=gramos.  $p$ =ANOVA o \*Kruskal Wallis.

		REPLICA 1					REPLICA 2					REPLICA 3					<i>p</i>
		N	x	SD	m	M	N	x	SD	m	M	N	x	SD	m	M	
CONTROL	V	12	4,03	0,35	3,46	4,6	12	3,79	0,59	3,18	5,06	12	4,03	0,77	3,2	5,98	
	GD	11	0,17	0,03	0,13	0,22	12	0,14	0,02	0,12	0,18	12	0,16	0,03	0,09	0,20	0,09
	BR	11	0,31	0,06	0,23	0,41	12	0,33	0,05	0,27	0,43	12	0,32	0,05	0,27	0,39	0,72
	RE	11	0,84	0,19	0,60	1,19	12	0,79	0,12	0,67	1,01	12	0,83	0,09	0,65	0,99	0,59
	TB	11	1,32	0,22	0,99	1,74	12	1,26	0,12	1,07	1,49	12	1,31	0,14	1,01	1,54	0,64
	IHS	11	0,13	0,02	0,09	0,16	12	0,11	0,02	0,08	0,14	12	0,12	0,02	0,09	0,14	0,12
	IB	11	0,24	0,05	0,15	0,34	12	0,26	0,04	0,21	0,34	12	0,24	0,02	0,21	0,28	0,25
	IR	11	0,63	0,06	0,54	0,76	12	0,62	0,05	0,53	0,68	12	0,64	0,02	0,60	0,67	0,75
	IC val	12	30,74	11,40	0,00	45,35	12	34,00	5,89	23,53	44,59	12	33,42	6,51	24,00	45,09	0,97
	IC vol	11	14,64	1,32	12,80	16,56	12	13,57	1,66	11,26	16,94	12	14,40	1,75	10,29	17,03	0,78
IC	11	24,96	3,50	19,32	31,20	12	25,24	3,31	19,05	30,84	12	24,89	3,64	19,35	31,08	0,97	
Cd	V	12	3,73	0,40	3,05	4,34	12	3,94	0,44	3,30	4,63	12	3,87	0,46	2,92	4,49	
	GD	12	0,15	0,04	0,08	0,20	12	0,17	0,33	0,12	0,24	12	0,15	0,04	0,06	0,20	0,30
	BR	12	0,31	0,05	0,25	0,39	12	0,31	0,04	0,23	0,39	12	0,29	0,03	0,24	0,36	0,22
	RE	12	0,77	0,11	0,63	0,93	12	0,81	0,10	0,70	0,98	12	0,79	0,17	0,58	1,04	0,73
	TB	12	1,23	0,18	0,98	1,51	12	1,30	0,13	1,12	1,51	12	1,22	0,22	0,94	1,58	0,54
	IHS	12	0,12	0,02	0,08	0,15	12	0,13	0,02	0,11	0,17	12	0,12	0,02	0,06	0,15	0,32
	IB	12	0,25	0,03	0,22	0,31	12	0,24	0,03	0,19	0,29	12	0,24	0,03	0,19	0,29	0,40
	IR	12	0,63	0,03	0,56	0,66	12	0,63	0,03	0,57	0,67	12	0,64	0,03	0,58	0,68	0,36*
	IC val	12	33,01	4,14	24,85	40,68	12	33,31	4,97	25,81	41,90	12	31,65	4,51	25,58	37,69	0,64
	IC vol	12	13,50	1,72	10,54	15,65	12	14,07	1,54	11,38	16,28	12	13,49	1,90	10,31	17,09	0,89
IC	12	24,75	2,36	19,90	28,91	12	24,90	2,79	20,52	29,53	12	23,96	2,60	20,37	27,37	0,64	
Cd + Pb	V	12	3,86	0,46	3,2	4,35	12	3,83	0,45	3,11	4,67	12	3,83	0,45	3,06	4,48	
	GD	12	0,16	0,03	0,12	0,23	12	0,15	0,02	0,12	0,20	12	0,14	0,02	0,10	0,16	0,08
	BR	12	0,29	0,04	0,22	0,35	12	0,31	0,05	0,26	0,41	12	0,31	0,04	0,27	0,38	0,20
	RE	12	0,80	0,16	0,56	1,05	12	0,75	0,09	0,62	0,91	12	0,77	0,12	0,56	0,95	0,57
	TB	12	1,25	0,19	0,94	1,55	12	1,22	0,12	1,07	1,49	12	1,22	0,14	0,98	1,41	0,87
	IHS	12	0,13	0,02	0,10	0,15	12	0,13	0,02	0,10	0,17	12	0,11	0,01	0,10	0,13	0,03*
	IB	12	0,23	0,03	0,18	0,29	12	0,26	0,03	0,21	0,31	12	0,26	0,03	0,22	0,31	0,08
	IR	12	0,64	0,04	0,57	0,70	12	0,62	0,04	0,56	0,69	12	0,63	0,03	0,57	0,68	0,28
	IC val	12	32,46	3,65	26,71	38,44	12	32,14	4,34	25,84	39,05	12	32,35	5,55	25,58	40,88	0,99
	IC vol	12	13,75	1,70	10,37	16,28	12	13,73	1,48	10,55	15,72	12	13,22	1,74	10,37	15,81	0,54
IC	12	24,45	2,09	21,08	27,77	12	24,25	2,50	20,53	28,09	12	24,32	3,11	20,37	29,02	0,98	
Cd + Cu	V	12	3,65	0,53	2,78	4,42	12	3,71	0,47	2,83	4,45	12	3,79	0,45	3,08	4,43	
	GD	11	0,14	0,02	0,11	0,19	12	0,17	0,04	0,11	0,23	12	0,15	0,04	0,06	0,19	0,17
	BR	11	0,32	0,04	0,25	0,39	12	0,30	0,05	0,21	0,37	12	0,34	0,07	0,27	0,52	0,16
	RE	11	0,76	0,15	0,50	0,96	12	0,86	0,16	0,53	1,21	12	0,74	0,17	0,47	1,02	0,16
	TB	11	1,21	0,17	0,88	1,46	12	1,33	0,22	0,93	1,72	12	1,23	0,24	0,86	1,57	0,40
	IHS	11	0,12	0,02	0,08	0,15	12	0,13	0,02	0,10	0,16	11	0,12	0,01	0,11	0,14	0,60
	IB	11	0,26	0,03	0,19	0,30	12	0,23	0,03	0,17	0,30	12	0,28	0,04	0,21	0,34	0,00
	IR	11	0,62	0,05	0,57	0,73	12	0,65	0,05	0,57	0,71	12	0,60	0,04	0,54	0,66	0,03
	IC val	11	32,92	4,41	26,99	43,33	12	36,07	6,14	23,43	43,21	12	32,47	4,81	23,77	38,05	0,20
	IC vol	11	9,62	0,60	8,22	10,61	12	9,31	1,07	7,61	11,25	12	9,30	0,89	7,69	10,57	0,64
IC	11	24,70	2,42	21,25	30,23	12	26,37	3,45	18,99	30,17	12	24,42	2,80	19,20	27,56	0,23	
Cd + Pb + Cu	V	9	3,89	0,48	3,08	4,63	10	3,72	0,73	2,72	4,57	12	4,03	0,54	3,24	5,32	
	GD	8	0,14	0,03	0,10	0,20	10	0,13	0,04	0,06	0,19	11	0,13	0,04	0,06	0,18	0,83
	BR	8	0,28	0,08	0,14	0,38	10	0,25	0,09	0,10	0,35	10	0,25	0,06	0,11	0,35	0,60
	RE	8	0,83	0,03	0,76	0,87	10	0,73	0,07	0,64	0,85	11	0,75	0,16	0,45	0,99	0,07*
	TB	8	1,25	0,10	1,06	1,36	10	1,10	0,14	0,89	1,34	10	1,17	0,21	0,76	1,44	0,18
	IHS	8	0,11	0,02	0,08	0,14	10	0,12	0,03	0,06	0,16	10	0,11	0,02	0,07	0,14	0,86
	IB	8	0,22	0,05	0,13	0,29	9	0,23	0,05	0,16	0,30	10	0,22	0,04	0,14	0,25	0,74
	IR	8	0,67	0,06	0,61	0,78	10	0,67	0,08	0,55	0,79	11	0,68	0,05	0,63	0,79	0,80
	IC val	8	33,17	4,62	27,36	40,49	10	30,64	6,83	22,86	43,05	11	28,24	7,47	11,02	36,51	0,83
	IC vol	8	13,39	2,00	11,12	15,54	10	12,52	1,74	9,16	15,06	11	12,51	3,16	5,65	17,14	0,19
IC	8	24,83	2,60	21,48	28,82	10	23,27	3,91	18,61	30,10	10	22,95	3,09	16,93	26,75	0,46	

**Tabla 2. 3.** Medidas biométricas de los mejillones relativizadas con respecto a su control. Fase experimental 1.  $p$ =ANOVA o \*Kruskal Wallis.

	Tejido Índice	REPLICA 1					REPLICA 2					REPLICA 3					$p$
		N	x	SD	m	M	N	x	SD	m	M	N	x	SD	m	M	
<b>Pb</b>	<b>GD</b>	12	102.53	20.95	73.76	138.10	12	102.70	15.89	73.23	131.82	12	103.83	22.17	56.49	129.20	0.99
	<b>BR</b>	12	98.18	11.97	73.13	117.50	12	101.41	9.98	81.56	112.50	11	101.16	9.21	87.19	116.25	0.64*
	<b>RE</b>	12	93.67	13.54	68.64	117.29	12	102.03	11.35	84.75	119.49	12	94.94	10.90	74.58	109.83	0.20
	<b>TB</b>	12	95.59	11.13	80.77	114.26	12	102.06	9.38	88.70	117.57	12	96.30	11.99	66.98	107.57	0.29
	<b>IHS</b>	12	106.77	23.47	78.60	163.32	12	98.98	9.49	81.22	115.28	12	105.75	15.93	82.97	135.37	0.49
	<b>IB</b>	12	103.11	10.10	87.21	122.62	12	100.16	13.33	81.40	122.09	11	102.63	9.17	86.68	115.22	0.79
	<b>IR</b>	12	98.22	5.25	85.38	103.21	12	100.29	3.11	95.27	105.04	12	99.31	4.70	95.05	111.85	0.51*
	<b>IC val</b>	12	98.80	12.72	76.59	114.01	12	107.22	15.71	84.97	137.81	12	97.86	9.89	79.03	112.62	0.17
	<b>IC vol</b>	12	96.41	12.34	66.46	117.70	12	99.18	8.09	85.87	113.88	12	99.95	9.77	86.86	117.64	0.68
	<b>IC</b>	12	99.13	9.17	82.63	109.73	12	104.82	10.21	89.26	124.10	12	98.59	7.15	84.60	108.83	0.18
<b>Cu</b>	<b>GD</b>	12	99.65	21.73	49.69	139.14	12	100.83	13.12	77.42	125.54	11	102.57	12.78	80.56	124.50	0.91
	<b>BR</b>	12	100.68	17.38	80.31	132.81	12	99.95	18.03	70.63	132.50	11	102.67	18.24	77.19	125.63	0.93
	<b>RE</b>	12	102.35	22.36	66.86	137.97	12	108.68	24.33	73.22	147.29	11	102.02	19.87	71.10	137.29	0.72
	<b>TB</b>	12	101.80	19.31	67.51	137.22	12	106.21	19.95	81.78	142.13	11	102.28	15.50	75.80	127.28	0.82
	<b>IHS</b>	12	96.87	14.54	72.49	121.40	12	94.98	8.85	82.10	106.55	11	100.36	13.48	71.62	120.52	0.59
	<b>IB</b>	12	100.51	16.62	76.64	132.66	12	95.84	18.57	72.94	141.65	11	101.62	18.46	68.18	133.72	0.71
	<b>IR</b>	12	100.54	5.49	88.23	107.93	12	102.16	5.35	89.95	109.45	11	99.68	6.21	87.98	108.37	0.57
	<b>IC val</b>	12	109.42	23.76	61.65	156.38	12	110.85	17.56	75.34	148.35	11	100.08	17.56	74.59	127.49	0.39
	<b>IC vol</b>	12	96.51	9.24	79.41	109.32	12	103.93	13.13	88.05	138.82	11	100.29	10.43	80.11	114.11	0.21*
	<b>IC</b>	12	105.69	16.12	69.90	134.09	12	107.13	11.59	81.63	129.90	11	99.76	12.33	81.00	118.10	0.40
<b>Pb + Cu</b>	<b>GD</b>	12	102.22	16.43	71.14	125.02	12	94.85	22.71	52.83	137.05	12	102.05	9.50	88.40	116.13	0.49
	<b>BR</b>	12	93.80	11.72	77.81	117.19	12	98.91	19.62	55.63	125.63	12	104.77	17.89	75.00	131.56	0.29
	<b>RE</b>	12	97.91	14.84	69.83	118.22	12	97.75	21.35	67.54	132.46	12	93.46	24.38	59.41	147.88	0.84
	<b>TB</b>	12	97.69	12.64	71.54	114.62	12	97.71	17.45	69.23	126.15	12	96.64	19.55	74.91	139.35	0.98
	<b>IHS</b>	12	103.49	11.24	83.84	123.14	12	96.07	18.14	68.12	129.26	12	107.35	20.18	73.36	152.84	0.27
	<b>IB</b>	12	96.86	12.25	80.34	121.04	12	102.67	20.26	70.82	133.19	12	109.89	15.75	81.92	143.23	0.17
	<b>IR</b>	12	100.45	3.57	93.93	105.42	12	100.12	7.36	90.62	111.27	12	96.27	7.20	79.67	106.62	0.21
	<b>IC val</b>	12	95.21	15.57	69.21	117.55	12	101.32	14.12	86.03	134.74	12	100.16	24.28	68.47	160.46	0.70
	<b>IC vol</b>	12	100.34	11.16	75.81	117.99	12	100.12	9.59	87.66	114.61	12	103.55	10.31	87.18	115.44	0.67
	<b>IC</b>	12	96.39	11.47	76.50	112.00	12	100.85	9.48	90.06	122.36	12	99.34	15.96	75.86	136.16	0.68

**Tabla 2. 4.** Medidas biométricas de los mejillones relativizadas con respecto a su control. Fase experimental 2. *p*=ANOVA o \*Kruskal Wallis.

		RÉPLICA 1					REPLICA 2					REPLICA 3					<i>p</i>
Tejido Índice		N	x	SD	m	M	N	x	SD	m	M	N	x	SD	m	M	
Cd	GD	12	93.88	27.45	51.27	128.48	12	108.49	21.20	77.22	151.90	12	95.36	25.97	37.97	129.11	0.30
	BR	12	96.95	15.61	76.56	120.94	12	98.28	13.91	73.13	121.88	12	89.17	10.77	75.00	112.81	0.22
	RE	12	93.82	13.80	76.22	113.78	12	98.90	11.63	84.88	119.39	12	95.80	20.31	70.49	126.59	0.73
	TB	12	94.67	14.05	75.48	116.04	12	99.99	10.37	86.28	116.65	12	94.19	17.05	72.17	122.05	0.54
	IHS	12	97.40	18.31	65.57	123.77	12	108.13	15.24	86.07	136.07	12	100.34	19.51	52.46	123.77	0.32
	IB	12	102.28	11.39	88.31	123.79	12	98.05	12.42	78.23	116.13	12	95.63	12.12	77.42	118.55	0.40
	IR	12	99.60	4.78	88.68	104.49	12	99.24	4.62	89.72	105.60	12	101.66	5.45	92.71	107.86	0.38*
	IC val	12	98.08	12.31	73.84	120.87	12	98.99	14.77	76.70	124.50	12	94.05	13.40	76.00	112.00	0.64
	IC vol	12	99.39	11.60	80.41	117.31	12	100.55	5.70	90.56	108.91	12	98.58	11.05	81.98	117.29	0.89
	IC	12	98.87	9.42	79.50	115.50	12	99.46	11.16	81.98	117.98	12	95.72	10.39	81.38	109.35	0.64
Cd + Pb	GD	12	100.32	19.13	73.42	142.41	12	96.84	14.71	78.48	125.32	12	86.02	12.14	63.92	103.80	0.08
	BR	12	89.77	12.29	67.50	108.13	12	98.41	15.49	80.63	126.88	12	98.18	10.98	85.31	118.13	0.20
	RE	12	98.04	18.94	68.17	127.56	12	91.43	11.34	75.24	111.10	12	94.40	14.09	67.68	115.49	0.57
	TB	12	96.35	14.91	72.55	119.81	12	93.88	9.24	82.27	115.11	12	94.38	11.11	75.17	109.02	0.87
	IHS	12	104.10	13.05	85.25	122.95	12	103.14	13.31	80.33	137.70	12	91.05	9.04	78.69	103.28	0.03*
	IB	12	93.75	13.08	70.97	114.92	12	104.37	13.35	83.87	124.19	12	104.17	11.11	87.10	122.98	0.08
	IR	12	101.66	6.29	90.31	111.37	12	97.67	6.55	89.35	110.09	12	100.09	5.33	90.35	107.83	0.28
	IC val	12	96.45	10.84	79.38	114.22	12	95.51	12.89	76.77	116.05	12	96.14	16.48	76.01	121.48	0.99
	IC vol	12	98.90	8.73	85.19	117.69	12	97.15	10.13	79.48	113.54	12	101.19	7.50	88.44	113.22	0.54
	IC	12	97.69	8.34	84.22	110.95	12	96.87	10.00	82.02	112.23	12	97.18	12.43	81.38	115.94	0.98
Cd + Cu	GD	11	89.36	14.02	67.72	117.09	12	105.75	24.37	67.72	142.41	12	93.30	23.04	38.61	120.89	0.17
	BR	11	98.44	13.72	77.19	122.50	12	93.36	16.07	64.38	114.38	12	107.42	22.03	84.69	162.19	0.16
	RE	11	92.13	18.18	60.73	117.20	12	104.82	19.94	64.63	147.56	12	90.35	20.38	56.95	124.76	0.16
	TB	11	93.42	13.30	67.62	112.72	12	102.18	16.60	71.55	132.92	12	94.99	18.66	66.15	120.74	0.40
	IHS	11	97.02	17.46	66.39	123.77	12	103.07	15.61	79.51	131.97	11	101.12	8.49	88.52	113.93	0.60
	IB	11	105.79	13.04	77.42	122.58	12	91.63	13.96	70.16	118.95	12	113.98	17.23	83.87	136.29	0.00
	IR	11	98.34	7.30	90.13	115.47	12	102.68	7.28	90.65	113.01	12	94.99	5.61	86.19	104.60	0.03
	IC val	11	97.84	13.11	80.19	128.77	12	107.19	18.25	69.64	128.40	12	96.49	14.29	70.63	113.07	0.20
	IC vol	11	104.66	6.55	89.49	115.48	12	101.36	11.64	82.79	122.45	12	101.25	9.74	83.68	115.06	0.64
	IC	11	98.66	9.68	84.90	120.78	12	105.34	13.77	75.87	120.54	12	97.55	11.19	76.71	110.11	0.23
Cd + Pb + Cu	GD	8	88.13	19.47	65.19	123.42	10	82.03	26.01	36.08	119.62	11	82.62	22.16	34.81	111.39	0.83
	BR	8	87.89	24.90	42.19	118.44	10	76.56	26.75	30.63	108.75	10	79.53	19.84	34.06	109.38	0.60
	RE	8	100.85	4.07	92.32	106.59	10	88.80	9.11	78.05	103.78	11	91.52	19.11	55.24	120.12	0.07*
	TB	8	96.18	7.68	81.96	104.47	10	85.03	10.42	68.93	103.55	10	89.82	16.07	58.91	111.26	0.18
	IHS	8	90.98	15.53	65.57	118.03	10	94.51	21.48	52.46	127.87	10	90.25	15.92	59.02	114.75	0.86
	IB	8	89.72	21.40	51.21	116.94	9	93.86	18.89	63.31	119.76	10	87.42	14.23	57.66	102.42	0.74
	IR	8	105.77	8.95	96.36	123.19	10	105.69	12.40	86.75	125.60	11	108.30	8.41	99.25	124.66	0.80
	IC val	8	98.58	13.72	81.30	120.31	10	91.04	20.30	67.94	127.93	11	83.93	22.21	32.73	108.50	0.15
	IC vol	8	102.63	10.59	87.35	117.65	10	96.49	8.92	84.56	107.78	11	97.76	8.80	85.57	112.93	0.37
	IC	8	99.20	10.38	85.82	115.14	10	92.96	15.64	74.35	120.26	10	91.70	12.35	67.64	106.87	0.46



**Tabla 3. 1.** Actividad fenoloxidasa. UA/mg proteína para cada grupo de exposición. Fases experimental 1 y 2.  $p$ =ANOVA o \* Kruskal Wallis.

Tratamiento	R1					R2					R3					$p$
	n	Media	SD	Mín	Máx	n	Media	SD	Mín	Máx	n	Media	SD	Mín	Máx	
<b>C1</b>	5	59,99	7,04	51,77	68,22	5	81,38	27,86	53,75	120,65	5	82,42	12,81	68,33	97,55	0.06*
<b>Pb</b>	4	77,95	28,56	50,75	116,29	5	79,45	15,91	58,13	97,54	5	167,09	96,63	88,16	310,76	0.06*
<b>Cu</b>	5	95,55	24,81	77,35	138,39	5	128,16	53,02	61,16	184,82	4	141,08	140,91	38,97	348	0.61*
<b>Pb+Cu</b>	5	182,73	140,52	59,32	391,194	5	196,36	205,49	85,62	560,66	3	98,43	29,31	65,12	120,25	0.68
<b>C 2</b>	5	142,03	108,72	58,85	306,1	5	96,75	55,11	56,8	192,77	4	105,12	59,25	44,23	184,93	0.65
<b>Cd</b>	4	75,98	10,63	64,94	90,4	5	79,38	28,28	54,53	125,51	5	174,24	68,96	100,74	285,93	0.02*
<b>Cd+Pb</b>	5	133,95	46,99	66,01	171,19	5	142,21	76,39	60,95	266,8	4	81,42	20,71	50,98	94,57	0.26
<b>Cd+Cu</b>	5	103,74	63,86	44,13	173,38	5	115,83	80,19	48,87	250,68	4	97,79	58,05	61,04	184,21	0.92
<b>Cd+Pb+Cu</b>	3	55,82	24,23	40,31	83,74	4	81,44	15,74	59,15	95,53	4	90,47	31,96	59,12	132,36	0.24

**Tabla 3. 2.** Actividad fenoloxidasa. Datos relativizados para cada grupo de exposición con respecto a su control. Fases experimental 1 y 2.  $p$ =ANOVA o \* Kruskal Wallis.

Tratamiento	R1				R2				R3				$p$
	n	Mediana	Mín.	Máx.	n	Mediana	Mín.	Máx.	n	Mediana	Mín.	Máx.	
<b>Pb</b>	4	105,93	74,27	170,19	5	109,37	85,07	142,75	5	172,40	129,02	454,79	0.06*
<b>Cu</b>	5	125,47	113,20	202,54	5	159,80	89,50	270,48	4	129,78	57,03	509,29	0.61*
<b>Pb+Cu</b>	5	183,56	86,82	572,50	5	134,09	125,30	222,88	3	160,85	95,29	175,99	0.83*
<b>Cd</b>	4	89,92	78,61	109,43	5	93,66	66,01	151,94	5	194,16	121,95	346,12	0.01
<b>Cd+Pb</b>	5	196,35	79,91	207,23	5	144,52	73,78	322,97	4	109,02	61,71	114,48	0.26
<b>Cd+Cu</b>	5	99,31	53,42	209,88	5	113,15	59,16	303,46	4	88,31	73,89	222,99	0.92
<b>Cd+Pb+Cu</b>	3	52,54	48,80	101,37	4	103,54	71,60	115,64	4	103,14	71,56	160,23	0.24

**Tabla 4. 1.** Concentración de Pb, Cd y Cu (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 1.  $p$ =Kruskal Wallis.

		CONTROL														$p$	
		R 1					R 2					R 3					
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.		Máx.
GD	Pb	3	0.22	0.10	0.15	0.33	3	0.12	0.08	0.04	0.19	3	0.23	0.10	0.11	0.30	0.43
	Cd	3	0.23	0.21	0.11	0.47	3	0.15	0.02	0.13	0.17	3	0.23	0.04	0.19	0.26	0.30
	Cu	3	4.22	0.62	3.82	4.94	3	3.50	0.52	3.15	4.10	3	4.24	1.45	3.34	5.91	0.39
BR	Pb	3	0.12	0.03	0.09	0.14	3	0.07	0.02	0.06	0.10	3	0.13	0.09	0.05	0.22	0.39
	Cd	3	0.26	0.16	0.11	0.42	3	0.11	0.10	0.04	0.23	3	0.10	0.14	0.01	0.26	0.29
	Cu	3	0.86	0.03	0.83	0.88	3	0.94	0.08	0.90	1.03	3	0.79	0.12	0.69	0.92	0.19
RE	Pb	3	0.21	0.02	0.19	0.23	3	0.10	0.06	0.06	0.16	3	0.19	0.02	0.17	0.21	0.05
	Cd	3	0.23	0.05	0.19	0.28	3	0.19	0.01	0.18	0.19	3	0.18	0.04	0.15	0.22	0.28
	Cu	3	0.93	0.14	0.77	1.02	3	0.83	0.15	0.67	0.97	3	0.81	0.27	0.57	1.11	0.59
TB	Pb	3	0.20	0.01	0.18	0.20	3	0.09	0.04	0.06	0.14	3	0.18	0.01	0.17	0.19	0.05
	Cd	3	0.24	0.09	0.18	0.34	3	0.17	0.03	0.14	0.20	3	0.17	0.05	0.14	0.23	0.43
	Cu	3	1.35	0.17	1.17	1.52	3	1.17	0.17	0.98	1.30	3	1.20	0.45	0.89	1.71	0.59

		Pb														$p$	
		R 1					R 2					R 3					
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.		Máx.
GD	Pb	3	4.82	1.51	3.23	6.24	3	4.28	0.49	3.75	4.73	3	3.38	0.36	3.15	3.80	0.18
	Cd	3	0.28	0.03	0.25	0.30	3	0.17	0.03	0.15	0.21	3	0.26	0.12	0.16	0.39	0.12
	Cu	3	3.97	0.22	3.73	4.15	3	4.36	0.80	3.48	5.03	3	3.91	0.66	3.28	4.60	0.73
BR	Pb	3	1.31	0.10	1.25	1.43	3	1.00	0.16	0.90	1.18	3	0.94	0.16	0.83	1.12	0.05
	Cd	3	0.36	0.36	0.14	0.78	3	0.24	0.37	0.01	0.67	3	0.33	0.31	0.08	0.67	0.49
	Cu	3	0.95	0.14	0.82	1.09	3	0.83	0.02	0.81	0.85	3	0.84	0.15	0.68	0.98	0.40
RE	Pb	3	1.06	0.20	0.88	1.28	3	1.07	0.39	0.75	1.51	3	0.87	0.12	0.74	0.97	0.56
	Cd	3	0.32	0.09	0.22	0.38	3	0.19	0.06	0.13	0.23	3	0.28	0.04	0.23	0.31	0.18
	Cu	3	0.92	0.12	0.79	1.01	3	0.88	0.07	0.81	0.95	3	0.97	0.12	0.87	1.10	0.56
TB	Pb	3	1.63	0.09	1.53	1.71	3	1.41	0.35	1.16	1.82	3	1.19	0.11	1.07	1.27	0.20
	Cd	3	0.33	0.13	0.21	0.47	3	0.20	0.10	0.12	0.31	3	0.29	0.10	0.19	0.40	0.39
	Cu	3	1.34	0.16	1.18	1.50	3	1.25	0.08	1.16	1.30	3	1.31	0.16	1.13	1.45	0.49

Tabla 4.1. (Continuación).

		Cu														p	
		R 1				R 2				R 3							
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.		Máx.
GD	Pb	3	0.28	0.04	0.25	0.32	3	0.18	0.13	0.03	0.25	3	0.23	0.05	0.17	0.27	0.28
	Cd	3	0.24	0.14	0.13	0.39	2	0.22	0.06	0.18	0.26	3	0.18	0.10	0.06	0.24	0.90
	Cu	3	4.62	1.35	3.67	6.17	3	3.28	0.26	3.03	3.55	3	4.45	0.45	4.17	4.97	0.06
BR	Pb	3	0.11	0.02	0.09	0.13	3	0.12	0.05	0.08	0.17	3	0.13	0.05	0.08	0.17	0.87
	Cd	3	0.07	0.04	0.03	0.11	3	0.33	0.27	0.03	0.55	3	0.12	0.16	0.02	0.30	0.38
	Cu	3	0.97	0.13	0.88	1.12	3	0.87	0.02	0.86	0.89	3	0.82	0.05	0.76	0.86	0.05
RE	Pb	3	0.16	0.06	0.09	0.21	3	0.21	0.05	0.16	0.24	3	0.20	0.05	0.15	0.24	0.38
	Cd	3	0.19	0.02	0.18	0.21	3	0.23	0.11	0.11	0.33	3	0.22	0.09	0.16	0.32	0.84
	Cu	3	0.98	0.23	0.72	1.16	3	0.93	0.09	0.84	1.02	3	1.15	0.12	1.02	1.24	0.19
TB	Pb	3	0.16	0.04	0.12	0.20	3	0.19	0.05	0.14	0.23	3	0.19	0.02	0.17	0.21	0.43
	Cd	3	0.17	0.00	0.16	0.17	3	0.24	0.14	0.09	0.34	3	0.20	0.09	0.14	0.30	0.84
	Cu	3	1.37	0.21	1.16	1.58	3	1.17	0.06	1.10	1.22	3	1.48	0.08	1.39	1.55	0.15

		Pb+Cu														p	
		R 1				R 2				R 3							
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.		Máx.
GD	Pb	3	3.84	1.31	2.33	4.62	3	3.51	0.12	3.37	3.59	3	3.33	0.96	2.71	4.44	0.67
	Cd	3	0.22	0.18	0.09	0.42	3	0.18	0.03	0.15	0.21	3	0.19	0.02	0.17	0.20	0.73
	Cu	3	6.54	3.57	4.34	10.66	3	4.80	0.15	4.62	4.89	3	4.21	0.42	3.95	4.70	0.27
BR	Pb	3	1.13	0.26	0.94	1.43	3	1.43	0.24	1.17	1.64	3	2.06	0.82	1.35	2.96	0.15
	Cd	3	0.03	0.02	0.02	0.05	3	0.10	0.02	0.08	0.12	3	0.09	0.05	0.06	0.14	0.06
	Cu	3	0.78	0.07	0.70	0.83	3	1.23	0.18	1.06	1.41	3	1.49	0.68	0.88	2.23	0.07
RE	Pb	3	0.83	0.18	0.69	1.03	3	0.97	0.06	0.93	1.04	3	0.94	0.12	0.84	1.07	0.39
	Cd	3	0.16	0.06	0.13	0.23	3	0.20	0.06	0.14	0.25	3	0.23	0.12	0.13	0.36	0.58
	Cu	3	0.80	0.12	0.72	0.93	3	1.01	0.29	0.74	1.31	3	0.83	0.18	0.65	1.00	0.47
TB	Pb	3	1.27	0.33	0.94	1.60	3	1.37	0.04	1.33	1.41	3	1.41	0.21	1.23	1.64	0.73
	Cd	3	0.15	0.06	0.11	0.22	3	0.18	0.03	0.14	0.20	3	0.20	0.08	0.12	0.27	0.56
	Cu	3	1.51	0.48	1.21	2.06	3	1.52	0.21	1.32	1.74	3	1.30	0.10	1.22	1.41	0.43

**Tabla 4. 2.** Concentración de Pb, Cd y Cu (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 2. *p*=Kruskal-Wallis.

		CONTROL															<i>p</i>
		R 1					R 2					R 3					
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	
GD	Pb	3	0.38	0.12	0.29	0.51	3	0.39	0.05	0.33	0.44	3	0.66	0.28	0.34	0.87	0.25
	Cd	3	0.55	0.21	0.32	0.74	3	0.53	0.23	0.37	0.79	3	0.61	0.25	0.34	0.84	0.84
	Cu	3	3.27	0.22	3.13	3.53	3	3.66	0.33	3.45	4.04	3	3.15	0.56	2.61	3.72	0.41
BR	Pb	3	0.12	0.02	0.11	0.15	3	0.17	0.13	0.08	0.33	3	0.11	0.04	0.07	0.16	0.96
	Cd	3	0.29	0.08	0.20	0.36	3	0.42	0.21	0.24	0.65	3	0.47	0.43	0.14	0.96	0.84
	Cu	3	0.68	0.04	0.64	0.72	3	0.72	0.09	0.65	0.82	3	0.66	0.05	0.60	0.70	0.88
RE	Pb	3	0.19	0.01	0.18	0.19	3	0.20	0.15	0.06	0.36	3	0.42	0.16	0.24	0.54	0.11
	Cd	3	0.39	0.09	0.29	0.47	3	0.34	0.06	0.27	0.37	3	0.40	0.19	0.19	0.55	0.58
	Cu	3	0.65	0.07	0.58	0.72	3	0.70	0.12	0.58	0.81	3	0.72	0.09	0.62	0.79	0.62
TB	Pb	3	0.20	0.02	0.18	0.22	3	0.22	0.13	0.10	0.36	3	0.37	0.13	0.23	0.47	0.11
	Cd	3	0.39	0.10	0.27	0.46	3	0.38	0.08	0.28	0.44	3	0.44	0.22	0.20	0.64	0.73
	Cu	3	1.04	0.08	0.95	1.10	3	1.05	0.06	1.00	1.12	3	1.00	0.19	0.80	1.17	0.96

		Cd															<i>p</i>
		R 1					R 2					R 3					
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	
GD	Pb	3	0.67	0.17	0.56	0.87	3	0.30	0.12	0.19	0.42	3	0.18	0.08	0.10	0.25	0.05
	Cd	3	13.77	2.90	10.56	16.21	3	16.00	3.11	14.19	19.59	3	12.49	3.82	9.90	16.88	0.67
	Cu	3	3.39	0.39	2.94	3.62	3	3.76	0.62	3.32	4.46	3	3.16	0.54	2.61	3.69	0.67
BR	Pb	3	0.21	0.06	0.14	0.25	3	0.22	0.07	0.17	0.30	3	0.14	0.06	0.09	0.21	0.30
	Cd	3	15.73	16.55	5.27	34.81	3	21.50	16.16	8.11	39.46	3	10.82	4.96	6.60	16.29	0.43
	Cu	3	0.75	0.09	0.67	0.85	3	0.92	0.12	0.80	1.02	3	0.79	0.18	0.68	1.00	0.29
RE	Pb	3	0.31	0.19	0.15	0.52	3	0.19	0.07	0.14	0.27	3	0.22	0.13	0.07	0.30	0.73
	Cd	3	7.72	4.58	5.05	13.01	3	8.23	3.01	5.33	11.34	3	5.48	2.68	3.12	8.39	0.39
	Cu	3	0.68	0.23	0.53	0.95	3	0.70	0.01	0.70	0.71	3	0.76	0.17	0.63	0.95	0.61
TB	Pb	3	0.33	0.09	0.26	0.43	3	0.21	0.03	0.18	0.24	3	0.20	0.10	0.08	0.26	0.06
	Cd	3	10.74	7.50	6.19	19.39	3	12.44	6.03	7.12	18.99	3	7.62	3.16	4.68	10.96	0.56
	Cu	3	1.02	0.28	0.77	1.33	3	1.20	0.05	1.14	1.22	3	1.04	0.13	0.91	1.18	0.43

Tabla 4.2. (Continuación).

		Cd+Pb														p	
		R 1					R 2					R 3					
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.		Máx.
GD	Pb	3	4.84	1.00	4.05	5.96	3	5.85	4.27	2.45	10.64	3	4.83	0.28	4.50	5.02	0.73
	Cd	3	17.31	2.46	14.94	19.85	3	12.80	3.56	10.27	16.87	3	16.92	1.18	15.76	18.12	0.19
	Cu	3	2.85	0.67	2.08	3.30	3	2.68	0.52	2.08	3.05	3	3.07	0.21	2.84	3.21	0.59
BR	Pb	3	3.31	0.59	2.74	3.92	3	4.61	2.96	2.31	7.95	3	2.33	0.44	1.90	2.78	0.30
	Cd	3	15.24	5.28	10.28	20.79	3	9.77	4.25	6.24	14.49	3	10.25	5.04	4.45	13.58	0.30
	Cu	3	0.78	0.06	0.74	0.85	3	0.80	0.17	0.61	0.93	3	0.66	0.07	0.61	0.73	0.30
RE	Pb	3	1.60	0.49	1.25	2.16	3	2.50	1.80	1.46	4.58	3	2.07	0.31	1.77	2.39	0.39
	Cd	3	5.84	0.52	5.50	6.44	3	5.74	0.77	5.16	6.62	3	6.57	2.02	4.28	8.08	0.67
	Cu	3	0.57	0.08	0.50	0.65	3	0.63	0.22	0.41	0.84	3	0.59	0.08	0.51	0.66	0.81
TB	Pb	3	2.51	0.32	2.14	2.70	3	3.52	2.57	2.04	6.49	3	2.43	0.28	2.11	2.63	0.56
	Cd	3	9.84	1.06	8.95	11.02	3	7.72	1.00	6.79	8.78	3	8.65	2.60	5.67	10.46	0.25
	Cu	3	0.94	0.14	0.78	1.05	3	0.95	0.22	0.77	1.19	3	0.87	0.09	0.79	0.97	0.84

		Cd+Cu														p	
		R 1					R 2					R 3					
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.		Máx.
GD	Pb	3	0.33	0.13	0.23	0.48	3	0.38	0.17	0.27	0.58	3	0.42	0.26	0.21	0.71	0.96
	Cd	3	12.14	3.46	9.65	16.09	3	11.05	2.69	8.00	13.11	3	7.16	1.43	6.01	8.77	0.11
	Cu	3	5.16	1.59	3.89	6.94	3	4.67	0.68	4.03	5.39	3	3.78	1.09	2.90	5.00	0.43
BR	Pb	3	0.32	0.25	0.15	0.61	3	0.18	0.11	0.05	0.26	3	0.22	0.12	0.08	0.30	0.73
	Cd	3	10.83	4.95	7.96	16.54	3	7.94	3.74	4.09	11.55	3	6.29	2.08	4.52	8.58	0.67
	Cu	3	1.16	0.43	0.79	1.63	3	0.90	0.06	0.84	0.95	3	0.71	0.07	0.64	0.78	0.06
RE	Pb	3	0.13	0.06	0.08	0.20	3	0.65	0.79	0.14	1.56	3	0.45	0.31	0.21	0.80	0.11
	Cd	3	5.11	0.17	4.92	5.25	3	5.79	1.86	3.72	7.32	3	4.94	1.40	3.32	5.79	0.56
	Cu	3	0.83	0.19	0.62	1.00	3	0.70	0.14	0.61	0.86	3	0.86	0.27	0.64	1.16	0.51
TB	Pb	3	0.21	0.13	0.13	0.36	3	0.54	0.52	0.19	1.14	3	0.37	0.12	0.25	0.49	0.29
	Cd	3	7.60	1.13	6.68	8.86	3	6.87	1.71	4.95	8.21	3	5.61	1.46	3.97	6.75	0.29
	Cu	3	1.51	0.31	1.17	1.76	3	1.25	0.21	1.10	1.49	3	1.11	0.12	0.99	1.23	0.18

Tabla 4.2. (Continuación).

		Cd+Pb+Cu														p	
		R 1					R 2					R 3					
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.		Máx.
GD	Pb	3	16.06	5.08	12.04	21.77	3	28.22	4.72	22.77	31.00	3	20.01	6.93	15.38	27.98	0.08
	Cd	3	42.99	9.34	32.39	50.02	3	62.53	18.21	46.78	82.47	3	50.65	6.06	46.17	57.54	0.25
	Cu	3	6.03	0.98	5.04	7.00	3	7.82	2.34	5.12	9.40	3	9.58	2.45	7.29	12.16	0.15
BR	Pb	3	14.41	1.44	12.75	15.35	3	22.30	4.70	17.45	26.84	3	28.12	5.55	22.35	33.42	0.05
	Cd	3	17.92	2.09	15.67	19.79	3	13.91	5.08	10.17	19.69	3	18.05	3.73	13.94	21.20	0.43
	Cu	3	5.26	0.95	4.28	6.17	3	4.12	2.04	2.30	6.33	3	6.68	0.91	5.91	7.69	0.18
RE	Pb	3	6.97	1.64	5.17	8.39	3	10.92	4.38	7.43	15.84	3	10.97	3.03	8.45	14.33	0.11
	Cd	3	11.76	1.38	10.24	12.94	3	13.87	1.19	12.58	14.91	3	14.84	2.71	12.66	17.87	0.19
	Cu	3	1.66	0.09	1.61	1.76	3	2.41	0.86	1.44	3.07	3	2.90	1.00	2.28	4.05	0.25
TB	Pb	3	9.56	1.22	8.17	10.49	3	14.65	3.48	11.08	18.03	3	15.49	4.51	12.66	20.69	0.07
	Cd	3	16.54	2.32	13.90	18.26	3	17.99	0.72	17.19	18.57	3	19.65	2.41	16.96	21.60	0.49
	Cu	3	2.95	0.46	2.42	3.26	3	3.26	1.24	1.83	4.01	3	4.45	1.47	3.23	6.08	0.25

Tabla 4. 3. Porcentaje de Pb, Cd y Cu en tejidos de mejillón. Fase experimental 1.  $p$ =Kruskal-Wallis.

		CONTROL															
		R 1				R 2				R 3							
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	$p$
GD	Pb	3	14,37	5,57	10,06	20,67	3	12,58	4,26	7,67	15,31	3	13,80	6,93	6,34	20,05	0,96
	Cd	3	10,82	5,20	6,99	16,73	3	9,54	0,84	8,57	10,06	3	14,66	4,00	10,06	17,30	0,30
	Cu	3	39,97	0,68	39,22	40,55	3	33,27	2,40	30,79	35,59	3	38,56	7,70	30,76	46,16	0,20
BR	Pb	3	12,45	3,02	9,26	15,27	3	15,77	6,95	8,59	22,46	3	13,28	8,91	5,41	22,95	0,88
	Cd	3	20,97	7,35	12,52	25,82	3	11,51	10,86	4,82	24,04	3	9,04	10,18	1,27	20,57	0,18
	Cu	3	12,92	1,90	11,08	14,88	3	14,94	0,52	14,36	15,36	3	12,78	2,31	10,86	15,35	0,30
RE	Pb	3	73,18	2,69	70,07	74,78	3	71,66	7,68	62,79	76,10	3	72,92	1,99	70,70	74,54	0,67
	Cd	3	68,21	10,06	58,71	78,75	3	78,94	11,30	65,96	86,61	3	76,30	6,22	69,37	81,43	0,39
	Cu	3	47,12	2,24	44,58	48,80	3	51,78	2,08	50,06	54,09	3	48,66	7,46	42,98	57,11	0,29

		Pb															
		R 1				R 2				R 3							
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	$p$
GD	Pb	3	36,18	8,72	27,40	44,83	3	34,39	5,97	29,94	41,18	3	33,72	2,81	31,17	36,73	0,96
	Cd	3	11,54	5,42	5,58	16,17	3	10,90	4,58	7,68	16,15	3	10,35	0,61	9,70	10,92	0,84
	Cu	3	36,61	7,02	28,51	40,99	3	38,38	2,39	36,08	40,85	3	35,52	2,85	32,59	38,29	0,59
BR	Pb	3	17,04	1,69	15,95	18,98	3	13,85	1,90	12,75	16,04	3	15,57	4,02	11,25	19,20	0,43
	Cd	3	19,56	12,68	10,77	34,09	3	16,25	22,29	1,32	41,87	3	20,05	15,31	6,65	36,73	0,73
	Cu	3	14,64	1,42	13,32	16,14	3	12,78	0,90	12,04	13,78	3	12,44	1,39	11,40	14,01	0,18
RE	Pb	3	46,78	7,36	38,98	53,62	3	51,76	5,61	46,08	57,30	3	50,71	5,95	47,03	57,58	0,88
	Cd	3	68,89	8,07	60,32	76,35	3	72,85	20,24	50,44	89,81	3	69,60	15,89	52,35	83,66	0,84
	Cu	3	48,76	7,38	42,87	57,03	3	48,84	1,93	46,62	50,14	3	52,04	4,17	47,70	56,01	0,56

Tabla 4.3. (Continuación).

		Cu														p	
		R 1				R 2				R 3							
		n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.		Máy.
GD	Pb	3	19,57	4,22	15,29	23,74	3	9,03	6,22	2,08	14,08	3	13,80	7,75	6,73	22,08	0.15
	Cd	3	14,93	5,81	10,77	21,57	3	5,01	4,62	0,00	9,11	3	11,63	10,13	3,26	22,89	0.20
	Cu	3	37,09	0,81	36,57	38,02	3	29,34	2,93	26,86	32,58	3	33,55	6,87	28,22	41,31	0.20
BR	Pb	3	15,61	6,47	9,26	22,19	3	11,02	3,29	7,23	13,12	3	14,61	8,22	6,33	22,78	0.56
	Cd	3	9,08	4,90	3,57	12,96	3	20,57	13,22	6,10	32,02	3	8,57	8,34	2,18	18,01	0.29
	Cu	3	15,57	3,78	11,51	19,00	3	13,49	1,21	12,48	14,83	3	11,28	2,27	9,43	13,81	0.25
RE	Pb	3	64,82	10,69	54,07	75,45	3	79,96	4,77	75,95	85,23	3	71,59	15,93	55,14	86,94	0.20
	Cd	3	75,99	2,19	74,60	78,52	3	74,41	17,08	62,05	93,90	3	79,80	12,81	71,57	94,56	0.56
	Cu	3	47,34	4,42	42,98	51,82	3	57,18	4,15	52,59	60,67	3	55,17	9,14	44,88	62,36	0.19

		Pb+Cu														p	
		R 1				R 2				R 3							
		n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.		Máy.
GD	Pb	3	38,02	7,09	30,02	43,54	3	29,43	4,31	26,54	34,39	3	24,77	5,59	19,13	30,30	0.15
	Cd	3	16,91	6,57	10,06	23,17	3	11,61	3,39	7,70	13,83	3	10,60	1,69	8,66	11,80	0.39
	Cu	3	52,41	8,76	46,29	62,45	3	36,88	8,90	31,27	47,14	3	34,04	4,06	31,19	38,69	0.11
BR	Pb	3	15,36	1,36	13,97	16,68	3	17,84	3,96	15,19	22,39	3	28,60	8,61	19,17	36,05	0.10
	Cd	3	3,40	0,80	2,81	4,30	3	9,46	2,55	6,90	12,00	3	9,31	4,80	4,86	14,40	0.07
	Cu	3	9,33	2,56	6,40	11,13	3	13,68	0,86	13,00	14,65	3	22,04	7,76	16,02	30,79	0.03
RE	Pb	3	46,62	5,84	42,49	53,30	3	52,73	4,16	50,24	57,53	3	46,63	3,37	44,56	50,53	0.39
	Cd	3	79,69	7,30	72,53	87,13	3	78,94	5,68	74,71	85,39	3	80,09	6,12	74,27	86,48	0.96
	Cu	3	38,26	6,32	31,15	43,25	3	49,44	9,75	38,21	55,72	3	43,92	5,35	38,02	48,44	0.33



Tabla 4. 4. Porcentaje de Pb, Cd y Cu en tejidos de mejillón. Fase experimental 2. p=Kruskal-Wallis.

		CONTROL															
		R 1				R 2				R 3							
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	p
GD	Pb	3	26,48	4,08	22,63	30,75	3	26,80	15,27	13,79	43,61	3	20,15	2,54	17,33	22,25	0,25
	Cd	3	19,77	3,12	17,24	23,26	3	17,20	6,68	9,57	21,95	3	17,05	5,76	11,93	23,29	0,88
	Cu	3	44,93	2,84	42,53	48,06	3	41,59	5,63	35,43	46,45	3	36,89	6,90	29,87	43,67	0,33
BR	Pb	3	15,85	1,62	14,88	17,71	3	19,67	1,21	18,32	20,67	3	8,59	3,97	4,38	12,28	0,03
	Cd	3	19,07	0,73	18,35	19,80	3	27,11	6,48	22,48	34,52	3	24,99	14,51	16,60	41,74	0,30
	Cu	3	17,08	2,15	14,97	19,26	3	17,45	0,58	16,87	18,02	3	17,42	3,28	13,78	20,14	0,88
RE	Pb	3	57,67	5,60	51,53	62,49	3	53,53	15,26	36,37	65,55	3	71,26	6,15	66,85	78,28	0,07
	Cd	3	61,15	3,37	57,68	64,41	3	55,69	0,19	55,57	55,91	3	57,96	14,68	42,32	71,44	0,25
	Cu	3	37,99	2,15	36,54	40,47	3	40,96	6,04	36,07	47,71	3	45,69	3,85	42,55	49,98	0,18

		Cd															
		R 1				R 2				R 3							
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	p
GD	Pb	3	24,88	10,92	14,41	36,20	3	20,61	8,92	10,66	27,88	3	11,74	4,16	8,27	16,34	0,18
	Cd	3	19,22	10,75	6,84	26,15	3	20,32	5,54	16,11	26,60	3	20,89	9,28	10,35	27,85	0,96
	Cu	3	38,34	6,04	31,41	42,51	3	45,18	5,47	38,87	48,70	3	34,51	2,14	32,78	36,89	0,15
BR	Pb	3	19,98	10,94	8,17	29,78	3	24,95	9,58	15,95	35,02	3	18,77	8,15	9,37	23,85	0,59
	Cd	3	34,50	14,73	21,32	50,40	3	37,14	10,82	24,99	45,74	3	33,57	8,89	27,05	43,70	0,96
	Cu	3	20,84	4,13	16,36	24,49	3	18,48	5,10	14,26	24,15	3	17,94	4,33	13,22	21,75	0,73
RE	Pb	3	55,15	21,72	34,02	77,42	3	54,44	16,74	41,69	73,40	3	69,49	9,83	60,57	80,03	0,43
	Cd	3	46,28	5,43	42,76	52,53	3	42,54	6,23	36,01	48,41	3	45,54	0,42	45,10	45,94	0,67
	Cu	3	40,82	3,45	37,23	44,10	3	36,34	1,15	35,01	37,04	3	47,55	6,32	41,36	54,00	0,04

Tabla 4.4. (Continuación).

		Cd+Pb															
		R 1				R 2				R 3							
		n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.	Máy.	p
GD	Pb	3	27,05	5,52	21,21	32,17	3	22,66	6,87	14,81	27,58	3	21,13	1,89	19,06	22,76	0,39
	Cd	3	24,95	6,41	20,56	32,31	3	23,78	12,09	14,46	37,45	3	22,20	7,81	16,49	31,09	0,56
	Cu	3	41,91	3,73	37,61	44,10	3	38,74	8,87	28,97	46,29	3	37,42	4,85	32,10	41,58	0,67
BR	Pb	3	34,23	6,68	28,32	41,47	3	33,60	3,99	30,34	38,05	3	26,28	3,65	22,40	29,66	0,12
	Cd	3	38,97	8,35	32,75	48,46	3	30,49	7,59	21,79	35,82	3	30,90	8,45	21,26	37,03	0,73
	Cu	3	21,60	0,64	20,86	22,01	3	20,93	1,87	19,01	22,76	3	20,66	2,12	19,12	23,08	0,88
RE	Pb	3	38,72	12,07	26,35	50,47	3	43,74	3,58	40,00	47,14	3	52,59	1,95	51,28	54,83	0,06
	Cd	3	36,08	5,74	30,99	42,30	3	45,73	4,56	40,76	49,72	3	46,91	2,65	43,97	49,11	0,11
	Cu	3	36,49	3,42	33,96	40,38	3	40,33	7,80	32,69	48,28	3	41,91	3,11	38,63	44,82	0,49

		Cd+Cu															
		R 1				R 2				R 3							
		n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.	Máy.	p
GD	Pb	3	23,68	5,20	20,18	29,66	3	16,22	12,17	2,85	26,64	3	11,29	5,67	4,77	15,07	0,15
	Cd	3	22,42	7,79	14,98	30,52	3	21,55	9,69	12,99	32,07	3	13,22	5,33	7,07	16,53	0,43
	Cu	3	46,81	9,41	36,29	54,44	3	47,01	2,34	44,31	48,41	3	34,13	13,95	18,63	45,67	0,29
BR	Pb	3	39,07	10,48	27,49	47,90	3	18,78	16,47	0,72	32,96	3	22,48	15,23	5,19	33,91	0,25
	Cd	3	37,40	10,79	29,03	49,57	3	25,47	4,95	19,94	29,48	3	35,90	6,20	31,35	42,96	0,12
	Cu	3	20,79	6,72	15,95	28,46	3	17,02	2,11	14,66	18,74	3	20,55	2,23	19,06	23,11	0,20
RE	Pb	3	37,25	5,47	31,92	42,86	3	64,99	27,26	47,86	96,43	3	66,23	20,88	51,02	90,04	0,06
	Cd	3	40,19	4,60	35,45	44,65	3	52,98	6,26	47,99	60,01	3	50,87	1,48	49,96	52,58	0,07
	Cu	3	32,40	2,82	29,60	35,25	3	35,97	4,41	32,95	41,03	3	45,33	14,46	35,27	61,90	0,11

Tabla 4.4. (Continuación).

		Cd+Pb+Cu															
		R 1				R 2				R 3							
		n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.	Máy.	p
GD	Pb	3	18,98	7,54	13,53	27,59	3	16,69	3,34	13,11	19,71	3	13,75	4,88	8,43	18,03	0,73
	Cd	3	28,67	4,85	24,14	33,78	3	30,32	11,25	17,35	37,45	3	28,00	10,30	16,31	35,74	0,59
	Cu	3	22,64	2,34	21,02	25,32	3	21,13	4,38	17,89	26,11	3	22,93	5,81	16,24	26,76	0,84
BR	Pb	3	32,76	5,48	26,43	36,11	3	33,51	5,34	27,39	37,27	3	35,22	5,69	31,06	41,70	0,88
	Cd	3	23,36	1,88	22,24	25,53	3	16,36	3,42	13,45	20,12	3	17,43	2,35	14,84	19,41	0,07
	Cu	3	38,74	8,02	30,01	45,79	3	27,19	5,23	22,11	32,56	3	29,85	6,67	25,87	37,55	0,19
RE	Pb	3	48,26	2,39	45,97	50,74	3	49,80	3,86	45,47	52,90	3	51,02	8,67	43,50	60,51	0,84
	Cd	3	47,97	4,98	43,98	53,56	3	53,33	7,98	48,35	62,53	3	54,57	12,43	46,21	68,85	0,56
	Cu	3	38,62	8,49	33,19	48,40	3	51,68	7,22	47,00	59,99	3	47,22	10,49	36,66	57,63	0,39

**Tabla 5. 1.** Concentración de elementos traza mayoritarios (ETM) (mg Kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 1. *p*=Kruskal Wallis.

Grupo de exposición: CONTROL

Tejido	ETM	R1				R2				R3				<i>p</i>			
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media		SD	Mín.	Máx.
GD	Ca	3	513.14	157.19	378.07	685.68	3	346.26	42.73	298.27	380.16	3	453.82	74.95	372.33	519.80	0.15
	K	3	4395.81	1884.31	3296.45	6571.58	3	3149.13	124.84	3068.81	3292.95	3	2912.27	291.52	2657.59	3230.24	0.07
	Mg	3	781.10	249.08	606.85	1066.39	3	678.51	9.10	669.23	687.41	3	701.34	68.33	623.04	748.87	0.74
	Na	3	5531.89	1645.29	4328.11	7406.64	3	4981.41	104.00	4861.54	5047.59	3	5298.89	970.88	4262.83	6187.78	0.92
	P	3	2401.33	667.70	1966.50	3170.12	3	1991.79	118.95	1896.22	2125.00	3	1916.99	199.16	1721.72	2119.82	0.30
	S	3	5190.83	1113.35	4423.93	6467.84	3	4364.48	203.19	4170.33	4575.64	3	4325.53	328.17	3963.24	4602.89	0.24
BR	Ca	3	294.93	5.79	288.32	299.09	3	369.45	113.77	300.14	500.75	3	326.46	12.43	312.85	337.21	0.37
	K	3	1913.33	51.05	1862.06	1964.15	3	1786.27	30.75	1753.18	1813.98	3	1770.14	34.01	1746.99	1809.18	0.03
	Mg	3	1017.15	23.12	991.30	1035.85	3	1009.73	12.24	1000.67	1023.65	3	1065.62	56.79	1031.76	1131.19	0.37
	Na	3	8405.80	22.82	8379.45	8419.17	3	8478.28	710.54	7868.91	9258.74	3	9356.57	485.05	8813.44	9746.57	0.11
	P	3	955.55	15.58	943.41	973.12	3	912.85	58.62	872.93	980.15	3	858.05	13.42	847.02	872.99	0.18
	S	3	2648.26	46.89	2595.83	2686.17	3	2570.35	51.93	2517.53	2621.35	3	2542.67	25.76	2514.79	2565.59	0.10
RE	Ca	3	686.44	376.77	455.42	1121.21	3	483.53	101.74	409.88	599.61	3	378.07	26.46	362.31	408.62	0.10
	K	3	2405.11	269.19	2094.88	2577.00	3	2369.54	129.17	2230.29	2485.44	3	2408.21	141.95	2249.38	2522.71	0.85
	Mg	3	921.07	2.69	918.06	923.22	3	946.65	41.24	914.38	993.12	3	991.78	87.35	892.45	1056.62	0.24
	Na	3	5390.54	272.92	5202.16	5703.52	3	5631.56	325.56	5261.35	5873.23	3	4995.04	211.78	4794.61	5216.58	0.05
	P	3	1228.20	222.16	996.33	1439.18	3	1438.84	305.56	1180.12	1775.96	3	1256.68	256.63	1084.47	1551.63	0.42
	S	3	3107.91	252.41	2819.41	3288.05	3	3071.92	120.96	2973.30	3206.88	3	2803.48	335.58	2553.37	3184.85	0.38
TB	Ca	3	601.79	257.57	445.97	899.09	3	440.35	68.14	384.36	516.23	3	389.27	5.68	382.75	393.15	0.11
	K	3	2550.59	376.77	2206.74	2953.34	3	2353.11	119.99	2221.76	2456.97	3	2331.67	130.62	2187.66	2442.51	0.49
	Mg	3	906.00	32.09	883.24	942.70	3	920.83	39.78	897.44	966.76	3	970.75	82.70	880.08	1042.03	0.56
	Na	3	6003.05	366.99	5725.24	6419.08	3	6105.47	279.19	5797.85	6342.80	3	5816.98	224.75	5675.53	6076.13	0.29
	P	3	1306.66	205.45	1134.23	1533.98	3	1433.31	225.81	1239.67	1681.36	3	1264.87	225.09	1123.77	1524.44	0.49
	S	3	3274.09	263.06	2975.40	3471.29	3	3114.80	78.66	3054.73	3203.84	3	2931.67	257.50	2721.66	3218.96	0.33

Tabla 5.1. (Continuación). Grupo de exposición: Pb

Tejido	ETM	R1				R2				R3				p			
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media		SD	Mín.	Máx.
GD	Ca	3	602,58	56,09	539,68	647,40	3	445,73	114,34	364,65	576,51	3	391,88	62,42	339,28	460,85	0.17
	K	3	4325,20	2021,97	3132,74	6659,79	3	3080,82	189,62	2965,25	3299,66	3	3101,58	196,68	2925,60	3313,89	0.50
	Mg	3	845,76	293,78	672,83	1184,97	3	635,97	25,44	620,21	665,32	3	645,03	57,09	579,11	678,34	0.18
	Na	3	5868,02	1427,47	4925,23	7510,32	3	4562,16	379,95	4286,20	4995,51	3	4809,97	721,96	3981,91	5307,44	0.33
	P	3	2316,12	583,79	1904,89	2984,31	3	2009,21	133,54	1905,66	2159,93	3	1911,25	198,77	1780,81	2140,02	0.33
	S	3	5125,53	975,69	4340,85	6218,00	3	4675,95	244,45	4402,96	4874,58	3	4685,59	358,94	4417,40	5093,35	0.99
BR	Ca	3	308,80	23,49	287,66	334,08	3	303,43	1,52	301,91	304,94	3	304,41	4,90	299,16	308,87	1.00
	K	3	1932,87	57,97	1874,19	1990,11	3	1848,70	24,09	1821,35	1866,76	3	1769,27	111,51	1681,83	1894,85	0.14
	Mg	3	1028,97	19,94	1012,28	1051,05	3	1023,54	11,70	1010,99	1034,14	3	1032,47	49,72	976,54	1071,64	0.57
	Na	3	8488,98	160,29	8320,57	8639,68	3	8281,41	354,42	8011,27	8682,72	3	8846,37	277,99	8528,65	9044,83	0.21
	P	3	973,65	34,08	942,25	1009,89	3	946,75	36,39	917,80	987,60	3	891,83	129,69	811,98	1041,47	0.40
	S	3	2743,98	35,51	2718,98	2784,62	3	2659,17	47,35	2609,42	2703,68	3	2578,49	224,65	2445,55	2837,87	0.44
RE	Ca	3	660,53	375,76	369,08	1084,62	3	392,55	112,09	307,83	519,65	3	414,85	41,72	366,96	443,27	0.29
	K	3	2453,98	199,53	2253,15	2652,18	3	2589,62	69,52	2527,70	2664,82	3	2444,55	93,31	2349,88	2536,43	0.24
	Mg	3	941,30	57,68	878,19	991,28	3	873,11	91,17	770,13	943,54	3	934,12	43,11	884,91	965,20	0.14
	Na	3	4906,71	71,23	4833,48	4975,75	3	4650,14	462,50	4123,90	4992,08	3	5195,45	857,41	4486,62	6148,46	0.61
	P	3	1181,14	55,71	1126,44	1237,80	3	1341,74	208,25	1130,84	1547,23	3	1328,81	184,01	1166,17	1528,54	0.32
	S	3	3049,24	308,39	2703,27	3295,25	3	3119,89	161,72	2943,54	3261,26	3	3144,12	329,04	2880,84	3513,00	0.92
TB	Ca	3	584,53	266,29	402,71	890,18	3	387,60	80,22	312,68	472,23	3	380,59	13,95	367,98	395,58	0.29
	K	3	2627,14	429,96	2312,75	3117,10	3	2512,00	61,62	2441,94	2557,81	3	2357,24	88,62	2255,18	2414,77	0.24
	Mg	3	972,64	67,57	897,29	1027,86	3	867,14	44,07	816,28	894,14	3	943,63	46,37	892,48	982,92	0.14
	Na	3	5742,65	104,00	5634,47	5841,90	3	5335,11	387,28	4900,00	5642,08	3	5844,59	654,83	5308,41	6574,41	0.61
	P	3	1271,42	131,87	1157,18	1415,73	3	1309,85	145,29	1164,15	1454,73	3	1305,30	95,14	1238,94	1414,30	0.32
	S	3	3220,03	283,57	2907,91	3461,79	3	3217,64	153,19	3042,21	3325,01	3	3197,59	171,30	3074,78	3393,28	0.92

Tabla 5.1. (Continuación). Grupo de exposición: Cu

Tejido	ETM	R1				R2				R3				p			
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media		SD	Mín.	Máx.
GD	Ca	3	444,64	192,26	303,79	663,67	3	356,07	15,09	338,89	367,18	3	349,63	40,23	303,21	374,38	0,85
	K	3	4062,60	1552,63	3135,86	5855,08	3	3068,90	152,83	2894,07	3177,15	3	3100,41	76,74	3016,99	3168,00	0,41
	Mg	3	825,37	246,33	667,39	1109,20	3	673,59	32,64	643,99	708,60	3	670,84	34,41	636,42	705,23	0,30
	Na	3	5988,10	1577,26	4849,65	7788,46	3	5131,35	269,06	4829,61	5346,31	3	4939,26	256,61	4737,58	5228,10	0,44
	P	3	2217,26	475,75	1855,57	2756,18	3	2023,72	202,67	1855,16	2248,60	3	1929,11	66,63	1870,63	2001,65	0,54
	S	3	5179,87	1088,62	4479,80	6434,07	3	4701,23	277,76	4442,01	4994,41	3	4573,21	205,66	4395,22	4798,35	0,70
BR	Ca	3	296,99	7,13	288,76	301,34	3	327,69	5,17	321,92	331,91	3	301,85	0,60	301,32	302,51	1,00
	K	3	1834,71	76,25	1749,53	1896,59	3	1698,42	47,99	1643,85	1734,04	3	1737,54	38,20	1709,43	1781,03	0,14
	Mg	3	1037,12	15,63	1021,08	1052,30	3	1063,41	22,19	1040,64	1084,97	3	1044,46	40,63	1014,61	1090,73	0,67
	Na	3	8515,24	350,28	8253,01	8913,04	3	9345,06	304,81	8998,91	9573,30	3	8894,77	496,87	8358,48	9339,47	0,08
	P	3	922,17	67,62	850,35	984,61	3	829,40	49,51	794,04	885,98	3	854,16	11,28	842,80	865,35	0,18
	S	3	2658,65	98,17	2546,00	2725,90	3	2458,71	64,62	2388,02	2514,73	3	2570,41	27,10	2539,71	2591,01	0,13
RE	Ca	3	492,27	222,14	348,51	748,12	3	756,06	636,47	371,01	1490,70	3	394,76	40,21	353,58	433,92	0,66
	K	3	2250,05	181,62	2040,40	2359,52	3	2339,64	34,61	2313,63	2378,92	3	2421,41	128,48	2284,52	2539,38	0,61
	Mg	3	969,11	52,30	938,54	1029,50	3	1048,93	13,87	1038,36	1064,63	3	913,98	95,53	840,14	1021,87	0,15
	Na	3	5596,19	638,12	4950,65	6226,63	3	5603,27	37,49	5577,52	5646,29	3	4810,74	841,59	4279,97	5781,09	0,55
	P	3	1274,84	76,63	1196,87	1350,06	3	1489,64	169,72	1304,73	1638,32	3	1182,96	180,16	976,37	1307,43	0,19
	S	3	3171,17	136,16	3035,93	3308,23	3	2888,44	74,39	2807,54	2953,88	3	2950,34	141,40	2820,75	3101,16	0,14
TB	Ca	3	431,41	166,99	300,00	619,31	3	631,99	440,88	372,36	1141,04	3	375,41	12,40	361,14	383,54	0,59
	K	3	2354,58	44,06	2304,97	2389,15	3	2289,91	62,16	2254,01	2361,68	3	2342,00	87,92	2278,74	2442,40	0,25
	Mg	3	941,75	76,03	897,79	1029,54	3	1001,76	35,24	979,45	1042,38	3	904,53	74,82	836,90	984,91	0,20
	Na	3	6275,82	544,68	5868,82	6894,57	3	6229,18	75,28	6170,19	6313,97	3	5678,78	658,19	5007,67	6323,24	0,56
	P	3	1324,01	68,60	1244,91	1367,23	3	1412,56	123,83	1276,02	1517,61	3	1208,07	130,34	1057,60	1286,01	0,33
	S	3	3270,85	150,95	3128,51	3429,14	3	3007,54	71,39	2939,16	3081,60	3	3033,70	101,47	2968,23	3150,58	0,10

Tabla 5.1. (Continuación). Grupo de exposición: Pb+Cu

Tejido	ETM	R1				R2				R3				p			
		n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media		SD	Mín.	Máy.
GD	Ca	3	582,82	283,28	400,22	909,15	3	429,10	53,33	373,33	479,59	3	347,87	20,17	328,75	368,95	0.14
	K	3	4153,06	1777,67	3002,72	6200,52	3	3127,16	68,54	3067,00	3201,78	3	3229,95	119,98	3096,69	3329,37	0.57
	Mg	3	838,03	293,76	632,95	1174,56	3	680,87	28,74	661,05	713,84	3	674,73	15,10	658,56	688,47	1.00
	Na	3	6151,14	2205,32	4603,04	8676,18	3	5174,26	217,99	5007,00	5420,79	3	5034,79	58,45	4990,61	5101,07	0.65
	P	3	2289,20	549,47	1943,39	2922,78	3	2017,25	130,05	1935,07	2167,19	3	2016,01	94,76	1926,60	2115,34	0.82
	S	3	5024,33	1036,23	4310,29	6212,85	3	4616,05	85,62	4517,22	4667,73	3	4603,64	249,09	4422,19	4887,63	0.87
BR	Ca	3	325,97	17,88	306,28	341,18	3	313,98	13,78	299,18	326,44	3	296,24	8,50	287,62	304,62	1.00
	K	3	1879,07	21,87	1857,26	1900,99	3	1819,16	43,28	1769,31	1847,19	3	1793,04	105,89	1704,40	1910,29	0.10
	Mg	3	1048,64	35,11	1008,21	1071,51	3	1034,63	46,79	981,25	1068,53	3	1044,29	15,74	1028,69	1060,16	0.67
	Na	3	9031,68	426,50	8686,91	9508,62	3	10764,57	2946,05	8889,77	14160,23	3	9072,75	85,03	8999,18	9165,84	0.62
	P	3	944,23	38,10	905,76	981,95	3	911,60	4,69	908,53	916,99	3	877,50	61,40	840,03	948,36	0.11
	S	3	2680,99	45,00	2634,77	2724,66	3	2663,55	49,77	2607,63	2702,97	3	2498,56	145,36	2378,18	2660,05	0.36
RE	Ca	3	915,42	902,96	383,73	1958,00	3	838,33	759,87	370,04	1715,07	3	357,28	27,85	330,17	385,81	0.30
	K	3	2461,35	225,75	2202,14	2614,85	3	2364,96	206,79	2138,87	2544,52	3	2348,23	97,67	2235,46	2405,86	0.49
	Mg	3	898,98	47,21	844,63	929,81	3	985,11	86,09	896,53	1068,47	3	974,23	52,45	931,01	1032,58	0.15
	Na	3	5355,03	553,38	4716,06	5678,32	3	5797,64	520,10	5309,22	6344,49	3	5066,18	165,99	4877,39	5189,23	0.19
	P	3	1379,72	213,16	1154,60	1578,46	3	1213,42	63,64	1144,76	1270,44	3	1323,22	149,09	1152,33	1426,66	0.26
	S	3	3126,66	460,56	2620,13	3520,23	3	3146,01	328,37	2792,84	3442,09	3	2720,03	199,25	2490,58	2849,48	0.28
TB	Ca	3	771,41	671,47	382,71	1546,76	3	695,40	531,06	381,73	1308,56	3	347,61	33,97	308,41	368,52	0.07
	K	3	2577,20	325,88	2251,25	2903,01	3	2328,84	155,79	2152,81	2448,95	3	2321,99	116,89	2188,20	2404,31	0.43
	Mg	3	894,90	77,82	818,34	973,93	3	980,00	85,91	891,30	1062,83	3	952,04	48,29	898,48	992,27	0.43
	Na	3	6082,36	704,48	5369,82	6778,50	3	6486,52	689,33	5985,59	7272,69	3	5868,42	107,64	5773,89	5985,58	0.20
	P	3	1425,51	150,16	1254,36	1535,18	3	1240,82	81,25	1171,33	1330,15	3	1306,96	99,28	1194,19	1381,21	0.20
	S	3	3258,56	427,47	2821,23	3675,43	3	3218,47	253,96	2931,23	3413,25	3	2865,53	192,60	2650,66	3022,62	0.29

**Tabla 5. 2.** Concentración de elementos traza mayoritarios (ETM) (mg Kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 2. *p*=Kruskal Wallis.

Grupo de exposición: CONTROL

Tejido	ETM	R1				R2				R3				<i>p</i>			
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media		SD	Mín.	Máx.
GD	Ca	3	764,52	237,01	545,00	1015,83	3	964,41	116,31	891,72	1098,55	3	1726,90	1437,92	717,22	3373,24	0,43
	K	3	2722,31	164,21	2568,20	2895,03	3	2760,49	227,83	2501,67	2930,73	3	2657,91	313,71	2306,34	2909,27	0,88
	Mg	3	763,09	20,48	751,10	786,74	3	723,47	39,05	699,19	768,52	3	764,16	58,99	713,91	829,11	0,41
	Na	3	5552,61	408,62	5275,30	6021,85	3	5258,42	279,59	5079,96	5580,65	3	5487,67	502,93	5127,15	6062,21	0,39
	P	3	1858,38	97,62	1800,73	1971,09	3	1941,84	145,18	1798,67	2088,95	3	1836,24	144,99	1748,83	2003,61	0,48
	S	3	3944,61	164,68	3840,99	4134,51	3	4207,27	114,77	4135,35	4339,62	3	3902,81	362,60	3487,09	4153,79	0,14
BR	Ca	3	531,54	107,90	428,29	643,56	3	481,49	49,93	451,52	539,13	3	509,94	46,49	476,39	563,01	0,73
	K	3	1627,89	63,85	1565,22	1692,86	3	1641,93	37,53	1598,82	1667,30	3	1555,58	222,60	1307,45	1737,75	0,96
	Mg	3	1069,28	48,56	1013,32	1100,20	3	1134,63	59,28	1097,93	1203,02	3	1070,40	40,51	1024,58	1101,44	0,16
	Na	3	8435,15	33,44	8400,33	8467,02	3	8820,72	62,58	8759,92	8884,94	3	7884,22	387,26	7631,68	8330,08	0,03
	P	3	875,22	36,68	840,03	913,23	3	863,16	19,83	840,47	877,18	3	864,53	156,26	685,91	975,97	0,73
	S	3	2309,52	162,35	2151,76	2476,10	3	2272,06	64,40	2197,80	2312,67	3	2233,32	185,31	2031,21	2395,24	0,87
RE	Ca	3	521,01	74,10	456,13	601,75	3	482,81	53,20	427,02	532,97	3	669,08	263,44	489,92	971,57	0,30
	K	3	2407,62	120,79	2284,93	2526,42	3	2337,79	103,90	2218,41	2407,84	3	2094,17	326,36	1718,37	2306,47	0,23
	Mg	3	1032,18	28,77	999,14	1051,71	3	1086,08	55,52	1039,72	1147,60	3	1104,65	118,79	970,17	1195,30	0,56
	Na	3	5292,45	242,16	5013,39	5447,24	3	5747,51	64,73	5673,08	5790,65	3	5994,40	444,60	5588,49	6469,56	0,06
	P	3	1003,75	21,64	991,11	1028,74	3	1018,73	106,82	915,18	1128,55	3	913,88	131,65	763,99	1010,79	0,66
	S	3	2983,38	70,29	2912,60	3053,17	3	2929,90	307,83	2745,54	3285,27	3	2652,22	407,78	2268,82	3080,64	0,47
TB	Ca	3	565,61	39,02	538,49	610,34	3	527,04	34,67	488,70	556,19	3	731,16	319,20	525,68	1098,89	0,43
	K	3	2248,17	80,25	2157,37	2309,56	3	2205,75	111,37	2078,14	2283,33	3	2026,48	324,94	1651,60	2227,40	0,39
	Mg	3	1003,86	19,53	991,94	1026,39	3	1040,66	25,79	1011,97	1061,92	3	1052,98	87,45	964,68	1139,54	0,43
	Na	3	6119,75	167,52	5927,92	6237,17	3	6498,30	99,50	6398,05	6597,04	3	6426,85	452,26	6140,00	6948,20	0,25
	P	3	1088,48	15,30	1076,25	1105,64	3	1078,28	85,87	988,20	1159,20	3	1020,60	142,04	857,35	1115,93	0,96
	S	3	2956,82	111,63	2849,63	3072,40	3	2919,06	235,65	2765,60	3190,39	3	2701,87	367,93	2336,56	3072,36	0,39



Tabla 5.2. (Continuación). Grupo de exposición: Cd

Tejido	ETM	R1				R2				R3				p			
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media		SD	Mín.	Máx.
GD	Ca	3	993,04	313,25	632,37	1197,06	3	1174,22	450,08	820,06	1680,70	3	971,58	381,94	603,44	1365,96	0.84
	K	3	2487,05	126,81	2377,45	2625,94	3	2833,97	212,65	2639,58	3061,09	3	2738,43	47,63	2685,20	2777,04	0.06
	Mg	3	860,01	66,92	816,72	937,09	3	756,47	8,67	749,22	766,08	3	730,47	33,97	700,91	767,58	0.05
	Na	3	6361,97	372,47	6050,38	6774,51	3	5553,49	131,51	5410,68	5669,59	3	5427,33	255,51	5180,66	5690,86	0.06
	P	3	1817,44	69,31	1749,20	1887,77	3	1919,04	72,03	1871,15	2001,88	3	1847,73	50,43	1814,33	1905,74	0.41
	S	3	3833,20	170,91	3725,49	4030,26	3	4170,95	112,68	4040,99	4241,38	3	4013,39	116,29	3879,87	4092,45	0.08
BR	Ca	3	501,46	76,37	432,95	583,80	3	547,77	40,39	506,09	586,73	3	476,03	22,49	453,17	498,14	0.18
	K	3	1595,99	99,33	1498,35	1696,93	3	1782,35	248,65	1539,22	2036,18	3	1688,11	225,98	1501,13	1939,22	0.53
	Mg	3	1138,48	52,33	1099,16	1197,87	3	1172,57	105,31	1053,08	1251,86	3	1123,57	23,10	1109,83	1150,25	0.73
	Na	3	8327,78	754,20	7639,66	9134,10	3	8538,66	1003,27	7730,04	9661,41	3	8077,76	454,59	7591,54	8492,18	0.67
	P	3	870,20	73,75	804,04	949,72	3	1010,07	98,15	951,15	1123,38	3	929,90	125,28	851,21	1074,37	0.21
	S	3	2238,15	100,67	2145,05	2344,97	3	2507,27	342,46	2301,55	2902,60	3	2396,69	220,86	2207,70	2639,49	0.49
RE	Ca	3	648,97	223,87	473,89	901,22	3	574,99	17,06	557,00	590,93	3	503,78	28,81	472,98	530,08	0.10
	K	3	2087,69	115,57	1966,90	2197,22	3	2331,34	198,13	2165,35	2550,68	3	2232,34	135,87	2081,67	2345,57	0.15
	Mg	3	1078,87	31,90	1047,41	1111,19	3	1013,81	60,71	962,84	1080,97	3	1103,39	73,43	1053,04	1187,65	0.18
	Na	3	6155,81	274,66	5874,27	6423,03	3	5911,49	560,05	5270,27	6304,76	3	5468,85	1348,18	4471,84	7002,76	0.71
	P	3	879,92	32,74	850,37	915,12	3	1028,59	68,22	953,93	1087,67	3	916,27	21,52	891,43	929,14	0.02
	S	3	2774,54	113,39	2665,06	2891,47	3	3209,95	214,48	2996,74	3425,68	3	2728,67	408,08	2420,49	3191,47	0.15
TB	Ca	3	652,49	169,10	554,46	847,75	3	667,03	49,74	636,71	724,44	3	544,66	34,16	509,33	577,52	0.15
	K	3	2006,27	71,82	1954,42	2088,24	3	2291,80	217,06	2078,13	2512,10	3	2157,93	152,92	1992,50	2294,12	0.10
	Mg	3	1061,78	29,76	1028,79	1086,60	3	1022,69	18,96	1010,82	1044,55	3	1084,97	34,37	1062,66	1124,55	0.11
	Na	3	6780,46	216,59	6619,85	7026,79	3	6495,20	170,11	6325,21	6665,44	3	6103,13	694,17	5526,30	6873,54	0.29
	P	3	995,67	42,08	947,19	1022,74	3	1156,47	92,86	1098,46	1263,57	3	1011,58	46,86	982,82	1065,65	0.07
	S	3	2760,31	48,29	2713,22	2809,73	3	3175,53	248,88	2943,67	3438,49	3	2797,36	358,37	2561,33	3209,74	0.19

Tabla 5.2. (Continuación). Grupo de exposición: Cd+Pb

Tejido	ETM	R1				R2				R3				p			
		n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media		SD	Mín.	Máy.
GD	Ca	3	450,16	13,01	435,74	461,00	3	817,38	130,05	704,87	959,78	3	1241,15	422,27	921,68	1719,90	0.04
	K	3	2334,18	284,35	2092,76	2647,61	3	2751,56	224,90	2576,54	3005,22	3	2743,84	23,30	2724,74	2769,79	0.10
	Mg	3	608,48	80,03	517,13	666,28	3	760,15	55,75	705,74	817,16	3	746,88	19,82	728,10	767,60	0.07
	Na	3	4583,09	737,47	3745,62	5135,41	3	5652,57	520,05	5165,36	6200,18	3	5438,96	200,58	5208,28	5572,30	0.06
	P	3	1968,68	70,81	1886,93	2011,03	3	1795,26	127,87	1658,66	1912,10	3	1975,50	110,35	1850,17	2058,07	0.18
	S	3	4788,01	376,41	4522,39	5218,77	3	4007,29	278,52	3752,46	4304,61	3	4471,72	40,85	4426,83	4506,70	0.03
BR	Ca	3	347,93	117,89	277,73	484,04	3	603,60	156,14	491,69	781,97	3	551,53	51,25	506,74	607,42	0.06
	K	3	1627,27	111,78	1516,54	1740,06	3	1720,18	117,28	1617,95	1848,22	3	1664,27	89,17	1561,35	1718,55	0.84
	Mg	3	1028,84	131,51	891,54	1153,67	3	1159,71	63,96	1086,70	1205,85	3	1112,89	77,47	1024,87	1170,68	0.25
	Na	3	7115,82	529,86	6505,43	7457,41	3	9090,45	659,84	8333,33	9542,98	3	8259,27	846,43	7682,93	9231,05	0.04
	P	3	1053,01	118,35	916,42	1124,92	3	929,59	74,84	843,69	980,71	3	898,56	58,40	863,82	965,98	0.29
	S	3	2686,39	424,25	2242,18	3087,38	3	2431,30	205,73	2244,82	2651,99	3	2335,20	23,68	2317,98	2362,20	0.62
RE	Ca	3	512,99	198,54	361,89	737,85	3	668,66	308,63	466,29	1023,88	3	1864,10	2387,44	481,21	4620,88	0.40
	K	3	2151,39	111,79	2023,71	2231,68	3	2303,32	259,17	2086,09	2590,20	3	2156,33	19,24	2139,95	2177,51	0.75
	Mg	3	1033,79	62,89	979,48	1102,69	3	1061,95	57,70	995,83	1102,13	3	1123,31	63,35	1063,04	1189,34	0.18
	Na	3	4966,79	400,63	4577,11	5377,53	3	5739,23	478,31	5410,16	6287,91	3	6113,39	906,28	5258,47	7063,51	0.15
	P	3	908,71	111,95	788,45	1009,91	3	966,93	127,56	831,13	1084,23	3	908,08	35,19	881,50	947,99	0.72
	S	3	2567,43	364,64	2282,52	2978,37	3	2982,45	406,24	2713,49	3449,76	3	2884,16	193,24	2688,09	3074,45	0.43
TB	Ca	3	451,95	130,18	374,47	602,25	3	670,78	157,12	574,76	852,10	3	1369,44	1342,40	567,67	2919,20	0.29
	K	3	2033,09	117,86	1907,54	2141,35	3	2218,34	237,86	2038,12	2487,95	3	2092,42	31,62	2059,42	2122,44	0.67
	Mg	3	973,75	72,96	906,96	1051,61	3	1047,40	46,08	1005,37	1096,68	3	1087,75	46,74	1045,56	1137,99	0.20
	Na	3	5464,30	142,51	5370,26	5628,26	3	6554,18	493,52	6207,48	7119,21	3	6654,51	634,88	5928,47	7105,39	0.07
	P	3	1088,74	89,29	993,08	1169,87	3	1068,26	125,09	930,22	1174,10	3	1013,17	16,65	999,97	1031,88	0.73
	S	3	2907,32	267,55	2620,96	3150,92	3	2979,19	333,61	2699,71	3348,53	3	2911,05	124,19	2779,06	3025,58	1.00

Tabla 5.2. (Continuación). Grupo de exposición: Cd+Cu

Tejido	ETM	R1				R2				R3				p			
		n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media		SD	Mín.	Máy.
GD	Ca	3	1227,42	574,45	850,04	1888,53	3	776,68	206,70	540,40	924,06	3	1182,78	321,97	826,65	1453,28	0,43
	K	3	2688,23	154,52	2526,28	2834,05	3	2776,23	201,97	2543,19	2900,54	3	2372,30	233,14	2105,35	2535,91	0,11
	Mg	3	744,16	50,00	696,70	796,37	3	734,72	26,96	710,11	763,53	3	867,48	143,78	775,45	1033,16	0,18
	Na	3	5459,95	301,90	5166,67	5769,79	3	5237,75	184,24	5120,30	5450,10	3	6416,44	1001,68	5722,39	7564,77	0,08
	P	3	1853,14	171,61	1655,09	1957,65	3	1878,40	40,54	1837,37	1918,43	3	1580,42	142,06	1426,42	1706,35	0,11
	S	3	4131,01	465,43	3593,70	4409,68	3	4208,76	348,02	3816,70	4481,18	3	3570,66	193,72	3386,87	3772,98	0,11
BR	Ca	3	589,46	110,33	467,20	681,61	3	629,12	172,59	445,88	788,58	3	531,43	139,91	376,39	648,28	0,65
	K	3	1594,14	103,15	1485,65	1690,95	3	1696,01	117,24	1564,36	1789,13	3	1461,97	216,22	1233,18	1662,91	0,23
	Mg	3	1120,51	47,92	1074,93	1170,46	3	1087,88	13,07	1072,84	1096,44	3	1172,95	39,87	1135,96	1215,18	0,11
	Na	3	8393,09	81,67	8304,93	8466,18	3	8546,38	501,21	8094,76	9085,61	3	9254,96	1273,82	7792,35	10121,20	0,73
	P	3	911,92	96,20	844,61	1022,10	3	927,45	58,73	859,64	961,37	3	711,81	64,83	638,11	760,00	0,07
	S	3	2301,65	152,37	2158,30	2461,67	3	2341,72	39,30	2307,04	2384,41	3	2034,55	132,40	1933,10	2184,33	0,10
RE	Ca	3	473,10	55,61	437,14	537,16	3	1393,79	1261,05	516,12	2838,87	3	963,64	751,65	457,82	1827,36	0,10
	K	3	2108,02	140,73	1947,52	2210,30	3	2094,53	206,59	1856,09	2220,17	3	1946,27	191,70	1739,86	2118,73	0,40
	Mg	3	1061,70	52,93	1002,59	1104,73	3	1041,34	52,71	1006,64	1101,99	3	1154,67	93,41	1054,08	1238,68	0,10
	Na	3	6164,36	350,46	5759,88	6377,35	3	6014,08	79,20	5948,54	6102,09	3	7183,03	992,39	6456,28	8313,68	0,06
	P	3	969,70	90,66	888,74	1067,66	3	907,07	55,03	848,04	956,95	3	838,58	47,75	783,49	868,07	0,24
	S	3	2950,39	276,59	2641,89	3176,23	3	2880,90	136,49	2766,49	3031,98	3	2623,43	276,46	2345,75	2898,65	0,33
TB	Ca	3	589,10	148,32	492,96	759,91	3	1105,14	825,25	555,33	2054,07	3	851,55	461,68	497,10	1373,62	0,49
	K	3	2045,77	122,09	1904,94	2121,73	3	2086,42	145,73	1918,16	2171,31	3	1824,55	230,29	1570,29	2019,12	0,15
	Mg	3	1036,73	23,85	1012,79	1060,48	3	1005,72	28,95	986,66	1039,03	3	1138,11	54,18	1086,69	1194,67	0,05
	Na	3	6688,79	198,39	6464,23	6840,30	3	6491,31	108,31	6401,09	6611,42	3	7760,26	909,65	7008,08	8771,28	0,04
	P	3	1092,99	96,06	1005,94	1196,04	3	1028,82	75,05	945,83	1091,95	3	888,52	84,98	790,71	944,26	0,06
	S	3	2925,93	276,33	2625,09	3168,42	3	2910,23	103,67	2841,45	3029,47	3	2513,60	254,11	2252,44	2760,01	0,12

Tabla 5.2. (Continuación). Grupo de exposición: Cd+Pb+Cu

Tejido	ETM	R1				R2				R3				p			
		n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media	SD	Mín.	Máy.	n	media		SD	Mín.	Máy.
GD	Ca	3	716,91	94,52	610,86	792,27	3	1221,60	287,77	889,35	1391,78	3	1407,88	762,32	778,31	2255,45	0.11
	K	3	2400,43	350,07	2023,48	2715,31	3	2408,11	99,71	2295,45	2485,02	3	2518,80	410,54	2171,46	2971,87	1.00
	Mg	3	799,79	163,58	680,66	986,30	3	812,71	22,88	787,19	831,36	3	770,40	113,69	671,59	894,66	0.73
	Na	3	5919,23	1449,82	4890,01	7577,30	3	6010,91	150,81	5836,78	6098,63	3	5607,31	1033,26	4684,95	6723,90	0.73
	P	3	1700,21	241,02	1428,57	1888,46	3	1775,27	77,71	1698,00	1853,42	3	1905,39	149,74	1811,14	2078,06	0.43
	S	3	3870,30	639,90	3182,00	4447,16	3	3937,98	256,09	3669,42	4179,45	3	4111,70	393,06	3774,94	4543,60	0.73
BR	Ca	3	582,86	110,74	488,11	704,60	3	663,30	154,04	542,21	836,68	3	724,75	179,89	581,65	926,69	0.49
	K	3	1533,19	113,66	1449,43	1662,58	3	1454,02	175,02	1292,98	1640,28	3	1591,58	155,84	1454,92	1761,29	0.41
	Mg	3	1077,31	106,10	970,58	1182,76	3	1158,23	109,05	1057,31	1273,91	3	1104,78	115,13	1007,86	1232,03	0.73
	Na	3	8975,23	1245,44	8024,52	10385,06	3	9568,45	904,48	8674,79	10483,36	3	8411,78	1125,19	7478,39	9661,19	0.39
	P	3	821,17	90,52	716,67	875,38	3	702,00	30,85	679,21	737,11	3	839,52	125,89	751,22	983,67	0.11
	S	3	2253,40	95,69	2152,30	2342,56	3	2049,52	25,91	2022,77	2074,50	3	2196,67	152,06	2022,82	2304,93	0.17
RE	Ca	3	453,96	28,06	422,38	476,02	3	460,95	62,70	392,36	515,33	3	846,48	241,18	633,37	1108,30	0.05
	K	3	1991,07	111,88	1865,73	2080,86	3	1991,87	267,09	1772,43	2289,27	3	2241,55	463,84	1849,45	2753,58	0.83
	Mg	3	1027,16	91,52	963,07	1131,97	3	1119,36	51,36	1084,33	1178,32	3	1066,90	81,50	986,18	1149,16	0.18
	Na	3	6470,11	639,37	5983,83	7194,34	3	6267,88	442,49	5799,59	6679,01	3	6051,15	915,60	5004,02	6701,09	0.97
	P	3	848,69	71,79	791,89	929,38	3	847,44	115,61	757,95	977,97	3	928,16	205,17	754,72	1154,64	0.59
	S	3	3221,82	344,78	2904,90	3588,95	3	2810,88	136,07	2696,52	2961,37	3	2927,09	418,52	2583,91	3393,35	0.30
TB	Ca	3	517,17	52,91	459,74	563,93	3	564,08	29,10	539,75	596,31	3	845,31	103,46	766,58	962,50	0.05
	K	3	1945,33	66,38	1905,17	2021,95	3	1908,38	203,30	1742,32	2135,10	3	2130,92	433,13	1792,40	2619,01	0.73
	Mg	3	1015,37	77,09	954,85	1102,16	3	1111,85	56,95	1073,21	1177,25	3	1037,76	65,93	971,56	1103,43	0.39
	Na	3	6931,84	747,33	6369,62	7779,90	3	7016,42	431,24	6598,38	7459,75	3	6418,80	872,87	5442,47	7123,74	0.84
	P	3	928,96	72,80	851,71	996,29	3	902,07	78,76	851,31	992,80	3	1036,09	208,00	869,86	1269,33	0.49
	S	3	3092,89	266,29	2870,62	3388,03	3	2748,31	92,04	2651,21	2834,28	3	2905,85	365,72	2641,43	3323,21	0.19

**Tabla 5. 3.** Porcentaje de elementos traza mayoritarios (ETM) en tejidos de mejillón. Fase experimental 1.  $p$ =Kruskal Wallis.

Grupo de exposición: CONTROL

Tejido	ETM	R 1					R 2					R 3					p
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	
GD	Ca	3	11,64	2,21	9,13	13,26	3	9,41	3,19	5,74	11,53	3	13,07	3,80	9,44	17,03	0.39
	K	3	20,99	4,51	18,25	26,19	3	14,58	1,30	13,69	16,07	3	13,30	1,78	11,84	15,29	0.05
	Mg	3	10,98	2,69	8,29	13,68	3	8,23	0,67	7,70	8,98	3	7,41	1,50	6,39	9,13	0.18
	Na	3	11,45	2,18	9,17	13,51	3	8,84	1,16	7,63	9,93	3	9,63	0,93	8,56	10,18	0.20
	P	3	23,13	1,15	22,34	24,45	3	15,29	2,25	13,18	17,65	3	16,58	5,04	12,44	22,19	0.07
	S	3	19,82	1,98	18,05	21,95	3	15,14	0,38	14,72	15,46	3	15,84	2,13	14,56	18,30	0.11
BR	Ca	3	10,94	3,92	6,42	13,47	3	15,68	7,55	10,49	24,35	3	14,26	1,04	13,52	15,45	0.25
	K	3	15,13	2,03	13,04	17,09	3	13,90	2,57	11,46	16,59	3	14,04	1,16	12,71	14,85	0.59
	Mg	3	21,78	1,18	20,42	22,47	3	19,70	3,34	16,18	22,82	3	19,83	2,90	17,33	23,00	0.73
	Na	3	27,66	2,15	25,19	29,12	3	25,13	3,63	21,03	27,90	3	29,66	1,60	28,23	31,39	0.11
	P	3	14,82	2,50	12,55	17,50	3	12,22	4,09	8,37	16,52	3	12,92	2,38	10,18	14,46	0.56
	S	3	16,15	1,80	14,42	18,01	3	14,88	1,93	12,80	16,62	3	16,01	0,50	15,71	16,58	0.73
RE	Ca	3	77,42	6,09	73,81	84,45	3	74,91	9,61	64,69	83,77	3	72,67	4,81	67,52	77,04	0.67
	K	3	63,88	2,81	60,77	66,22	3	71,52	3,74	67,34	74,56	3	72,66	2,66	70,16	75,45	0.07
	Mg	3	67,24	1,77	65,90	69,24	3	72,07	3,80	68,20	75,80	3	72,76	4,31	67,87	75,97	0.19
	Na	3	60,88	1,10	59,64	61,72	3	66,03	3,92	62,17	70,00	3	60,72	1,96	58,47	62,09	0.07
	P	3	62,06	1,87	59,91	63,27	3	72,48	6,34	65,83	78,45	3	70,50	6,85	63,68	77,37	0.06
	S	3	64,03	0,45	63,63	64,52	3	69,99	2,02	67,92	71,96	3	68,15	1,95	65,98	69,73	0.05

Tabla 5.3. (Continuación). Grupo de exposición: Pb

Tejido	ETM	R 1					R 2					R 3					p
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	
GD	Ca	3	12,80	5,61	9,39	19,28	3	13,56	3,30	9,87	16,22	3	12,29	2,59	10,01	15,10	0,73
	K	3	19,62	9,27	12,02	29,95	3	13,69	1,22	12,60	15,00	3	15,47	0,29	15,20	15,79	0,30
	Mg	3	10,89	5,02	6,32	16,27	3	8,22	1,86	6,25	9,96	3	8,37	1,24	6,99	9,37	0,56
	Na	3	12,39	4,95	8,27	17,89	3	9,68	2,32	7,10	11,61	3	9,75	1,81	7,87	11,48	0,73
	P	3	21,98	7,21	15,17	29,52	3	17,41	2,95	14,10	19,74	3	17,12	0,53	16,52	17,50	0,56
	S	3	18,89	5,36	14,80	24,95	3	16,19	1,02	15,01	16,79	3	17,19	1,15	15,92	18,16	0,56
BR	Ca	3	11,99	5,72	5,90	17,26	3	15,24	2,57	12,47	17,55	3	15,26	2,53	12,42	17,27	0,73
	K	3	15,21	3,95	10,68	17,95	3	14,42	2,53	12,25	17,20	3	14,39	1,27	12,95	15,33	0,88
	Mg	3	21,55	4,39	17,05	25,82	3	22,38	3,50	18,36	24,72	3	21,08	2,39	18,34	22,79	0,73
	Na	3	29,62	3,82	25,79	33,43	3	30,07	3,49	26,05	32,12	3	29,18	3,12	27,03	32,76	1,00
	P	3	15,41	2,85	12,38	18,02	3	13,87	2,28	11,23	15,19	3	12,68	0,47	12,32	13,21	0,39
	S	3	17,20	3,06	13,66	19,01	3	16,18	3,41	12,79	19,62	3	15,43	1,79	13,97	17,42	0,84
RE	Ca	3	75,21	10,80	63,46	84,71	3	71,20	2,71	68,08	72,93	3	72,45	1,47	70,96	73,89	0,73
	K	3	65,17	5,81	59,38	70,99	3	71,89	1,46	70,21	72,75	3	70,14	1,29	69,33	71,63	0,15
	Mg	3	67,56	3,98	64,09	71,90	3	69,40	2,11	67,51	71,68	3	70,56	1,59	69,16	72,29	0,39
	Na	3	57,98	3,57	55,54	62,08	3	60,25	2,40	57,64	62,35	3	61,07	1,87	59,37	63,07	0,43
	P	3	62,61	5,69	58,10	69,00	3	68,73	3,16	65,09	70,71	3	70,19	0,89	69,43	71,16	0,11
	S	3	63,91	2,45	61,39	66,28	3	67,63	2,57	65,37	70,43	3	67,38	2,86	64,42	70,12	0,19

**Tabla 5.3.** (Continuación). Grupo de exposición: Cu

Tejido	ETM	R 1					R 2					R 3					p
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	
GD	Ca	3	12,02	2,16	10,59	14,50	3	7,38	2,94	4,16	9,92	3	10,53	1,70	8,58	11,72	0,11
	K	3	18,81	4,74	14,68	23,99	3	14,00	1,81	12,86	16,08	3	14,56	3,51	10,78	17,71	0,29
	Mg	3	9,72	1,06	8,54	10,59	3	6,99	1,34	5,81	8,45	3	8,29	2,94	5,54	11,38	0,25
	Na	3	10,52	1,80	8,67	12,27	3	8,57	1,21	7,34	9,77	3	9,53	2,00	7,72	11,68	0,33
	P	3	18,69	2,41	16,03	20,73	3	15,09	2,23	13,76	17,67	3	17,45	2,70	14,78	20,18	0,25
	S	3	17,51	2,03	15,49	19,54	3	16,26	1,08	15,24	17,39	3	16,50	3,56	12,42	19,00	0,56
BR	Ca	3	16,52	5,85	9,77	20,08	3	10,96	5,17	5,00	14,22	3	16,12	4,29	12,87	20,98	0,43
	K	3	16,89	2,83	14,88	20,12	3	13,13	0,69	12,36	13,70	3	14,84	3,38	12,13	18,63	0,15
	Mg	3	23,82	3,58	21,55	27,95	3	19,26	2,19	16,93	21,29	3	23,08	6,24	18,46	30,18	0,20
	Na	3	29,61	5,13	26,04	35,49	3	27,12	1,64	25,75	28,94	3	31,68	8,24	26,26	41,16	0,67
	P	3	15,49	4,04	12,97	20,16	3	10,71	1,40	9,18	11,93	3	14,41	3,16	11,48	17,75	0,11
	S	3	17,57	3,63	14,71	21,66	3	14,80	0,91	14,22	15,85	3	16,91	3,46	14,35	20,84	0,25
RE	Ca	3	71,47	7,34	65,43	79,64	3	81,66	7,97	76,42	90,84	3	73,35	5,42	67,72	78,55	0,43
	K	3	64,30	4,66	61,13	69,65	3	72,88	2,33	70,22	74,58	3	70,60	6,72	63,67	77,09	0,11
	Mg	3	66,47	4,37	61,46	69,51	3	73,75	3,14	70,26	76,36	3	68,64	9,11	58,45	76,01	0,20
	Na	3	59,88	6,62	52,24	64,03	3	64,31	2,63	61,28	65,98	3	58,79	10,08	47,15	64,67	0,39
	P	3	65,82	6,09	59,11	71,00	3	74,20	3,43	70,40	77,06	3	68,14	5,26	62,07	71,21	0,20
	S	3	64,92	5,30	58,80	68,17	3	68,94	1,94	66,75	70,44	3	66,59	6,54	60,16	73,24	0,56

Tabla 5.3. (Continuación). Grupo de exposición: Pb+Cu

Tejido	ETM	R 1					R 2					R 3					p
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	
GD	Ca	3	11,44	3,96	7,03	14,69	3	9,71	5,70	3,28	14,13	3	10,01	0,79	9,40	10,90	0.67
	K	3	19,98	5,12	16,15	25,80	3	14,97	2,24	13,38	17,53	3	14,76	2,49	11,91	16,51	0.19
	Mg	3	11,57	2,91	9,45	14,89	3	8,11	2,28	6,12	10,59	3	7,85	1,72	5,93	9,25	0.18
	Na	3	12,61	2,57	10,60	15,51	3	9,01	2,32	6,90	11,49	3	9,09	1,58	7,28	10,16	0.12
	P	3	20,08	3,02	18,32	23,56	3	17,97	3,44	15,37	21,87	3	16,32	3,38	12,50	18,90	0.43
	S	3	19,38	0,96	18,47	20,38	3	16,05	2,68	14,27	19,14	3	16,96	2,36	14,27	18,72	0.19
BR	Ca	3	9,70	5,30	3,66	13,56	3	9,54	5,14	4,13	14,36	3	17,16	1,01	16,22	18,23	0.07
	K	3	12,65	0,28	12,33	12,85	3	12,74	1,38	11,18	13,79	3	15,40	1,66	13,59	16,86	0.10
	Mg	3	20,40	1,55	18,61	21,32	3	18,14	3,73	13,84	20,50	3	21,60	2,80	19,39	24,75	0.43
	Na	3	25,44	0,88	24,68	26,41	3	26,68	1,22	25,85	28,08	3	30,84	3,68	27,27	34,61	0.08
	P	3	11,23	1,01	10,14	12,14	3	12,12	2,69	9,05	14,04	3	12,76	2,26	10,40	14,90	0.56
	S	3	14,04	0,47	13,71	14,58	3	13,67	1,60	11,86	14,90	3	17,55	1,60	15,84	19,02	0.07
RE	Ca	3	78,86	9,25	71,75	89,32	3	80,75	10,78	71,51	92,60	3	72,83	1,34	72,03	74,37	0.73
	K	3	67,37	4,85	61,87	71,00	3	72,29	3,40	68,68	75,44	3	69,84	4,13	66,62	74,50	0.43
	Mg	3	68,03	3,74	63,83	71,02	3	73,75	5,71	68,91	80,04	3	70,55	4,35	66,00	74,67	0.49
	Na	3	61,94	3,35	58,09	64,16	3	64,31	3,44	60,43	66,99	3	60,07	5,13	55,23	65,45	0.29
	P	3	68,69	3,33	65,03	71,55	3	69,91	5,75	64,09	75,58	3	70,92	5,59	66,21	77,10	0.96
	S	3	66,58	0,69	65,78	66,99	3	70,28	4,01	65,96	73,87	3	65,49	3,81	63,11	69,89	0.25



**Tabla 5. 4.** Porcentaje de elementos traza mayoritarios (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 2. *p*=Kruskal Wallis.

Grupo de exposición: CONTROL

Tejido	ETM	R 1					R 2					R 3					<i>p</i>
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	
GD	Ca	3	19,13	5,45	13,41	24,25	3	21,73	1,01	20,83	22,82	3	23,37	4,57	18,86	27,99	0,67
	K	3	17,10	0,16	17,00	17,29	3	14,95	1,65	13,88	16,86	3	15,33	2,61	12,77	17,99	0,25
	Mg	3	10,76	0,74	10,09	11,56	3	8,29	0,43	7,83	8,67	3	8,47	1,75	6,65	10,13	0,11
	Na	3	12,85	1,33	11,39	14,01	3	9,65	0,58	8,98	10,05	3	9,93	1,78	7,96	11,41	0,10
	P	3	24,08	0,24	23,81	24,27	3	21,52	1,45	20,40	23,15	3	20,89	1,97	18,63	22,26	0,07
	S	3	18,85	0,81	17,96	19,56	3	17,30	1,90	15,39	19,18	3	16,86	2,80	13,63	18,69	0,43
BR	Ca	3	23,80	2,65	20,91	26,12	3	23,54	2,20	21,10	25,37	3	19,51	5,32	13,60	23,91	0,30
	K	3	18,57	1,06	17,81	19,78	3	19,35	2,29	16,79	21,18	3	19,95	2,80	16,75	21,95	0,73
	Mg	3	27,24	2,35	24,83	29,52	3	28,15	1,79	27,01	30,21	3	26,26	2,21	24,35	28,68	0,56
	Na	3	35,30	1,53	33,54	36,31	3	35,19	3,66	31,43	38,75	3	31,71	3,20	28,37	34,76	0,29
	P	3	20,54	1,27	19,44	21,94	3	20,90	3,23	17,23	23,29	3	21,84	2,37	19,67	24,37	0,73
	S	3	20,00	1,39	18,79	21,51	3	20,34	3,24	16,62	22,61	3	21,51	3,05	17,99	23,36	0,56
RE	Ca	3	57,08	8,09	49,63	65,68	3	54,73	1,20	53,80	56,08	3	57,12	3,82	52,82	60,12	0,84
	K	3	64,33	1,02	63,21	65,19	3	65,70	3,58	61,96	69,09	3	64,72	1,69	62,82	66,07	0,73
	Mg	3	62,00	2,23	60,39	64,55	3	63,56	2,12	61,12	64,95	3	65,26	2,47	62,68	67,59	0,15
	Na	3	51,85	0,91	50,80	52,45	3	55,16	4,21	51,20	59,59	3	58,36	3,07	54,81	60,22	0,08
	P	3	55,38	1,03	54,25	56,29	3	57,58	4,46	53,55	62,37	3	57,27	3,10	53,85	59,89	0,73
	S	3	61,15	0,57	60,52	61,65	3	62,37	5,05	58,21	67,99	3	61,63	3,21	57,94	63,77	0,96

Tabla 5.4. (Continuación). Grupo de exposición: Cd

Tejido	ETM	R 1					R 2					R 3					p
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	
GD	Ca	3	16,66	1,38	15,10	17,71	3	24,67	5,59	20,27	30,96	3	19,61	4,97	15,51	25,15	0.11
	K	3	14,30	4,57	9,96	19,07	3	17,92	1,78	16,16	19,71	3	14,49	1,54	12,88	15,96	0.19
	Mg	3	9,18	2,03	7,48	11,43	3	10,80	2,03	9,38	13,12	3	7,64	0,51	7,18	8,20	0.11
	Na	3	10,60	2,34	8,37	13,04	3	12,54	2,88	10,65	15,85	3	10,14	0,57	9,70	10,78	0.29
	P	3	20,78	5,17	15,72	26,05	3	24,10	3,39	21,77	27,99	3	20,82	2,42	19,22	23,61	0.43
	S	3	15,89	4,46	11,25	20,15	3	19,08	2,38	17,46	21,81	3	16,37	0,59	15,69	16,78	0.19
BR	Ca	3	21,46	3,94	17,12	24,82	3	19,67	3,91	15,45	23,16	3	20,55	2,41	18,09	22,91	0.84
	K	3	21,72	0,31	21,53	22,08	3	18,28	1,53	17,00	19,97	3	18,37	3,27	16,23	22,13	0.30
	Mg	3	29,44	3,29	25,73	32,02	3	26,84	0,54	26,22	27,22	3	24,61	5,63	19,63	30,71	0.49
	Na	3	33,69	4,66	28,56	37,67	3	30,99	4,22	26,12	33,62	3	32,15	9,93	21,19	40,55	0.56
	P	3	23,83	0,64	23,25	24,52	3	20,61	2,34	19,02	23,30	3	21,47	3,44	19,27	25,43	0.33
	S	3	22,13	0,87	21,23	22,98	3	18,60	2,43	16,19	21,05	3	20,41	4,51	15,79	24,79	0.25
RE	Ca	3	61,87	5,31	57,48	67,78	3	55,66	1,80	53,59	56,82	3	59,84	7,32	51,95	66,40	0.25
	K	3	63,98	4,84	58,86	68,48	3	63,80	1,36	62,41	65,13	3	67,14	3,62	63,24	70,38	0.56
	Mg	3	61,38	4,57	56,56	65,63	3	62,36	2,35	59,66	63,89	3	67,75	5,14	62,11	72,18	0.29
	Na	3	55,71	5,94	49,29	61,03	3	56,47	6,13	50,53	62,76	3	57,71	9,96	49,75	68,88	0.96
	P	3	55,39	5,61	49,44	60,56	3	55,28	2,98	52,49	58,43	3	57,71	3,11	54,94	61,08	0.56
	S	3	61,98	4,08	57,66	65,78	3	62,32	3,19	59,63	65,85	3	63,22	3,98	59,52	67,43	0.84

Tabla 5.4. (Continuación). Grupo de exposición: Cd+Pb

Tejido	ETM	R 1					R 2					R 3					p
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	
GD	Ca	3	14,45	2,93	11,13	16,68	3	17,92	9,04	10,86	28,11	3	15,72	11,14	4,67	26,94	1.00
	K	3	15,94	0,43	15,49	16,36	3	16,90	3,03	14,96	20,39	3	13,97	2,33	12,57	16,66	0.56
	Mg	3	8,71	0,62	8,06	9,28	3	9,93	2,05	8,73	12,30	3	7,34	1,46	6,24	9,00	0.43
	Na	3	11,75	2,27	9,37	13,89	3	11,81	2,89	10,09	15,15	3	8,72	1,30	7,59	10,14	0.19
	P	3	25,32	2,09	24,09	27,73	3	22,81	2,64	20,11	25,38	3	20,66	2,17	19,38	23,16	0.11
	S	3	23,08	2,77	20,17	25,69	3	18,40	4,04	15,88	23,06	3	16,35	2,43	14,41	19,08	0.08
BR	Ca	3	19,70	2,82	17,17	22,74	3	22,82	5,96	16,99	28,91	3	18,21	11,12	5,63	26,74	0.88
	K	3	20,83	3,58	17,23	24,38	3	19,48	2,90	16,13	21,31	3	21,93	3,38	18,53	25,29	0.56
	Mg	3	27,25	4,22	22,81	31,20	3	27,66	1,95	25,68	29,57	3	28,15	4,45	24,28	33,01	1.00
	Na	3	33,53	2,72	30,48	35,68	3	34,53	1,61	32,67	35,52	3	34,29	5,75	29,30	40,57	0.96
	P	3	24,92	2,32	22,25	26,43	3	21,80	3,24	18,11	24,20	3	24,38	2,37	21,65	26,00	0.33
	S	3	23,81	3,42	20,14	26,90	3	20,47	2,86	17,17	22,24	3	22,07	2,15	20,78	24,55	0.67
RE	Ca	3	65,85	0,51	65,26	66,15	3	59,26	11,69	49,33	72,15	3	66,07	20,75	50,81	89,70	0.67
	K	3	63,23	3,83	59,65	67,27	3	63,62	5,16	58,60	68,91	3	64,10	5,50	58,04	68,79	0.96
	Mg	3	64,04	4,84	59,51	69,13	3	62,41	2,88	59,97	65,59	3	64,51	5,76	57,99	68,93	0.88
	Na	3	54,72	4,72	51,68	60,16	3	53,66	4,01	49,33	57,24	3	56,99	7,05	49,29	63,11	0.84
	P	3	49,76	3,88	45,83	53,60	3	55,39	5,57	51,53	61,78	3	54,97	4,07	50,84	58,97	0.30
	S	3	53,11	5,71	49,70	59,70	3	61,13	6,01	54,95	66,95	3	61,58	4,54	56,37	64,71	0.19

Tabla 5.4. (Continuación). Grupo de exposición: Cd+Cu

Tejido	ETM	R 1					R 2					R 3					p
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	
GD	Ca	3	28,10	8,58	20,56	37,43	3	11,21	5,54	5,42	16,47	3	16,14	8,57	6,57	23,13	0.08
	K	3	18,15	2,75	16,53	21,33	3	16,63	0,96	16,01	17,74	3	12,68	2,75	9,55	14,76	0.05
	Mg	3	9,92	1,25	9,09	11,35	3	9,12	0,20	8,91	9,31	3	7,26	0,98	6,13	7,93	0.06
	Na	3	11,24	1,26	10,47	12,70	3	10,09	0,44	9,58	10,39	3	7,98	1,62	6,13	9,15	0.03
	P	3	23,32	1,32	22,48	24,84	3	22,96	2,25	20,38	24,54	3	17,34	3,95	12,86	20,30	0.07
	S	3	19,36	1,12	18,39	20,58	3	18,12	2,00	16,25	20,23	3	13,82	3,01	10,70	16,72	0.08
BR	Ca	3	27,47	3,93	25,20	32,01	3	17,07	8,70	7,63	24,77	3	21,94	5,17	15,99	25,42	0.15
	K	3	21,12	0,94	20,15	22,03	3	19,25	5,10	14,16	24,36	3	25,62	1,33	24,08	26,47	0.11
	Mg	3	29,24	1,75	27,28	30,68	3	25,47	5,70	19,24	30,41	3	33,17	1,51	31,54	34,52	0.05
	Na	3	33,95	0,98	32,88	34,80	3	30,90	6,56	24,73	37,78	3	38,14	1,29	36,96	39,52	0.11
	P	3	22,54	1,82	20,71	24,36	3	21,36	5,60	15,83	27,03	3	25,80	2,20	23,29	27,36	0.30
	S	3	21,33	1,60	20,29	23,17	3	19,03	4,79	14,28	23,85	3	26,09	2,91	23,14	28,96	0.18
RE	Ca	3	44,43	6,15	37,36	48,50	3	71,71	13,21	63,47	86,95	3	61,92	13,54	52,46	77,43	0.05
	K	3	60,73	3,58	56,64	63,25	3	64,12	5,98	57,91	69,83	3	61,71	2,54	58,95	63,97	0.56
	Mg	3	60,85	2,32	58,90	63,41	3	65,42	5,57	60,46	71,45	3	59,57	0,87	58,83	60,53	0.18
	Na	3	54,81	1,72	53,13	56,57	3	59,01	6,66	51,83	64,98	3	53,88	2,05	51,82	55,92	0.49
	P	3	54,14	3,01	50,80	56,64	3	55,69	5,81	49,02	59,63	3	56,85	3,53	52,94	59,79	0.56
	S	3	59,31	2,70	56,24	61,32	3	62,85	6,78	55,92	69,47	3	60,10	2,87	57,12	62,83	0.73

**Tabla 5.4.** (Continuación). Grupo de exposición: Cd+Pb+Cu

Tejido	ETM	R 1					R 2					R 3					p
		n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	n	media	SD	Mín.	Máx.	
GD	Ca	3	15,37	2,30	13,62	17,97	3	18,00	1,53	16,30	19,28	3	16,38	6,41	9,11	21,22	0,43
	K	3	13,68	2,49	10,96	15,86	3	10,92	2,50	8,42	13,41	3	12,28	3,11	8,72	14,46	0,25
	Mg	3	8,61	0,62	8,13	9,31	3	6,35	1,71	4,69	8,11	3	7,54	1,55	5,81	8,79	0,15
	Na	3	9,30	0,70	8,77	10,09	3	7,46	2,05	5,33	9,41	3	8,95	2,09	6,79	10,96	0,59
	P	3	20,21	2,50	17,39	22,17	3	16,90	3,30	13,26	19,70	3	19,03	3,51	14,98	21,22	0,39
	S	3	13,89	2,58	10,91	15,48	3	12,49	3,64	8,83	16,11	3	14,70	3,87	10,27	17,42	0,56
BR	Ca	3	24,14	2,75	21,03	26,28	3	25,30	3,64	21,10	27,47	3	15,92	1,71	14,01	17,31	0,05
	K	3	17,21	3,93	12,87	20,51	3	16,90	4,44	13,00	21,73	3	14,26	2,63	12,42	17,28	0,59
	Mg	3	23,01	4,22	18,14	25,71	3	23,18	6,72	17,35	30,52	3	20,11	3,72	15,90	22,97	0,56
	Na	3	28,00	4,68	22,63	31,19	3	30,46	9,00	21,78	39,75	3	24,91	4,90	19,35	28,59	0,43
	P	3	19,34	4,35	14,32	22,07	3	17,07	2,31	15,27	19,67	3	15,37	2,76	12,79	18,28	0,39
	S	3	15,93	3,43	12,06	18,62	3	16,40	3,36	13,71	20,17	3	14,33	2,63	12,42	17,33	0,67
RE	Ca	3	60,50	3,77	56,94	64,45	3	56,70	2,76	54,12	59,62	3	67,70	6,51	61,47	74,46	0,06
	K	3	69,11	6,12	65,27	76,17	3	72,18	6,91	64,85	78,58	3	73,45	4,99	69,05	78,87	0,67
	Mg	3	68,39	3,61	66,16	72,55	3	70,47	8,41	61,37	77,96	3	72,35	5,16	69,02	78,29	0,67
	Na	3	62,70	4,02	59,76	67,28	3	62,08	11,03	50,84	72,90	3	66,15	6,68	62,25	73,86	0,67
	P	3	60,45	6,83	55,76	68,28	3	66,03	5,42	60,64	71,48	3	65,60	6,01	60,50	72,23	0,43
	S	3	70,18	5,96	66,11	77,03	3	71,11	6,93	63,72	77,46	3	70,96	5,70	66,26	77,30	0,88

**Tabla 5. 5.** Concentración de elementos traza minoritarios (mg Kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase Experimental 1.  $p$ =Kruskal Wallis.

Grupo de exposición: CONTROL

		GD																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>R 1</b>	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	1	3	3	3	ND	3	3	3	ND	1	3
	x	3,08	4,1	0,01	-	6,99	0,33	0,39	53,19	0,17	6,43	0,40	0,3	-	0,52	8,74	0,12	-	0,09	56,40
	s	2,12	0,9	-	-	1,86	0,16	0,03	16,66	-	2,43	0,24	0,4	-	0,09	3,06	0,06	-	-	28,14
	m	1,18	3,6	0,01	-	5,85	0,19	0,36	39,48	0,17	4,93	0,21	0,0	-	0,46	6,95	0,07	-	0,09	30,11
	M	5,36	5,2	0,01	-	9,14	0,51	0,41	71,73	0,17	9,24	0,67	0,8	-	0,62	12,2	0,19	-	0,09	86,09
<b>R 2</b>	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3	3	3	ND	3	3	3	ND	ND	3
	x	9,73	3,6	-	-	4,69	0,13	0,47	33,27	-	4,63	0,26	0,3	-	0,62	6,54	0,04	-	-	46,42
	s	13,5	0,5	-	-	0,09	0,04	0,07	4,86	-	0,05	0,02	0,1	-	0,04	0,87	0,01	-	-	13,24
	m	1,43	3,2	-	-	4,62	0,10	0,40	29,26	-	4,57	0,24	0,2	-	0,58	5,62	0,04	-	-	31,45
	M	25,3	4,1	-	-	4,79	0,17	0,53	38,67	-	4,67	0,27	0,4	-	0,66	7,35	0,05	-	-	56,62
<b>R 3</b>	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	ND	3	3	3	ND	3	3	3	1	1	3
	x	2,11	3,3	0,03	-	5,79	0,25	3,22	45,5	-	5,17	0,29	0,4	-	0,65	7,27	0,14	0,68	0,01	62,92
	s	1,00	0,1	-	-	0,99	0,13	3,18	10,59	-	0,35	0,06	0,2	-	0,06	0,20	0,02	-	-	18,66
	m	1,43	3,2	0,03	-	5,18	0,10	1,21	37,16	-	4,79	0,24	0,2	-	0,60	7,04	0,12	0,68	0,01	45,33
	M	3,26	3,6	0,03	-	6,94	0,35	6,89	57,41	-	5,49	0,35	0,5	-	0,72	7,43	0,16	0,68	0,01	82,50
<b>p</b>	0,91	0,3	0,32	-	0,05	0,21	0,04	0,19	-	0,07	0,66*	0,8	-	0,12	0,39	0,06	-	0,32	0,65*	

		BR																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
<b>R1</b>	n	3	3	ND	ND	3	1	3	3	ND	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3
	x	0,42	2,02	-	-	4,69	0,02	0,24	14,1	-	5,38	0,02	-	-	0,4	6,37	0,02	3,11	-	31,7
	SD	0,55 <sup>n</sup>	0,21	-	-	0,18	-	0,05	1,11	-	0,10	0,01	-	-	0,0	0,11	0,00	0,47	-	11,6
	m	0,04 <sup>x</sup>	1,87	-	-	4,53	0,02	0,20	12,8	-	5,27	0,01	-	-	0,4	6,29	0,02	2,57	-	20,1
	M	0,74 <sup>x</sup>	2,26	-	-	4,89	0,02	0,29	14,8	-	5,44	0,03	-	-	0,4	6,49	0,02	3,47	-	43,3
<b>R2</b>	n	3	3	ND	ND	3	1	3	3	ND	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3
	x	1,04	2,01	-	-	4,09	0,01	0,27	14,1	-	5,17	0,03	-	-	0,4	7,05	0,03	3,18	-	21,9
	SD	1,08 <sup>m</sup>	0,15	-	-	0,17	-	0,04	3,71	-	0,07	0,01	-	-	0,0	1,16	0,02	0,25	-	20,7
	m	0,11	1,84	-	-	3,90	0,01	0,23	10,0	-	5,10	0,02	-	-	0,4	6,29	0,02	2,89	-	8,59
	M	2,23 <sup>M</sup>	2,13	-	-	4,20	0,01	0,31	17,2	-	5,23	0,04	-	-	0,4	8,38	0,05	3,36	-	45,8
<b>R3</b>	n	3	3	ND	ND	3	1	3	3	ND	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3
	x	0,54 <sup>n</sup>	2,02	-	-	4,53	0,02	0,34	12,1	-	5,43	0,02	-	-	0,3	6,73	0,01	3,77	-	18,9
	SD	0,07	-	-	-	0,07	-	0,20	0,88	-	0,14	0,01	-	-	0,0	0,29	0,00	0,69	-	8,14
	m	0,54 <sup>x</sup>	1,94	-	-	4,46	0,02	0,19	11,4	-	5,35	0,01	-	-	0,3	6,52	0,01	3,14	-	11,8
	M	0,54	2,06	-	-	4,60	0,02	0,56	13,1	-	5,59	0,03	-	-	0,4	7,06	0,01	4,50	-	27,8
<b>p</b>	0,56 <sup>SD</sup>	1,00	-	-	0,04	0,37	0,67	0,51	-	0,05	0,53	-	-	0,0	0,23	0,03	0,05	-	0,56	
		m																		
		M																		
		n																		
		x																		
		SD																		
		m																		
		M																		
		p																		

Tabla 5.5. (Continuación).

		RE																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	0,87	2,79			5,94	0,05	0,23	21,19	0,07	5,23	0,09	0,07		0,33	7,94	0,04	3,82	0,03	68,35
	SD	1,05	0,33			0,29	0,02	0,03	4,49	0,02	0,14	0,01	0,03		0,02	2,99	0,03	0,10	0,01	36,81
	m	0,23	2,51			5,63	0,04	0,20	16,15	0,06	5,07	0,08	0,05		0,31	5,93	0,02	3,71	0,02	44,02
M	2,09	3,16			6,20	0,07	0,26	24,77	0,09	5,32	0,10	0,10		0,35	11,38	0,08	3,90	0,03	110,69	
R2	n	2	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	1	3
	x	0,21	2,65			5,21	0,02	0,35	17,09	0,09	4,98	0,08	0,05		0,35	6,20	0,01	3,95	0,03	43,17
	SD	0,21	0,15			0,33	0,01	0,11	1,52	0,02	0,20	0,02	0,01		0,04	0,51	0,00	0,21		15,42
	m	0,06	2,55			4,83	0,02	0,26	15,75	0,07	4,76	0,06	0,04		0,32	5,86	0,01	3,78	0,03	29,51
M	0,36	2,83			5,47	0,03	0,47	18,74	0,11	5,14	0,10	0,06		0,39	6,78	0,01	4,19	0,03	59,90	
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	0,23	2,72			5,32	0,03	0,35	16,5	0,1	4,98	0,07	0,06		0,33	5,70	0,01	4,16	0,02	57,95
	SD	0,02	0,15			0,29	0,02	0,17	1,12	0,02	0,13	0,01	0,02		0,07	0,30	0,01	0,38	0,01	28,80
	m	0,22	2,63			5,10	0,02	0,23	15,22	0,09	4,83	0,07	0,04		0,25	5,50	0,01	3,73	0,01	40,36
	M	0,25	2,89			5,65	0,05	0,54	17,23	0,12	5,09	0,08	0,08		0,37	6,04	0,02	4,46	0,02	91,19
	p	0,38*	0,78			0,05	0,13	0,39	0,17	0,18	0,16	0,37	0,40		0,81	0,25*	0,06*	0,33	0,36	0,58

		TB																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	1,07	2,82	0,00		5,83	0,08	0,25	23,97	0,06	5,43	0,12	0,10		0,38	7,69	0,05	3,16	0,02	59,27
	SD	0,88	0,24			0,44	0,02	0,02	4,17	0,01	0,41	0,04	0,07		0,02	2,35	0,02	0,06	0,01	29,96
	m	0,45	2,54	0,00		5,44	0,07	0,23	19,43	0,05	5,13	0,09	0,06		0,37	6,14	0,03	3,12	0,01	39,83
M	2,08	2,96	0,00		6,31	0,10	0,27	27,62	0,06	5,89	0,16	0,18		0,40	10,39	0,07	3,23	0,03	93,77	
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	1	3
	x	1,40	2,64			4,93	0,03	0,35	18,37	0,06	4,97	0,09	0,07		0,40	6,40	0,02	3,34	0,02	39,38
	SD	1,67	0,18			0,27	0,01	0,07	2,14	0,01	0,15	0,02	0,02		0,03	0,28	0,00	0,22		15,22
	m	0,33	2,49			4,62	0,03	0,28	16,13	0,05	4,80	0,07	0,05		0,37	6,08	0,02	3,20	0,02	26,88
M	3,33	2,84			5,09	0,04	0,42	20,39	0,07	5,08	0,11	0,09		0,43	6,57	0,02	3,60	0,02	56,32	
R3	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	3	3
	x	0,41	2,66	0		5,23	0,05	0,64	18,7	0,07	5,07	0,09	0,09		0,37	6,06	0,03	3,67	0,01	50,55
	SD	0,07	0,11			0,32	0,03	0,24	1,68	0,01	0,07	0,01	0,04		0,04	0,18	0,01	0,41	0,01	20,59
	m	0,34	2,57	0,00		5,03	0,02	0,40	17,04	0,06	5,00	0,08	0,05		0,33	5,95	0,02	3,20	0,00	38,08
	M	0,48	2,78	0,00		5,59	0,07	0,89	20,40	0,09	5,12	0,10	0,12		0,40	6,27	0,04	3,94	0,01	74,32
	p	0,39*	0,47	0,32*		0,05	0,05	0,04*	0,10	0,30	0,05*	0,35	0,79		0,45	0,19*	0,09	0,20*	0,31	0,59

Tabla 5.5. (Continuación). Grupo de exposición: Pb

		GD																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	1	3	3	3	1	3	3	3	ND	1	3
	x	4,51	4,20			6,39	0,38	0,49	45,85	0,15	6,26	0,34	0,36	0,01	0,53	9,62	0,24		0,02	52,68
	SD	2,00	1,01			1,12	0,17	0,11	13,35	.	2,21	0,15	0,30	.	0,04	2,06	0,20	.		10,99
	m	3,10	3,16			5,11	0,26	0,38	33,29	0,15	4,94	0,24	0,14	0,01	0,49	8,20	0,03		0,02	45,29
	M	6,80	5,17			7,18	0,57	0,60	59,87	0,15	8,81	0,51	0,71	0,01	0,57	11,98	0,42		0,02	65,31
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3	3	3		3	3	3	ND	ND	3
	x	4,58	3,05			5,62	0,22	0,46	40,59		4,98	0,19	0,42		0,74	7,63	0,06			55,00
	SD	4,89	0,42			0,42	0,03	0,05	9,75		0,21	0,03	0,15		0,16	0,91	0,04			19,80
	m	1,47	2,79			5,14	0,20	0,42	29,65		4,80	0,17	0,31		0,55	6,98	0,03			39,66
	M	10,21	3,54			5,93	0,26	0,52	48,37		5,21	0,22	0,59		0,85	8,67	0,10			77,35
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3	3	3	1	3	3	3	ND	ND	3
	x	3,00	3,21			6,57	0,20	0,58	40,77		4,96	0,28	0,24	0,01	0,68	7,09	0,06			60,23
	SD	0,80	0,24			0,62	0,08	0,04	3,00		0,16	0,03	0,02	.	0,07	0,27	0,02			40,97
	m	2,09	2,96			6,18	0,11	0,55	37,50		4,77	0,26	0,23	0,01	0,61	6,93	0,05			31,67
	M	3,58	3,44			7,29	0,25	0,62	43,41		5,06	0,31	0,26	0,01	0,75	7,40	0,09			107,18
p	0,56	0,25			0,25	0,09	0,18	0,67		0,66	0,07	0,25	1	0,11	0,08	0,66			0,88	

		BR																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3
	x	1,21	2,15	-	-	4,80	0,03	0,21	15,19		5,18	0,05			0,46	6,46	0,02	3,43		42,64
	SD	0,24	0,20	-	-	0,74	0,02	0,05	2,10		0,12	0,01			0,12	0,37	0,01	0,32		12,47
	m	0,98	1,94	-	-	4,35	0,01	0,18	12,81		5,09	0,04			0,35	6,12	0,01	3,07		28,45
	M	1,46	2,34	-	-	5,66	0,04	0,27	16,79		5,32	0,05			0,59	6,86	0,03	3,67		51,88
R2	n	3	3	ND	ND	3		3	3	ND	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3
	x	1,38	1,65	-	-	4,50		0,32	18,60		5,21	0,02			0,45	6,31	0,02	3,26		23,94
	SD	0,37	0,37	-	-	0,11		0,15	6,20		0,03	0,01			0,09	0,08	0,01	0,25		14,21
	m	0,96	1,28	-	-	4,41		0,22	11,44		5,18	0,01			0,39	6,24	0,01	3,07		13,99
	M	1,65	2,02	-	-	4,62		0,49	22,29		5,23	0,03			0,55	6,40	0,03	3,55		40,21
R3	n	2	3	ND	ND	3	1	3	3	ND	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3
	x	0,29	1,87			5,32	0,03	0,28	15,89		5,28	0,03			0,45	6,53	0,02	3,32		24,81
	SD	0,09	0,34			0,27	.	0,01	2,55		0,05	0,01			0,15	0,14	0,01	0,94		19,96
	m	0,22	1,58			5,12	0,03	0,27	13,27		5,22	0,02			0,35	6,37	0,02	2,23		10,03
	M	0,35	2,24			5,63	0,03	0,29	18,37		5,31	0,04			0,62	6,62	0,03	3,92		47,51
p	0,12	0,25			0,3	1	0,19	0,67		0,49	0,06			0,97	0,39	0,64	0,71		0,19	



Tabla 5.5. (Continuación).

		RE																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	2	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	0,10	3,02	-	-	6,10	0,08	0,21	20,44	0,07	5,12	0,08	0,07	-	0,34	7,09	0,01	4,11	0,05	97,76
	SD	0,08	0,87	-	-	0,54	0,03	0,03	5,60	0,02	0,26	0,01	0,01	-	0,06	1,27	0,01	0,14	0,01	60,03
	m	0,04	2,05	-	-	5,56	0,05	0,18	14,51	0,05	4,87	0,07	0,07	-	0,27	5,69	0,01	3,98	0,04	47,68
	M	0,16	3,72	-	-	6,64	0,11	0,24	25,63	0,09	5,39	0,09	0,08	-	0,38	8,17	0,02	4,25	0,06	164,30
R2	n	2	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	2	3	2	3
	x	2,39	2,37	-	-	5,99	0,04	0,31	21,18	0,09	4,73	0,07	0,06	-	0,38	5,46	0,02	3,94	0,02	57,01
	SD	2,66	0,17	-	-	0,40	0,01	0,06	5,70	0,00	0,35	0,02	0,03	-	0,05	0,32	0,00	0,57	0,00	7,78
	m	0,51	2,20	-	-	5,59	0,03	0,27	15,26	0,09	4,44	0,05	0,03	-	0,33	5,10	0,02	3,31	0,02	49,45
	M	4,27	2,53	-	-	6,38	0,05	0,38	26,62	0,09	5,12	0,09	0,09	-	0,42	5,72	0,02	4,42	0,02	64,99
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND--	3	3	3	3	3	3
	x	0,19	2,81	-	-	6,85	0,04	0,37	24,11	0,08	4,96	0,11	0,11	-	0,34	5,81	0,02	3,91	0,05	44,90
	SD	0,13	0,43	-	-	0,58	0,02	0,08	2,79	0,01	0,19	0,01	0,02	-	0,01	0,09	0,01	0,13	0,05	13,95
	m	0,08	2,46	-	-	6,22	0,03	0,30	21,31	0,08	4,84	0,10	0,09	-	0,33	5,71	0,01	3,76	0,01	29,46
	M	0,33	3,29	-	-	7,35	0,06	0,45	26,88	0,09	5,18	0,12	0,13	-	0,35	5,87	0,02	4,02	0,10	56,61
p	0,11	0,43	-	-	0,19	0,14	0,05	0,49	0,21	0,33	0,06	0,08	-	0,47	0,18	0,36	0,43	0,38	0,39	

		TB																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3
	x	0,97	3,00	-	-	5,86	0,11	0,25	22,90	0,05	5,32	0,11	0,10	0,00	0,39	7,32	0,05	3,39	0,02	78,41
	SD	0,40	0,73	-	-	0,59	0,02	0,04	2,69	0,03	0,39	0,03	0,05	-	0,02	1,06	0,03	0,06	0,02	38,15
	m	0,72	2,15	-	-	5,23	0,08	0,22	21,25	0,03	4,93	0,09	0,06	0,00	0,38	6,24	0,02	3,33	0,00	47,28
	M	1,43	3,43	-	-	6,41	0,13	0,29	26,01	0,08	5,70	0,15	0,16	0,00	0,41	8,37	0,08	3,46	0,04	120,97
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	1,88	2,30	-	-	5,66	0,05	0,33	22,85	0,06	4,85	0,08	0,09	-	0,43	5,87	0,02	3,37	0,01	50,39
	SD	1,53	0,18	-	-	0,31	0,01	0,08	5,95	0,00	0,23	0,02	0,03	-	0,06	0,27	0,01	0,38	0,00	5,91
	m	0,44	2,18	-	-	5,34	0,05	0,28	16,46	0,06	4,68	0,06	0,06	-	0,37	5,56	0,01	2,98	0,01	44,06
	M	3,48	2,51	-	-	5,97	0,06	0,42	28,23	0,06	5,11	0,09	0,12	-	0,49	6,08	0,03	3,73	0,01	55,77
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3
	x	0,53	2,67	-	-	6,51	0,06	0,38	24,52	0,06	5,02	0,11	0,10	0,00	0,40	6,11	0,02	3,31	0,03	42,67
	SD	0,07	0,34	-	-	0,45	0,02	0,05	1,86	0,00	0,12	0,01	0,01	-	0,04	0,06	0,01	0,30	0,03	16,61
	m	0,45	2,32	-	-	6,00	0,03	0,32	22,53	0,05	4,95	0,11	0,09	0,00	0,38	6,04	0,02	2,96	0,01	27,25
	M	0,57	3,01	-	-	6,78	0,07	0,43	26,22	0,06	5,15	0,12	0,11	0,00	0,45	6,16	0,03	3,50	0,07	60,25
p	0,3	0,43	-	-	0,11	0,07	0,11	0,67	0,3	0,25	0,06	0,88	0,32	0,88	0,04	0,18	0,88	0,79	0,25	

Tabla 5.5. (Continuación). Grupo de exposición: Cu

		GD																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	1	3	3	3	1	3	3	3	ND	ND	3
	x	3,00	3,63	0,01	-	6,56	0,18	0,47	37,84	0,26	6,33	0,35	0,23	0,15	0,39	7,47	0,10	-	-	59,08
	SD	3,55	0,42	.	-	2,14	0,13	0,02	16,73	.	2,21	0,21	0,35	.	0,11	2,78	0,08	-	-	17,69
	m	0,85	3,15	0,01	-	5,26	0,09	0,45	26,57	0,26	5,04	0,22	0,01	0,15	0,28	5,55	0,03	-	-	40,58
	M	7,10	3,90	0,01	-	9,03	0,33	0,49	57,06	0,26	8,88	0,60	0,63	0,15	0,49	10,66	0,19	-	-	75,82
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3	3	2	ND	3	3	2	ND	ND	3
	x	2,48	3,42	-	-	6,38	0,17	0,73	37,39	-	4,86	0,27	0,20	-	0,86	6,39	0,07	-	-	61,27
	SD	0,58	0,32	-	-	0,22	0,12	0,26	0,92	-	0,22	0,13	0,07	-	0,11	0,44	0,06	-	-	21,78
	m	2,01	3,09	-	-	6,22	0,04	0,56	36,34	-	4,61	0,15	0,15	-	0,74	5,98	0,02	-	-	36,42
	M	3,13	3,72	-	-	6,63	0,26	1,03	38,06	-	5,03	0,40	0,25	-	0,96	6,86	0,11	-	-	77,05
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3	3	3	ND	3	3	3	ND	ND	3
	x	3,11	3,75	-	-	5,79	0,15	0,54	32,36	-	4,82	0,25	0,16	-	0,70	7,01	0,02	-	-	70,28
	SD	0,48	0,78	-	-	0,39	0,08	0,15	6,63	-	0,35	0,04	0,15	-	0,20	0,94	0,01	-	-	29,47
	m	2,81	3,19	-	-	5,57	0,09	0,38	27,92	-	4,57	0,23	0,05	-	0,47	5,95	0,01	-	-	43,46
	M	3,67	4,64	-	-	6,24	0,24	0,67	39,99	-	5,22	0,30	0,33	-	0,84	7,73	0,03	-	-	101,83
p	0,56	0,73	-	-	0,43	0,96	0,2	0,73	-	0,19	0,96	0,76	-	0,08	0,88	0,31	-	-	0,84	

		BR																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	ND	3	3	ND	3	3	1	ND	3	3	3	3	ND	3
	x	0,46	2,13	-	-	4,96	-	0,23	11,92	-	5,33	0,02	0,03	-	0,33	6,47	0,02	3,62	-	17,55
	SD	0,08	0,45	-	-	0,23	-	0,08	1,50	-	0,05	0,02	.	-	0,05	0,12	0,01	0,43	-	3,49
	m	0,39	1,74	-	-	4,70	-	0,14	10,22	-	5,29	0,01	0,03	-	0,29	6,35	0,01	3,13	-	15,00
	M	0,54	2,62	-	-	5,13	-	0,28	13,05	-	5,39	0,04	0,03	-	0,39	6,58	0,02	3,95	-	21,52
R2	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	ND	3	3	ND	1	3	3	3	3	ND	3
	x	1,52	1,76	0,07	-	5,42	0,03	0,81	17,98	-	5,26	0,06	-	0,08	0,60	6,66	0,04	3,59	-	20,98
	SD	0,73	0,17	.	-	0,17	0,01	0,16	2,45	-	0,23	0,03	-	.	0,06	0,05	0,02	0,19	-	1,15
	m	0,77	1,62	0,07	-	5,27	0,02	0,63	15,15	-	5,05	0,03	-	0,08	0,56	6,63	0,02	3,37	-	19,66
	M	2,22	1,95	0,07	-	5,60	0,03	0,93	19,47	-	5,50	0,09	-	0,08	0,67	6,72	0,06	3,73	-	21,71
R3	n	3	3	ND	ND	3	1	3	3	ND	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3
	x	2,70	2,07	-	-	4,98	0,01	0,52	14,85	-	5,17	0,03	-	-	0,50	6,52	0,05	3,60	-	33,69
	SD	1,63	0,36	-	-	0,29	.	0,43	5,66	-	0,24	0,01	-	-	0,04	0,12	0,03	0,22	-	6,36
	m	1,17	1,80	-	-	4,76	0,01	0,26	11,46	-	5,02	0,03	-	-	0,47	6,42	0,02	3,41	-	26,35
	M	4,41	2,48	-	-	5,31	0,01	1,02	21,39	-	5,45	0,04	-	-	0,55	6,65	0,08	3,84	-	37,66
p	0,05	0,29	-	-	0,11	0,16	0,14	0,25	-	0,56	0,21	-	-	0,03	0,15	0,16	0,84	-	0,04	

Tabla 5.5. (Continuación).

		RE																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	2	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	2	3	2	3
	x	0,58	2,53	0,04	-	6,04	0,04	0,31	16,12	0,12	5,04	0,08	0,06	0,15	0,37	6,11	0,05	4,13	0,02	47,44
	SD	0,81	0,49	.	-	0,14	0,01	0,06	1,45	0,06	0,32	0,02	0,02	.	0,06	0,65	0,05	0,23	0,01	28,02
	m	0,01	2,18	0,04	-	5,91	0,04	0,24	15,08	0,07	4,81	0,06	0,05	0,15	0,31	5,52	0,01	3,90	0,01	15,96
	M	1,15	3,09	0,04	-	6,18	0,05	0,35	17,77	0,18	5,40	0,10	0,08	0,15	0,42	6,80	0,08	4,35	0,03	69,66
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	0,77	2,56	-	-	6,64	0,05	1,92	29,47	0,12	5,00	0,09	0,11	-	0,52	7,28	0,03	4,39	0,07	67,54
	SD	1,01	0,18	-	-	0,55	0,03	1,69	7,53	0,01	0,11	0,04	0,03	-	0,24	2,07	0,02	0,15	0,01	19,46
	m	0,15	2,35	-	-	6,03	0,02	0,91	21,25	0,11	4,92	0,05	0,07	-	0,34	5,88	0,01	4,27	0,06	45,12
	M	1,93	2,68	-	-	7,08	0,08	3,87	36,04	0,12	5,13	0,12	0,13	-	0,79	9,66	0,05	4,56	0,07	80,00
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	0,32	3,05	-	-	6,44	0,03	0,43	20,65	0,08	5,03	0,08	0,07	-	0,39	5,77	0,02	3,86	0,03	68,55
	SD	0,27	0,65	-	-	0,36	0,01	0,10	7,45	0,03	0,40	0,03	0,02	-	0,06	0,52	0,01	0,46	0,02	29,78
	m	0,02	2,49	-	-	6,21	0,03	0,36	15,99	0,05	4,69	0,06	0,05	-	0,32	5,45	0,01	3,43	0,01	49,47
	M	0,55	3,76	-	-	6,86	0,04	0,55	29,24	0,11	5,47	0,11	0,09	-	0,42	6,37	0,02	4,34	0,04	102,86
	p	0,9	0,39	-	-	0,19	0,41	0,03	0,08	0,2	0,79	0,75	0,22	-	0,55	0,39	0,88	0,33	0,17	0,73

		TB																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3
	x	0,67	2,56	0,03	-	5,84	0,05	0,31	17,43	0,09	5,21	0,09	0,07	0,12	0,37	6,32	0,03	3,55	0,01	42,11
	SD	0,78	0,45	.	-	0,36	0,02	0,04	0,74	0,06	0,25	0,03	0,03	.	0,02	0,72	0,04	0,33	0,01	20,99
	m	0,20	2,25	0,03	-	5,52	0,04	0,27	16,60	0,04	4,93	0,08	0,04	0,12	0,35	5,69	0,01	3,18	0,01	18,69
	M	1,57	3,08	0,03	-	6,24	0,07	0,34	18,03	0,15	5,36	0,13	0,10	0,12	0,39	7,10	0,08	3,79	0,02	59,21
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	2	1	3
	x	1,07	2,51	-	-	6,39	0,06	1,60	28,20	0,08	5,03	0,11	0,09	0,01	0,57	7,04	0,03	3,70	0,04	58,40
	SD	0,83	0,14	-	-	0,40	0,03	1,26	5,83	0,00	0,13	0,04	0,04	.	0,17	1,41	0,02	0,15	.	15,77
	m	0,50	2,34	-	-	5,92	0,02	0,87	21,76	0,08	4,94	0,07	0,05	0,01	0,45	6,11	0,02	3,59	0,04	40,19
	M	2,03	2,59	-	-	6,65	0,09	3,05	33,12	0,09	5,18	0,14	0,12	0,01	0,76	8,66	0,05	3,80	0,04	67,76
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	1,22	2,92	-	-	6,04	0,04	0,47	20,78	0,05	5,03	0,09	0,07	-	0,45	6,08	0,03	3,33	0,02	62,54
	SD	0,67	0,57	-	-	0,34	0,02	0,17	7,08	0,02	0,36	0,03	0,03	-	0,08	0,47	0,01	0,35	0,01	17,47
	m	0,50	2,46	-	-	5,78	0,03	0,34	16,26	0,03	4,74	0,07	0,04	-	0,36	5,76	0,01	2,96	0,01	51,34
	M	1,84	3,56	-	-	6,43	0,06	0,66	28,94	0,07	5,43	0,12	0,10	-	0,50	6,62	0,04	3,64	0,03	82,67
	p	0,43	0,43	-	-	0,15	0,56	0,04	0,12	0,15	0,67	0,96	0,43	0,32	0,08	0,56	1	0,37	0,3	0,43

Tabla 5.5. (Continuación). Grupo de exposición: Pb+Cu

		GD																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	1	3	3	3	ND	3	3	3	ND	1	3
	x	5,46	3,93	-	-	7,02	0,22	0,73	50,47	0,28	6,48	0,34	0,37	-	0,59	9,95	0,13	-	0,08	69,27
	SD	6,72	0,96	-	-	1,59	0,11	0,55	31,32	.	2,84	0,20	0,39	-	0,20	2,99	0,18	-	.	49,43
	m	1,24	3,09	-	-	5,90	0,14	0,41	32,06	0,28	4,67	0,22	0,13	-	0,36	7,99	0,03	-	0,08	36,67
	M	13,21	4,97	-	-	8,84	0,34	1,36	86,63	0,28	9,75	0,57	0,82	-	0,73	13,39	0,34	-	0,08	126,15
R2	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	ND	3	3	3	ND	3	3	3	ND	ND	3
	x	2,08	3,46	0,01	-	6,90	0,18	0,44	38,03	-	4,95	0,25	0,17	-	0,62	7,87	0,06	-	-	71,72
	SD	0,67	0,48	.	-	0,18	0,02	0,05	5,04	-	0,20	0,09	0,17	-	0,10	1,16	0,02	-	-	35,99
	m	1,31	2,94	0,01	-	6,71	0,16	0,38	32,21	-	4,76	0,19	0,07	-	0,54	6,90	0,04	-	-	31,37
	M	2,58	3,89	0,01	-	7,06	0,20	0,48	41,04	-	5,15	0,35	0,37	-	0,73	9,16	0,08	-	-	100,50
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3	3	3	ND	3	3	3	ND	ND	3
	x	2,86	3,42	-	-	6,92	0,18	0,48	32,55	-	4,97	0,27	0,20	-	0,72	7,10	0,04	-	-	46,03
	SD	2,26	0,37	-	-	1,04	0,03	0,06	3,18	-	0,09	0,02	0,09	-	0,06	0,69	0,02	-	-	5,37
	m	1,37	3,00	-	-	5,76	0,15	0,41	29,24	-	4,91	0,25	0,13	-	0,65	6,34	0,02	-	-	39,85
	M	5,46	3,69	-	-	7,75	0,20	0,53	35,58	-	5,07	0,28	0,30	-	0,77	7,70	0,06	-	-	49,60
p	1	0,59	-	-	0,96	0,99	0,71	0,67	-	0,96	0,62	0,58	-	0,42	0,15	0,64	-	-	0,96	

		BR																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	1	3	3	ND	3	3	ND	ND	3	3	3	3	ND	3
	x	1,05	1,89	-	-	4,85	0,02	0,27	11,88	-	5,36	0,02	-	-	0,41	6,73	0,03	2,87	-	29,63
	SD	0,58	0,28	-	-	0,06	.	0,05	1,27	-	0,07	0,01	-	-	0,01	0,35	0,02	0,46	-	15,77
	m	0,55	1,57	-	-	4,79	0,02	0,21	10,41	-	5,29	0,01	-	-	0,41	6,35	0,01	2,34	-	11,61
	M	1,68	2,07	-	-	4,90	0,02	0,31	12,65	-	5,43	0,03	-	-	0,42	7,03	0,04	3,19	-	40,91
R2	n	2	3	1	ND	3	1	3	3	ND	3	2	ND	1	3	3	3	3	ND	3
	x	2,03	2,02	0,27	-	5,74	0,06	0,31	12,17	-	5,41	0,10	-	0,08	0,42	6,60	0,05	2,73	-	30,77
	SD	2,02	0,24	.	-	0,49	.	0,11	1,48	-	0,32	0,06	-	.	0,07	0,07	0,07	0,45	-	21,37
	m	0,60	1,80	0,27	-	5,25	0,06	0,19	10,66	-	5,05	0,05	-	0,08	0,38	6,52	0,01	2,21	-	12,46
	M	3,46	2,28	0,27	-	6,22	0,06	0,41	13,62	-	5,66	0,14	-	0,08	0,50	6,66	0,13	3,03	-	54,25
R3	n	3	3	ND	ND	3	1	3	3	ND	3	3	ND	1	3	3	3	3	ND	3
	x	1,89	1,71	-	-	5,62	0,03	0,28	12,28	-	5,19	0,02	-	0,01	0,42	6,49	0,02	3,70	-	19,37
	SD	1,63	0,11	-	-	0,85	.	0,04	2,44	-	0,13	0,01	-	.	0,03	0,07	0,01	0,21	-	2,13
	m	0,83	1,60	-	-	4,84	0,03	0,24	10,02	-	5,05	0,02	-	0,01	0,39	6,42	0,02	3,57	-	17,76
	M	3,77	1,82	-	-	6,52	0,03	0,32	14,86	-	5,30	0,03	-	0,01	0,44	6,56	0,03	3,95	-	21,78
p	0,71	0,39	-	-	0,18	0,37	0,73	0,96	-	0,35	0,11	-	0,32	0,79	0,43	0,86	0,05	-	0,73	

Tabla 5.5. (Continuación).

		RE																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	2	3	2	3
	x	0,34	2,72	-	-	6,13	0,03	0,30	16,79	0,10	4,75	0,07	0,06	0,04	0,36	7,41	0,02	3,80	0,02	54,14
	SD	0,31	0,13	-	-	0,33	0,01	0,05	2,05	0,02	0,28	0,01	0,03	.	0,10	2,84	0,01	0,36	0,01	12,33
	m	0,09	2,62	-	-	5,77	0,02	0,26	14,83	0,09	4,43	0,07	0,04	0,04	0,26	5,57	0,01	3,59	0,01	45,69
	M	0,69	2,87	-	-	6,42	0,04	0,36	18,92	0,12	4,95	0,08	0,10	0,04	0,46	10,68	0,03	4,22	0,02	68,29
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	1	3
	x	0,24	2,63	-	-	7,14	0,04	0,36	18,96	0,10	5,10	0,07	0,05	-	0,36	7,75	0,03	4,02	0,02	75,26
	SD	0,24	0,54	-	-	0,18	0,01	0,07	6,42	0,00	0,33	0,02	0,04	-	0,12	2,79	0,03	0,33	.	12,28
	m	0,10	2,03	-	-	6,94	0,03	0,29	13,44	0,10	4,72	0,06	0,02	-	0,23	5,66	0,01	3,78	0,02	63,32
	M	0,51	3,08	-	-	7,29	0,05	0,43	26,01	0,10	5,29	0,10	0,09	-	0,46	10,92	0,07	4,40	0,02	87,86
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	0,10	2,41	-	-	6,64	0,05	0,31	19,12	0,10	4,90	0,07	0,09	-	0,29	5,68	0,01	4,10	0,04	77,98
	SD	0,07	0,04	-	-	0,71	0,02	0,08	7,48	0,00	0,18	0,03	0,04	-	0,08	0,20	0,00	0,13	0,02	45,72
	m	0,02	2,37	-	-	6,15	0,04	0,24	11,88	0,10	4,70	0,04	0,06	-	0,22	5,45	0,01	3,96	0,02	27,12
	M	0,15	2,45	-	-	7,45	0,07	0,40	26,82	0,10	5,01	0,10	0,13	-	0,37	5,80	0,01	4,22	0,05	115,65
p	0,67	0,29	-	-	0,2	0,23	0,36	0,96	1	0,33	0,92	0,26	-	0,5	0,39	0,5	0,47	0,37	0,43	

		TB																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3
	x	1,08	2,73	-	-	6,02	0,05	0,35	20,08	0,08	5,06	0,10	0,09	0,03	0,40	7,59	0,03	3,16	0,02	51,47
	SD	0,95	0,19	-	-	0,33	0,01	0,10	3,64	0,02	0,50	0,02	0,04	.	0,05	2,38	0,02	0,24	0,00	11,50
	m	0,53	2,50	-	-	5,64	0,04	0,27	16,66	0,06	4,63	0,08	0,05	0,03	0,34	5,98	0,01	2,96	0,01	43,18
	M	2,18	2,85	-	-	6,27	0,06	0,47	23,91	0,10	5,61	0,13	0,13	0,03	0,44	10,32	0,05	3,43	0,02	64,60
R2	n	3	3	2	ND	3	3	3	3	3	3	2	3	1	3	3	3	3	1	3
	x	0,68	2,62	0,03	-	6,85	0,05	0,36	20,01	0,07	5,14	0,11	0,05	0,01	0,40	7,52	0,04	3,29	0,01	66,11
	SD	0,42	0,47	0,03	-	0,08	0,01	0,05	4,97	0,00	0,31	0,02	0,02	.	0,10	1,73	0,02	0,21	.	7,36
	m	0,22	2,10	0,00	-	6,78	0,04	0,31	15,41	0,07	4,79	0,10	0,03	0,01	0,29	6,31	0,02	3,12	0,01	58,75
	M	1,05	3,01	0,05	-	6,93	0,06	0,39	25,28	0,07	5,34	0,12	0,07	0,01	0,48	9,50	0,06	3,53	0,01	73,47
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3
	x	0,74	2,37	-	-	6,46	0,06	0,32	19,06	0,07	4,96	0,08	0,09	0,00	0,36	5,98	0,02	3,59	0,02	61,73
	SD	0,22	0,05	-	-	0,76	0,01	0,06	6,09	0,00	0,15	0,02	0,02	.	0,07	0,13	0,00	0,21	0,01	31,24
	m	0,49	2,33	-	-	5,81	0,05	0,27	13,01	0,07	4,79	0,06	0,06	0,00	0,29	5,83	0,01	3,40	0,01	26,55
	M	0,90	2,43	-	-	7,30	0,06	0,38	25,20	0,07	5,06	0,10	0,10	0,00	0,43	6,09	0,02	3,82	0,03	86,22
p	0,96	0,25	-	-	0,2	0,67	0,39	0,88	0,73	0,88	0,57	0,43	0,37	0,49	0,18	0,33	0,15	0,37	0,43	

**Tabla 5. 6.** Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup> peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase Experimental 2. *p*=Kruskal Wallis.

Grupo de exposición: CONTROL

		GD																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	2	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	ND	2	3
	x	1,68	3,72	0,01	-	7,04	0,37	0,57	41,19	0,27	6,08	0,35	1,85	0,02	0,24	7,84	0,10	-	0,08	142,75
	SD	0,20	0,53	0,00	-	0,62	0,11	0,13	6,52	0,07	0,14	0,02	0,34	.	0,21	0,20	0,02	-	0,05	82,55
	m	1,50	3,13	0,01	-	6,63	0,29	0,46	35,06	0,19	5,98	0,33	1,47	0,02	0,01	7,71	0,09	-	0,04	67,93
	M	1,89	4,16	0,01	-	7,75	0,50	0,72	48,03	0,33	6,24	0,37	2,15	0,02	0,41	8,08	0,13	-	0,11	231,30
R2	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	1	3	3	ND	ND	3
	x	2,47	4,07	0,01	-	8,18	0,57	0,67	45,89	0,26	6,34	0,42	2,08	0,03	0,02	8,64	0,10	-	-	121,19
	SD	0,69	0,16	.	-	0,45	0,03	0,18	1,54	0,11	0,17	0,05	0,26	0,00	.	2,02	0,03	-	-	16,77
	m	1,68	3,92	0,01	-	7,67	0,55	0,52	44,18	0,13	6,19	0,36	1,87	0,02	0,02	6,51	0,07	-	-	103,98
	M	2,89	4,23	0,01	-	8,54	0,60	0,87	47,14	0,33	6,52	0,46	2,37	0,03	0,02	10,53	0,13	-	-	137,49
R3	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	ND	2	3
	x	4,75	4,83	0,01	-	6,70	0,60	0,76	46,58	0,23	6,64	0,40	1,54	0,07	0,16	12,76	0,32	-	0,05	172,31
	SD	4,65	0,56	.	-	0,60	0,26	0,29	10,61	0,01	0,80	0,09	0,59	0,06	0,06	6,98	0,22	-	0,01	116,28
	m	1,94	4,24	0,01	-	6,01	0,31	0,44	36,03	0,22	5,83	0,32	1,00	0,01	0,11	7,97	0,14	-	0,05	57,54
	M	10,12	5,36	0,01	-	7,09	0,80	1,02	57,25	0,24	7,43	0,49	2,17	0,13	0,20	###	0,56	-	0,06	290,04
<i>p</i>		0,11	0,05	0,26	-	0,11	0,19	0,73	0,73	0,73	0,43	0,39	0,49	0,65	0,65	0,33	0,07	-	1	0,84

		BR																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3
	x	2,67	1,97	0,29	-	5,82	0,13	0,35	15,96	0,37	6,42	0,14	0,85	0,16	0,14	6,94	0,10	0,70	0,04	39,51
	SD	3,63	0,16	.	-	0,28	0,01	0,20	1,66	0,26	0,44	0,06	0,25	0,18	0,10	0,16	0,09	0,45	0,04	31,55
	m	0,54	1,87	0,29	-	5,55	0,12	0,21	14,07	0,19	5,94	0,10	0,59	0,03	0,03	6,76	0,05	0,24	0,01	12,10
	M	6,86	2,16	0,29	-	6,12	0,14	0,58	17,19	0,66	6,81	0,21	1,08	0,28	0,21	7,08	0,20	1,13	0,07	74,00
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	1	3
	x	0,65	2,01	-	-	6,73	0,13	0,27	15,86	0,23	6,75	0,10	0,88	-	0,13	7,09	0,06	1,35	0,01	50,74
	SD	0,26	0,20	-	-	0,27	0,02	0,04	4,06	0,05	0,41	0,01	0,13	-	0,03	0,41	0,00	0,29	.	23,41
	m	0,37	1,80	-	-	6,53	0,11	0,22	12,07	0,19	6,46	0,09	0,78	-	0,11	6,79	0,06	1,05	0,01	29,13
	M	0,88	2,19	-	-	7,04	0,16	0,29	20,14	0,28	7,21	0,11	1,02	-	0,17	7,55	0,06	1,62	0,01	75,61
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	ND	3
	x	1,05	2,26	-	-	5,60	0,10	0,23	16,78	0,22	6,56	0,10	0,68	0,01	0,14	6,73	0,05	1,18	-	28,67
	SD	0,83	0,31	-	-	0,40	0,02	0,03	2,65	0,03	0,15	0,00	0,30	.	0,09	0,34	0,01	0,39	-	19,19
	m	0,42	1,90	-	-	5,29	0,07	0,20	15,10	0,19	6,38	0,10	0,49	0,01	0,08	6,36	0,04	0,95	-	16,32
	M	2,00	2,47	-	-	6,05	0,11	0,26	19,83	0,24	6,66	0,11	1,02	0,01	0,25	7,05	0,05	1,63	-	50,78
<i>p</i>		0,88	0,29	-	-	0,05	0,06	0,43	0,96	0,76	0,84	0,42	0,56	0,22	0,96	0,56	0,15	0,25	1	0,56

Tabla 5.6. (Continuación).

		RE																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	1	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	0,09	2,99	-	-	5,18	0,07	0,39	28,95	0,06	5,51	0,10	0,09	-	0,35	6,63	0,02	3,84	0,04	86,92
	SD	.	0,37	-	-	0,18	0,04	0,08	3,46	0,02	0,11	0,02	0,02	-	0,15	0,37	0,00	0,25	0,01	15,97
	m	0,09	2,59	-	-	4,99	0,03	0,32	25,18	0,04	5,38	0,08	0,07	-	0,23	6,29	0,02	3,56	0,03	69,32
	M	0,09	3,32	-	-	5,35	0,10	0,48	31,98	0,08	5,58	0,11	0,10	-	0,51	7,03	0,02	4,06	0,04	100,48
R2	n	1	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	0,16	2,95	-	-	6,87	0,07	0,40	28,48	0,07	5,87	0,10	0,07	-	0,37	6,98	0,02	4,10	0,04	80,22
	SD	.	0,24	-	-	0,29	0,03	0,09	7,20	0,03	0,31	0,03	0,02	-	0,04	0,49	0,02	0,28	0,04	42,33
	m	0,16	2,75	-	-	6,69	0,04	0,33	21,78	0,05	5,67	0,07	0,05	-	0,33	6,42	0,01	3,82	0,01	32,14
	M	0,16	3,22	-	-	7,21	0,09	0,50	36,09	0,10	6,23	0,12	0,08	-	0,41	7,29	0,05	4,38	0,06	111,89
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	3	3
	x	0,34	3,46	-	-	6,23	0,09	0,48	30,61	0,09	5,92	0,11	0,18	-	0,34	7,97	0,02	4,29	0,04	137,66
	SD	0,12	0,24	-	-	0,15	0,06	0,11	8,13	0,03	0,55	0,03	0,11	-	0,08	2,17	0,01	0,46	0,05	71,38
	m	0,22	3,21	-	-	6,07	0,02	0,35	22,02	0,06	5,31	0,08	0,09	-	0,25	6,25	0,02	3,79	0,01	55,25
	M	0,46	3,68	-	-	6,36	0,14	0,55	38,18	0,11	6,36	0,13	0,30	-	0,39	10,41	0,03	4,70	0,10	180,03
p	0,202	0,19	-	-	0,03	0,74	0,41	0,84	0,4	0,29	0,56	0,09	-	0,73	0,59	0,62	0,43	0,93	0,59	

		TB																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3
	x	0,99	2,83	0,08	-	5,62	0,13	0,41	27,28	0,17	5,83	0,15	0,54	0,04	0,28	6,89	0,05	2,44	0,04	81,92
	SD	1,05	0,33	.	-	0,11	0,03	0,08	3,15	0,06	0,13	0,02	0,07	0,05	0,13	0,22	0,03	0,17	0,01	22,66
	m	0,34	2,48	0,08	-	5,49	0,09	0,31	23,85	0,13	5,74	0,12	0,45	0,01	0,15	6,72	0,04	2,33	0,03	59,93
	M	2,21	3,12	0,08	-	5,69	0,15	0,46	30,03	0,25	5,98	0,17	0,59	0,08	0,41	7,14	0,09	2,64	0,05	105,19
R2	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3
	x	0,51	2,84	0,00	-	6,98	0,14	0,40	27,39	0,13	6,14	0,14	0,52	0,00	0,27	7,20	0,04	2,89	0,02	77,22
	SD	0,11	0,22	.	-	0,20	0,02	0,08	5,62	0,03	0,18	0,01	0,01	0,00	0,01	0,45	0,02	0,21	0,02	31,07
	m	0,38	2,63	0,00	-	6,86	0,12	0,35	22,17	0,11	6,00	0,12	0,51	0,00	0,26	6,69	0,03	2,66	0,01	43,51
	M	0,57	3,07	0,00	-	7,21	0,16	0,49	33,34	0,17	6,34	0,15	0,53	0,00	0,28	7,53	0,06	3,07	0,04	104,72
R3	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	x	0,96	3,30	0,00	-	6,12	0,15	0,44	28,78	0,14	6,16	0,14	0,47	0,01	0,26	8,12	0,06	2,98	0,03	112,93
	SD	0,38	0,21	.	-	0,23	0,07	0,10	5,86	0,02	0,47	0,02	0,17	0,01	0,07	2,07	0,02	0,34	0,03	58,31
	m	0,57	3,06	0,00	-	5,88	0,07	0,33	22,36	0,11	5,63	0,12	0,35	0,00	0,20	6,51	0,04	2,61	0,01	46,60
	M	1,33	3,46	0,00	-	6,34	0,19	0,52	33,84	0,16	6,53	0,16	0,66	0,01	0,33	10,46	0,07	3,28	0,07	156,12
p	0,43	0,19	0,37	-	0,03	0,67	0,67	0,73	0,67	0,29	0,96	0,67	0,38	0,96	0,73	0,33	0,12	0,65	0,56	

Tabla 5.6. (Continuación). Grupo de exposición: Cd

		GD																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	1	3	3	ND	1	3
	x	3,95	4,13	0,01	-	7,33	0,59	0,74	41,22	0,24	6,69	0,51	2,71	0,07	0,27	8,38	0,16	-	0,17	211,71
	SD	1,92	0,71	.	-	0,27	0,19	0,17	0,61	0,13	0,45	0,10	0,89	0,05	.	2,30	0,04	-	.	62,67
	m	2,71	3,54	0,01	-	7,04	0,41	0,61	40,62	0,11	6,17	0,40	1,71	0,03	0,27	6,78	0,11	-	0,17	153,34
	M	6,16	4,92	0,01	-	7,58	0,78	0,93	41,84	0,38	6,99	0,61	3,42	0,10	0,27	11,01	0,19	-	0,17	277,94
R2	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	1	3
	x	2,05	4,52	0,01	-	6,91	0,51	0,59	39,99	0,22	6,25	0,43	1,68	0,03	0,24	10,40	0,11	-	0,06	133,36
	SD	0,91	0,49	.	-	0,33	0,13	0,16	2,54	0,07	0,28	0,10	0,49	0,03	0,13	3,16	0,02	-	.	66,01
	m	1,05	3,96	0,01	-	6,52	0,37	0,41	38,04	0,14	6,00	0,33	1,38	0,01	0,14	8,33	0,09	-	0,06	63,60
	M	2,83	4,86	0,01	-	7,10	0,62	0,71	42,87	0,27	6,56	0,54	2,25	0,06	0,39	14,04	0,13	-	0,06	194,84
R3	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	2	3	3	ND	ND	3
	x	2,65	4,42	0,02	-	6,94	0,39	0,65	41,79	0,40	6,16	0,44	1,81	0,16	0,07	7,84	0,11	-	-	40,65
	SD	1,03	0,45	.	-	0,70	0,12	0,23	10,86	0,19	0,42	0,11	0,43	.	0,00	1,42	0,03	-	-	9,96
	m	1,65	4,10	0,02	-	6,21	0,27	0,38	29,25	0,22	5,77	0,31	1,37	0,16	0,07	6,73	0,08	-	-	30,42
	M	3,70	4,94	0,02	-	7,61	0,50	0,80	48,25	0,60	6,61	0,50	2,21	0,16	0,07	9,44	0,13	-	-	50,30
p	0,25	0,56	0,37	-	0,59	0,39	0,73	0,67	0,43	0,29	0,56	0,3	0,21	0,17	0,43	0,24	-	0,32	0,04	

		BR																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	1	3	3	2	1	3
	x	1,03	2,02	-	-	6,10	0,14	0,39	17,24	0,27	6,76	0,11	0,82	0,02	0,23	7,31	0,07	0,85	0,01	62,59
	SD	0,16	0,19	-	-	0,34	0,07	0,12	4,51	0,02	0,17	0,01	0,30	0,02	.	0,26	0,01	0,65	.	43,78
	m	0,91	1,89	-	-	5,90	0,09	0,30	14,17	0,26	6,57	0,10	0,64	0,01	0,23	7,12	0,06	0,39	0,01	19,21
	M	1,21	2,23	-	-	6,50	0,22	0,53	22,42	0,28	6,90	0,12	1,16	0,04	0,23	7,60	0,07	1,31	0,01	106,77
R2	n	3	3	2	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	1	3
	x	2,49	2,55	0,17	-	6,38	0,16	0,34	16,64	0,45	7,34	0,17	0,81	0,38	0,07	7,62	0,13	0,61	0,09	45,21
	SD	1,24	0,27	0,23	-	1,00	0,08	0,15	3,93	0,26	0,73	0,11	0,21	.	0,07	0,75	0,08	0,73	.	34,22
	m	1,20	2,39	0,01	-	5,76	0,09	0,22	13,25	0,28	6,71	0,09	0,58	0,38	0,01	6,96	0,04	0,07	0,09	20,26
	M	3,67	2,86	0,34	-	7,54	0,24	0,51	20,94	0,76	8,15	0,30	1,00	0,38	0,15	8,44	0,20	1,44	0,09	84,22
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3
	x	0,76	2,52	-	-	5,91	0,11	0,29	17,69	0,29	6,90	0,11	0,63	0,02	0,14	7,21	0,09	1,11	0,01	50,57
	SD	0,15	0,31	-	-	0,29	0,05	0,05	4,68	0,04	0,24	0,02	0,15	0,02	0,02	0,13	0,03	0,21	.	35,08
	m	0,60	2,16	-	-	5,58	0,08	0,24	14,02	0,25	6,69	0,09	0,46	0,01	0,12	7,10	0,06	0,87	0,01	10,68
	M	0,90	2,73	-	-	6,12	0,17	0,33	22,95	0,33	7,17	0,12	0,71	0,05	0,16	7,35	0,12	1,26	0,01	76,62
p	0,04	0,11	-	-	0,87	0,73	0,43	0,84	0,26	0,44	0,67	0,73	0,29	0,21	0,73	0,56	0,76	0,37	0,96	



Tabla 5.6. (Continuación).

		RE																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	2	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	1	3
	x	0,41	3,27	-	-	6,36	0,05	0,74	24,85	0,07	5,99	0,12	0,10	-	0,33	7,87	0,04	3,88	0,05	62,69
	SD	0,07	0,64	-	-	0,52	0,05	0,23	6,18	0,03	0,09	0,05	0,04	-	0,02	0,80	0,01	0,21	.	16,66
	m	0,36	2,54	-	-	5,88	0,02	0,54	20,31	0,05	5,90	0,08	0,07	-	0,31	7,34	0,03	3,69	0,05	45,43
M	0,46	3,72	-	-	6,91	0,11	0,99	31,89	0,10	6,08	0,18	0,14	-	0,34	8,79	0,05	4,10	0,05	78,68	
R2	n	2	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	ND	3
	x	0,13	3,51	-	-	6,24	0,04	0,58	23,69	0,07	5,71	0,10	0,06	-	0,35	7,06	0,02	3,89	-	65,07
	SD	0,15	0,17	-	-	0,11	0,02	0,24	4,42	0,03	0,26	0,01	0,01	-	0,01	0,37	0,01	0,35	-	14,75
	m	0,02	3,35	-	-	6,12	0,03	0,36	19,67	0,05	5,54	0,10	0,06	-	0,34	6,78	0,01	3,49	-	48,28
M	0,23	3,68	-	-	6,33	0,06	0,83	28,43	0,10	6,01	0,11	0,07	-	0,36	7,48	0,03	4,12	-	75,91	
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	0,05	3,36	-	-	6,23	0,06	0,83	32,30	0,10	5,83	0,12	0,12	-	0,40	7,33	0,02	4,31	0,06	92,13
	SD	0,05	0,40	-	-	0,82	0,05	0,22	13,12	0,05	0,26	0,04	0,08	-	0,03	0,22	0,01	0,73	0,01	45,61
	m	0,02	3,13	-	-	5,65	0,02	0,62	17,40	0,05	5,55	0,09	0,05	-	0,37	7,10	0,01	3,57	0,05	39,76
M	0,10	3,83	-	-	7,17	0,11	1,06	42,13	0,14	6,06	0,16	0,21	-	0,43	7,54	0,02	5,02	0,07	123,14	
p	0,12	0,96	-	-	0,74	0,9	0,44	0,73	0,72	0,39	0,79	0,35	-	0,04	0,32	0,09	0,59	0,48	0,73	

		TB																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3
	x	0,88	2,98	0,00	-	6,39	0,14	0,63	24,45	0,15	6,27	0,16	0,58	0,01	0,23	7,79	0,06	2,49	0,06	80,99
	SD	0,12	0,43	.	-	0,41	0,05	0,14	5,08	0,03	0,05	0,03	0,08	0,01	0,05	0,75	0,01	0,17	.	20,32
	m	0,76	2,54	0,00	-	6,07	0,10	0,50	21,17	0,13	6,24	0,14	0,51	0,00	0,20	7,23	0,05	2,30	0,06	62,71
M	1,01	3,40	0,00	-	6,86	0,20	0,78	30,31	0,18	6,33	0,19	0,67	0,01	0,29	8,64	0,07	2,62	0,06	102,87	
R2	n	3	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
	x	0,93	3,42	0,03	-	6,36	0,14	0,52	24,39	0,18	6,17	0,16	0,47	0,03	0,26	7,64	0,06	2,54	0,01	70,73
	SD	0,12	0,08	0,04	-	0,33	0,05	0,17	3,77	0,04	0,19	0,02	0,11	0,05	0,03	0,31	0,01	0,38	0,01	22,23
	m	0,79	3,33	0,00	-	6,11	0,09	0,34	20,71	0,16	5,96	0,15	0,35	0,00	0,23	7,42	0,05	2,18	0,01	46,57
M	1,01	3,48	0,07	-	6,73	0,19	0,67	28,25	0,22	6,32	0,19	0,56	0,09	0,29	8,00	0,07	2,94	0,02	90,33	
R3	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
	x	0,51	3,27	0,00	-	6,25	0,11	0,69	29,70	0,18	6,11	0,15	0,43	0,01	0,30	7,36	0,04	3,07	0,04	75,89
	SD	0,20	0,31	.	-	0,64	0,05	0,15	10,02	0,01	0,17	0,03	0,12	0,02	0,03	0,24	0,01	0,63	0,01	29,53
	m	0,32	3,03	0,00	-	5,69	0,07	0,55	18,31	0,16	5,92	0,13	0,35	0,00	0,27	7,20	0,03	2,40	0,03	43,26
M	0,72	3,62	0,00	-	6,95	0,17	0,84	37,14	0,19	6,23	0,18	0,57	0,03	0,33	7,64	0,05	3,64	0,05	100,78	
p	0,06	0,25	0,67	-	0,84	0,73	0,67	0,73	0,29	0,15	0,84	0,29	1	0,15	0,56	0,11	0,43	0,17	0,84	

Tabla 5.6. (Continuación). Grupo de exposición: Cd+Pb

		GD																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	1	3	3	2	ND	3	3	3	ND	1	3
	x	6,27	4,30	-	-	7,32	0,22	0,42	49,97	0,04	6,13	0,20	0,20	-	0,16	8,39	0,13	-	0,01	73,27
	SD	6,53	1,11	-	-	0,87	0,10	0,13	1,90	.	0,73	0,09	0,18	-	0,05	1,98	0,11	-	.	39,97
	m	2,17	3,04	-	-	6,33	0,13	0,28	47,89	0,04	5,35	0,12	0,07	-	0,10	6,31	0,06	-	0,01	39,33
M	13,80	5,09	-	-	7,93	0,32	0,52	51,62	0,04	6,80	0,31	0,32	-	0,21	10,26	0,26	-	0,01	117,33	
R2	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	1	3	3	ND	2	3
	x	2,06	3,64	0,03	-	7,33	0,38	0,57	39,70	0,28	6,11	0,35	1,58	0,02	0,12	8,29	0,12	-	0,03	72,02
	SD	0,97	0,58	.	-	0,64	0,04	0,09	5,35	0,03	0,46	0,08	0,42	.	.	1,93	0,05	-	0,03	24,77
	m	0,96	3,19	0,03	-	6,82	0,35	0,49	36,57	0,26	5,59	0,28	1,12	0,02	0,12	6,22	0,08	-	0,01	53,51
M	2,80	4,30	0,03	-	8,05	0,42	0,67	45,88	0,31	6,46	0,44	1,95	0,02	0,12	10,04	0,17	-	0,05	100,17	
R3	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	ND	ND	3
	x	2,80	4,14	0,01	-	7,35	0,50	0,75	41,47	0,28	6,24	0,44	2,18	0,04	0,16	9,77	0,16	-	-	96,08
	SD	0,87	0,45	.	-	0,32	0,07	0,25	4,71	0,17	0,16	0,10	0,33	0,06	.	2,35	0,02	-	-	65,32
	m	2,18	3,66	0,01	-	7,09	0,44	0,53	36,35	0,10	6,09	0,33	1,88	0,01	0,16	7,81	0,14	-	-	44,74
M	3,80	4,56	0,01	-	7,71	0,57	1,02	45,63	0,44	6,41	0,52	2,54	0,11	0,16	12,37	0,18	-	-	169,60	
p	0,56	0,56	0,32	-	1	0,03	0,08	0,07	0,32	0,96	0,08	0,07	0,66	0,76	0,73	0,59	-	-	0,88	

		BR																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	2	3	3	3	3	2	2	1	3	3	3	2	1	3
	x	1,70	2,41	-	-	6,81	0,11	0,21	21,65	0,11	7,18	0,08	0,39	0,01	0,18	6,87	0,05	0,59	0,09	54,40
	SD	0,91	0,41	-	-	0,03	0,10	0,07	4,91	0,09	0,42	0,05	0,41	.	0,12	0,66	0,02	0,14	.	43,75
	m	1,04	1,96	-	-	6,78	0,04	0,15	17,64	0,04	6,76	0,04	0,10	0,01	0,05	6,20	0,03	0,50	0,09	27,31
M	2,74	2,76	-	-	6,84	0,18	0,29	27,12	0,20	7,60	0,11	0,68	0,01	0,27	7,53	0,07	0,69	0,09	104,87	
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	2	3	3	3	ND	3
	x	0,93	2,07	-	-	6,09	0,12	0,24	17,24	0,26	6,78	0,10	0,66	0,02	0,16	7,44	0,06	0,25	-	57,38
	SD	0,40	0,20	-	-	0,75	0,03	0,06	2,00	0,05	0,20	0,00	0,18	.	0,07	0,38	0,01	0,21	-	4,55
	m	0,50	1,84	-	-	5,46	0,09	0,18	15,07	0,21	6,60	0,09	0,47	0,02	0,11	7,02	0,05	0,06	-	52,62
M	1,28	2,20	-	-	6,92	0,15	0,29	19,02	0,30	7,00	0,10	0,80	0,02	0,21	7,75	0,07	0,48	-	61,68	
R3	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	2	1	3
	x	0,67	2,06	0,10	-	6,06	0,12	0,28	14,10	0,26	6,47	0,13	0,70	0,14	0,11	7,13	0,06	0,53	0,02	49,83
	SD	0,71	0,06	.	-	0,77	0,02	0,07	2,39	0,10	0,26	0,04	0,09	0,18	0,05	0,25	0,03	0,12	.	29,93
	m	0,24	2,00	0,10	-	5,52	0,10	0,21	11,53	0,18	6,17	0,10	0,60	0,01	0,06	6,84	0,04	0,45	0,02	28,95
M	1,49	2,12	0,10	-	6,95	0,14	0,33	16,27	0,37	6,65	0,17	0,77	0,26	0,15	7,29	0,09	0,61	0,02	84,12	
p	0,29	0,56	-	-	0,73	0,99	0,32	0,06	0,11	0,06	0,3	0,41	0,41	0,57	0,29	0,96	0,17	0,32	0,73	

Tabla 5.6. (Continuación).

		RE																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	3	3
	x	0,18	3,14	-	-	6,33	0,04	1,47	31,74	0,08	5,57	0,12	0,08	-	0,41	7,06	0,03	4,03	0,02	46,08
	SD	0,12	0,55	-	-	0,21	0,03	1,21	6,02	0,01	0,25	0,05	0,03	-	0,21	1,40	0,02	0,16	0,02	25,32
	m	0,05	2,50	-	-	6,13	0,01	0,58	28,18	0,07	5,33	0,09	0,06	-	0,24	6,03	0,01	3,85	0,01	22,41
M	0,28	3,48	-	-	6,54	0,06	2,85	38,69	0,09	5,82	0,17	0,11	-	0,65	8,66	0,05	4,16	0,04	72,78	
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	0,16	3,01	-	-	6,26	0,04	0,54	24,90	0,06	5,75	0,09	0,08	-	0,36	7,59	0,03	3,96	0,02	47,04
	SD	0,12	0,33	-	-	0,29	0,02	0,16	0,95	0,03	0,30	0,03	0,03	-	0,08	1,07	0,01	0,11	0,01	4,83
	m	0,05	2,70	-	-	6,01	0,02	0,39	23,99	0,04	5,42	0,06	0,05	-	0,27	6,84	0,03	3,84	0,01	41,54
M	0,29	3,35	-	-	6,57	0,05	0,70	25,88	0,09	6,01	0,12	0,10	-	0,42	8,82	0,04	4,03	0,03	50,60	
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	2	3	1	3
	x	0,80	2,97	-	-	6,72	0,07	0,41	23,57	0,12	5,89	0,10	0,09	-	0,35	11,28	0,06	4,02	0,01	115,97
	SD	1,16	0,42	-	-	0,47	0,02	0,10	5,84	0,03	0,02	0,02	0,04	-	0,12	7,09	0,06	0,92	.	52,33
	m	0,10	2,50	-	-	6,39	0,06	0,31	17,34	0,09	5,87	0,08	0,05	-	0,24	7,19	0,02	3,04	0,01	82,12
M	2,14	3,32	-	-	7,26	0,10	0,51	28,92	0,14	5,90	0,11	0,12	-	0,48	19,47	0,10	4,87	0,01	176,24	
p	0,92	0,65	-	-	0,43	0,1	0,08	0,19	0,09	0,17	0,83	0,79	-	0,93	0,33	0,66	0,58	0,62	0,07	

		TB																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3
	x	1,42	3,11	-	-	6,60	0,08	1,02	31,78	0,08	6,06	0,11	0,14	0,00	0,32	7,18	0,05	2,53	0,02	53,36
	SD	0,89	0,57	-	-	0,05	0,02	0,77	3,00	0,02	0,25	0,04	0,10	.	0,10	1,01	0,02	0,13	0,01	12,05
	m	0,73	2,45	-	-	6,56	0,05	0,44	29,23	0,06	5,76	0,07	0,07	0,00	0,24	6,40	0,02	2,41	0,01	39,46
M	2,42	3,47	-	-	6,65	0,09	1,89	35,09	0,11	6,23	0,16	0,25	0,00	0,43	8,33	0,07	2,68	0,03	60,86	
R2	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
	x	0,62	2,85	0,00	-	6,36	0,10	0,46	24,90	0,14	6,05	0,13	0,42	0,00	0,25	7,67	0,05	2,50	0,01	53,27
	SD	0,20	0,20	.	-	0,42	0,01	0,11	0,97	0,00	0,28	0,02	0,02	0,00	0,08	0,75	0,01	0,14	0,01	6,64
	m	0,43	2,65	0,00	-	6,05	0,09	0,36	24,23	0,14	5,73	0,11	0,41	0,00	0,17	6,96	0,05	2,34	0,00	48,49
M	0,82	3,06	0,00	-	6,84	0,12	0,57	26,01	0,14	6,21	0,15	0,44	0,00	0,32	8,46	0,06	2,60	0,02	60,86	
R3	n	3	3	2	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
	x	0,95	2,84	0,01	-	6,60	0,13	0,41	22,83	0,17	6,09	0,14	0,48	0,03	0,24	9,78	0,06	2,61	0,01	96,99
	SD	0,74	0,31	0,02	-	0,53	0,01	0,09	4,58	0,05	0,10	0,01	0,07	0,04	0,06	4,05	0,03	0,69	0,00	28,00
	m	0,36	2,50	0,00	-	6,26	0,12	0,33	18,21	0,11	5,98	0,13	0,42	0,00	0,18	7,16	0,03	1,87	0,01	76,22
M	1,78	3,11	0,03	-	7,22	0,15	0,51	27,37	0,21	6,16	0,15	0,56	0,07	0,29	14,45	0,09	3,24	0,01	128,83	
p	0,29	0,73	1	-	0,56	0,04	0,25	0,06	0,06	0,73	0,73	0,05	0,21	0,73	0,39	1	0,73	0,13	0,07	

Tabla 5.6. (Continuación). Grupo de exposición: Cd+Cu

		GD																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	2	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	1	3	3	ND	ND	3
	x	3,32	3,94	0,01	-	6,04	0,43	0,52	35,36	0,21	5,89	0,35	1,00	0,08	0,14	10,33	0,12	-	-	126,71
	SD	2,37	0,79	0,00	-	0,55	0,11	0,14	6,41	0,08	0,29	0,10	0,09	.	.	1,84	0,02	-	-	39,30
	m	1,86	3,08	0,01	-	5,46	0,32	0,39	28,66	0,12	5,63	0,24	0,91	0,08	0,14	8,75	0,10	-	-	92,48
	M	6,06	4,63	0,01	-	6,56	0,53	0,67	41,43	0,26	6,21	0,45	1,07	0,08	0,14	12,34	0,15	-	-	169,63
R2	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	1	3	3	ND	2	3
	x	1,99	3,84	0,02	-	7,73	0,42	0,69	44,22	0,23	6,17	0,42	2,05	0,05	0,10	8,41	0,13	-	0,09	162,53
	SD	1,24	0,14	.	-	0,75	0,05	0,40	9,57	0,04	0,23	0,05	1,05	0,05	.	1,59	0,02	-	0,10	60,51
	m	0,89	3,76	0,02	-	6,87	0,37	0,30	34,45	0,19	5,97	0,36	1,24	0,02	0,10	7,01	0,11	-	0,01	93,35
	M	3,33	4,01	0,02	-	8,27	0,46	1,09	53,59	0,26	6,41	0,46	3,24	0,09	0,10	10,13	0,14	-	0,16	205,57
R3	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	1	3	3	ND	2	3
	x	2,21	3,57	0,01	-	7,17	0,44	0,75	39,39	0,39	6,70	0,42	1,87	0,03	0,17	10,80	0,31	-	0,01	88,98
	SD	0,85	0,67	.	-	0,47	0,12	0,41	13,23	0,26	0,83	0,09	0,87	0,01	.	2,26	0,37	-	0,01	16,74
	m	1,33	2,91	0,01	-	6,81	0,34	0,44	27,99	0,12	6,12	0,35	1,28	0,02	0,17	9,01	0,07	-	0,01	71,92
	M	3,02	4,25	0,01	-	7,70	0,57	1,21	53,90	0,64	7,65	0,52	2,87	0,04	0,17	13,34	0,74	-	0,02	105,37
	p	0,67	0,67	0,33	-	0,05	0,96	0,73	0,67	0,56	0,25	0,56	0,07	0,74	0,37	0,39	0,96	-	0,44	0,15

		BR																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	1	3
	x	1,20	2,09	-	-	5,54	0,16	0,23	14,52	0,26	6,64	0,11	0,61	-	0,09	7,25	0,06	0,95	0,08	126,51
	SD	1,16	0,23	-	-	0,12	0,05	0,06	2,95	0,08	0,21	0,04	0,31	-	0,03	0,38	0,01	0,66	.	75,14
	m	0,26	1,87	-	-	5,47	0,10	0,16	11,63	0,18	6,40	0,08	0,28	-	0,05	6,85	0,05	0,36	0,08	47,58
	M	2,49	2,33	-	-	5,67	0,19	0,29	17,53	0,35	6,77	0,15	0,89	-	0,11	7,61	0,06	1,67	0,08	197,18
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	2	3	3	2	1	3
	x	0,70	1,91	-	-	6,32	0,10	0,76	18,57	0,23	6,42	0,12	0,71	-	0,17	6,92	0,06	0,81	0,02	81,84
	SD	0,13	0,12	-	-	0,06	0,04	0,78	1,01	0,03	0,21	0,01	0,30	-	0,09	0,37	0,01	0,69	.	81,35
	m	0,57	1,78	-	-	6,26	0,08	0,23	17,97	0,21	6,28	0,11	0,51	-	0,11	6,53	0,05	0,32	0,02	13,69
	M	0,82	2,00	-	-	6,37	0,14	1,65	19,73	0,26	6,66	0,13	1,05	-	0,24	7,26	0,07	1,29	0,02	171,91
R3	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	1	3
	x	0,41	1,66	0,01	-	6,40	0,10	0,23	13,60	0,23	6,42	0,08	0,60	0,02	0,12	7,39	0,04	1,83	0,02	45,08
	SD	0,18	0,16	.	-	0,42	0,02	0,04	2,51	0,03	0,34	0,01	0,23	.	0,07	0,36	0,01	0,56	.	18,85
	m	0,22	1,55	0,01	-	6,13	0,08	0,18	11,58	0,20	6,20	0,07	0,37	0,02	0,05	6,98	0,03	1,22	0,02	28,15
	M	0,57	1,84	0,01	-	6,88	0,12	0,27	16,41	0,25	6,81	0,09	0,83	0,02	0,18	7,67	0,05	2,30	0,02	65,39
	p	0,29	0,08	-	-	0,06	0,19	0,29	0,06	0,88	0,43	0,12	0,96	-	0,49	0,25	0,12	0,25	0,37	0,39

Tabla 5.6. (Continuación).

		RE																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	1	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	ND	3
	x	0,56	2,81	-	-	5,63	0,04	0,32	19,25	0,06	5,85	0,09	0,08	-	0,30	7,17	0,02	3,82	-	60,90
	SD	.	0,39	-	-	0,25	0,00	0,09	3,24	0,02	0,34	0,01	0,01	-	0,07	0,48	0,02	0,31	-	19,75
	m	0,56	2,41	-	-	5,39	0,04	0,22	16,85	0,05	5,49	0,08	0,07	-	0,22	6,80	0,01	3,56	-	40,96
	M	0,56	3,19	-	-	5,89	0,04	0,38	22,93	0,08	6,17	0,09	0,09	-	0,36	7,71	0,04	4,16	-	80,45
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	-	3	3	3	3	2	3
	x	0,61	2,89	-	-	6,75	0,05	0,93	30,57	0,09	5,65	0,11	0,11	-	0,39	10,75	0,03	3,80	0,04	101,58
	SD	0,38	0,13	-	-	0,71	0,01	0,39	6,43	0,06	0,42	0,03	0,05	-	0,03	4,95	0,03	0,15	0,04	4,60
	m	0,23	2,79	-	-	6,03	0,05	0,56	23,61	0,03	5,37	0,09	0,08	-	0,37	6,73	0,01	3,64	0,01	96,34
	M	0,98	3,03	-	-	7,44	0,06	1,33	36,29	0,14	6,13	0,14	0,16	-	0,42	16,27	0,06	3,94	0,06	104,92
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	-	3	3	3	3	3	3
	x	0,48	2,85	-	-	6,93	0,06	0,60	30,68	0,11	5,98	0,10	0,13	-	0,42	9,54	0,02	4,14	0,04	77,63
	SD	0,52	0,14	-	-	0,76	0,02	0,11	8,58	0,02	0,54	0,03	0,11	-	0,14	3,71	0,01	0,63	0,03	40,04
	m	0,08	2,71	-	-	6,38	0,05	0,53	20,98	0,09	5,42	0,07	0,05	-	0,25	7,33	0,01	3,63	0,02	48,63
	M	1,07	2,99	-	-	7,80	0,08	0,73	37,29	0,12	6,50	0,12	0,25	-	0,51	13,82	0,03	4,84	0,07	123,32
	p	0,93	0,96	-	-	0,07	0,05	0,04	0,12	0,25	0,59	0,35	0,66	-	0,19	0,59	0,87	0,73	0,56	0,25

		TB																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	2	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	1	3
	x	0,91	2,77	0,00	-	5,66	0,13	0,32	20,13	0,14	6,06	0,13	0,35	0,01	0,21	7,64	0,05	2,52	0,02	88,26
	SD	0,88	0,39	0,00	-	0,19	0,00	0,09	1,92	0,01	0,20	0,01	0,10	.	0,06	0,57	0,01	0,34	.	36,84
	m	0,35	2,36	0,00	-	5,50	0,12	0,23	18,58	0,13	5,87	0,12	0,26	0,01	0,14	7,26	0,04	2,12	0,02	53,34
	M	1,93	3,14	0,00	-	5,87	0,13	0,40	22,27	0,14	6,26	0,14	0,46	0,01	0,26	8,29	0,06	2,72	0,02	126,75
R2	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
	x	0,81	2,77	0,00	-	6,74	0,11	0,84	29,19	0,14	5,87	0,15	0,50	0,01	0,28	9,47	0,05	2,56	0,02	106,03
	SD	0,31	0,13	.	-	0,52	0,01	0,46	4,76	0,03	0,26	0,02	0,10	0,01	0,03	3,37	0,02	0,34	0,02	11,04
	m	0,57	2,65	0,00	-	6,19	0,09	0,49	23,94	0,12	5,68	0,13	0,39	0,00	0,26	6,86	0,04	2,17	0,01	99,16
	M	1,16	2,90	0,00	-	7,21	0,12	1,36	33,20	0,17	6,17	0,17	0,59	0,01	0,31	13,28	0,07	2,78	0,04	118,76
R3	n	3	3	2	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
	x	0,62	2,54	0,00	-	6,79	0,11	0,49	25,81	0,17	6,18	0,12	0,44	0,01	0,29	9,00	0,05	2,98	0,03	67,44
	SD	0,33	0,06	0,00	-	0,61	0,01	0,08	6,08	0,02	0,48	0,02	0,17	0,01	0,11	2,17	0,03	0,45	0,02	20,52
	m	0,39	2,48	0,00	-	6,37	0,10	0,41	19,35	0,15	5,72	0,10	0,30	0,00	0,16	7,40	0,03	2,56	0,01	49,21
	M	1,00	2,59	0,00	-	7,48	0,12	0,57	31,41	0,18	6,69	0,14	0,63	0,01	0,36	11,47	0,09	3,45	0,05	89,67
	p	0,59	0,29	0,37	-	0,07	0,06	0,05	0,15	0,11	0,59	0,43	0,39	1	0,29	0,59	0,88	0,33	0,87	0,2

Tabla 5.6. (Continuación). Grupo de exposición: Cd+Pb+Cu

		GD																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	ND	2	3
	x	1,10	4,03	0,01	-	5,56	0,49	0,66	37,95	0,32	5,93	0,45	2,06	0,06	0,14	6,97	0,10	-	0,06	151,44
	SD	0,26	0,50	.	-	0,23	0,14	0,29	10,45	0,09	0,76	0,12	1,04	0,01	0,09	0,22	0,04	-	0,07	121,18
	m	0,91	3,47	0,01	-	5,33	0,36	0,42	26,05	0,25	5,24	0,38	1,33	0,06	0,07	6,72	0,08	-	0,01	43,26
	M	1,39	4,44	0,01	-	5,78	0,64	0,99	45,58	0,41	6,74	0,59	3,25	0,07	0,20	7,11	0,14	-	0,11	282,39
R2	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	ND	1	3
	x	3,33	4,58	0,01	-	6,11	0,54	0,88	43,28	0,22	6,09	0,46	2,43	0,12	-	8,22	0,12	-	0,02	65,97
	SD	2,32	1,08	.	-	0,38	0,14	0,37	11,31	0,07	0,02	0,11	0,93	0,07	-	1,85	0,04	-	.	44,27
	m	1,77	3,69	0,01	-	5,78	0,41	0,64	30,93	0,14	6,07	0,37	1,36	0,04	-	6,32	0,08	-	0,02	35,86
	M	6,00	5,79	0,01	-	6,53	0,68	1,30	53,12	0,27	6,11	0,58	2,98	0,19	-	10,01	0,16	-	0,02	116,81
R3	n	3	3	2	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	ND	2	3
	x	1,95	5,51	0,01	-	6,70	0,52	1,06	50,28	0,28	5,99	0,56	2,70	0,04	0,33	8,74	0,15	-	0,09	116,58
	SD	0,66	0,32	0,01	-	0,43	0,03	0,54	8,56	0,08	0,46	0,18	2,13	0,01	0,04	1,43	0,09	-	0,00	76,55
	m	1,26	5,20	0,01	-	6,23	0,49	0,63	41,82	0,19	5,68	0,45	1,06	0,03	0,30	7,38	0,09	-	0,08	71,73
	M	2,58	5,85	0,02	-	7,05	0,55	1,67	58,93	0,35	6,52	0,77	5,10	0,05	0,35	10,23	0,26	-	0,09	204,97
p	0,1	0,15	0,86	-	0,86	0,73	0,43	0,39	0,29	0,73	0,43	0,96	0,29	0,12	0,2	0,49	-	0,74	0,43	

		BR																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	2	3	3	2	1	3
	x	1,94	1,86	0,13	-	5,11	0,11	0,52	15,70	0,32	6,32	0,15	0,85	0,22	0,10	6,94	0,09	0,26	0,03	40,26
	SD	0,88	0,11	.	-	0,14	0,01	0,21	2,85	0,02	0,55	0,05	0,14	.	0,11	0,59	0,05	0,26	.	27,44
	m	0,92	1,80	0,13	-	5,01	0,10	0,40	12,48	0,29	5,79	0,12	0,73	0,22	0,02	6,42	0,04	0,08	0,03	18,39
	M	2,56	1,99	0,13	-	5,27	0,13	0,76	17,93	0,34	6,90	0,20	1,00	0,22	0,17	7,58	0,13	0,44	0,03	71,05
R2	n	3	3	2	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	2	ND	3	3	1	ND	3
	x	0,81	1,60	0,01	-	5,51	0,10	0,45	13,60	0,29	6,70	0,10	1,21	0,02	-	7,35	0,12	1,53	-	36,34
	SD	0,59	0,29	0,01	-	0,26	0,03	0,22	5,31	0,11	0,12	0,04	0,34	0,01	-	0,47	0,12	.	-	22,76
	m	0,39	1,34	0,01	-	5,34	0,07	0,25	9,31	0,17	6,60	0,07	0,83	0,01	-	6,92	0,04	1,53	-	22,93
	M	1,49	1,91	0,02	-	5,81	0,13	0,68	19,53	0,36	6,83	0,15	1,51	0,03	-	7,85	0,26	1,53	-	62,63
R3	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	2	3	3	1	ND	3
	x	1,44	1,88	-	-	5,82	0,18	0,58	20,08	0,25	6,81	0,14	0,47	0,09	0,05	7,07	0,07	0,27	-	93,73
	SD	1,04	0,26	-	-	0,34	0,02	0,27	5,04	0,17	0,65	0,05	0,40	.	0,03	0,67	0,03	.	-	62,99
	m	0,55	1,70	-	-	5,51	0,15	0,30	14,80	0,05	6,11	0,09	0,13	0,09	0,02	6,55	0,05	0,27	-	48,03
	M	2,58	2,18	-	-	6,18	0,20	0,83	24,84	0,37	7,41	0,20	0,91	0,09	0,07	7,82	0,11	0,27	-	165,58
p	0,39	0,39	0,22	-	0,05	0,07	0,84	0,25	0,84	0,49	0,39	0,15	0,26	1	0,43	0,96	0,41	-	0,29	

Tabla 5.6. (Continuación).

		RE																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	2	3	1	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3
	x	0,35	2,84	0,03	-	5,23	0,06	0,52	21,93	0,11	5,33	0,12	0,12	0,14	0,35	6,89	0,03	3,93	0,03	58,37
	SD	0,34	0,22	.	-	0,33	0,03	0,21	9,24	0,04	0,25	0,03	0,11	.	0,04	0,41	0,02	0,32	0,00	27,94
	m	0,11	2,60	0,03	-	4,89	0,04	0,28	12,55	0,06	5,14	0,09	0,03	0,14	0,31	6,51	0,02	3,70	0,03	39,13
	M	0,59	3,02	0,03	-	5,54	0,10	0,66	31,02	0,14	5,62	0,15	0,24	0,14	0,39	7,32	0,06	4,30	0,03	90,42
R2	n	3	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	2	ND	3	3	3	3	1	3	
	x	0,19	3,45	-	-	5,65	0,05	0,62	24,96	0,07	5,93	0,10	0,10	-	0,28	7,27	0,04	4,19	0,08	67,00
	SD	0,31	0,68	-	-	0,01	0,06	0,20	7,29	0,01	0,24	0,04	0,01	-	0,15	0,38	0,03	0,29	.	89,08
	m	0,01	2,73	-	-	5,64	0,00	0,43	17,56	0,07	5,77	0,05	0,09	-	0,12	6,91	0,02	4,01	0,08	15,56
	M	0,55	4,08	-	-	5,66	0,12	0,83	32,14	0,08	6,21	0,13	0,10	-	0,41	7,67	0,07	4,52	0,08	169,86
R3	n	2	3	ND	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
	x	0,42	3,37	-	-	5,83	0,05	1,28	31,55	0,07	5,62	0,11	0,09	-	0,49	8,65	0,03	3,84	0,04	64,63
	SD	0,27	0,05	-	-	0,14	0,01	0,51	7,82	0,03	0,38	0,02	0,05	-	0,11	0,80	0,00	0,37	0,03	29,42
	m	0,23	3,32	-	-	5,67	0,04	0,93	22,87	0,04	5,39	0,10	0,05	-	0,39	7,98	0,03	3,42	0,02	41,81
	M	0,61	3,42	-	-	5,94	0,06	1,86	38,06	0,10	6,06	0,13	0,14	-	0,61	9,53	0,03	4,11	0,06	97,83
	p	0,32	0,19	-	-	0,03	0,87	0,07	0,25	0,58	0,11	0,86	0,95	-	0,15	0,05	0,7	0,43	0,35	0,67

		TB																		
		Al	As	Be	Bi	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
R1	n	3	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
	x	0,69	2,77	0,02	-	5,24	0,12	0,53	22,17	0,18	5,60	0,16	0,49	0,05	0,26	6,90	0,05	2,69	0,03	64,22
	SD	0,19	0,17	0,02	-	0,26	0,02	0,17	7,67	0,03	0,32	0,03	0,14	0,05	0,04	0,38	0,01	0,39	0,00	24,33
	m	0,49	2,59	0,00	-	4,98	0,11	0,33	13,94	0,15	5,31	0,13	0,33	0,01	0,23	6,65	0,05	2,37	0,03	41,76
	M	0,87	2,93	0,03	-	5,50	0,14	0,63	29,10	0,21	5,95	0,19	0,59	0,10	0,30	7,34	0,07	3,13	0,03	90,07
R2	n	3	3	2	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3
	x	0,56	3,10	0,00	-	5,64	0,10	0,60	23,65	0,13	6,11	0,13	0,50	0,01	0,19	7,40	0,06	3,02	0,05	57,02
	SD	0,14	0,50	0,00	-	0,07	0,06	0,21	5,87	0,00	0,23	0,03	0,05	0,00	0,09	0,56	0,02	0,15	.	66,16
	m	0,41	2,52	0,00	-	5,59	0,05	0,44	16,96	0,12	5,94	0,09	0,45	0,01	0,09	6,87	0,04	2,87	0,05	18,77
	M	0,69	3,41	0,00	-	5,73	0,16	0,83	28,00	0,13	6,37	0,15	0,56	0,01	0,25	7,99	0,07	3,15	0,05	133,41
R3	n	3	3	2	ND	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	2	3
	x	0,64	3,29	0,00	-	5,91	0,13	1,07	31,08	0,13	5,89	0,16	0,39	0,01	0,37	8,35	0,05	2,67	0,04	77,01
	SD	0,16	0,10	0,00	-	0,19	0,03	0,31	6,97	0,03	0,35	0,02	0,13	0,01	0,07	0,34	0,01	0,47	0,02	42,60
	m	0,51	3,18	0,00	-	5,69	0,10	0,78	23,09	0,10	5,61	0,14	0,27	0,00	0,31	8,05	0,04	2,20	0,02	47,66
	M	0,82	3,37	0,00	-	6,03	0,15	1,39	35,89	0,16	6,29	0,18	0,54	0,02	0,44	8,72	0,06	3,14	0,05	125,87
	p	0,56	0,3	0,7	-	0,04	0,88	0,11	0,43	0,12	0,2	0,43	0,43	0,57	0,05	0,05	0,73	0,43	0,37	0,73

**Tabla 5. 7.** Distribución de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 1. *p*=Kruskal Wallis.

Grupo de exposición: CONTROL

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn	
GD	R1	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
		x	39,43	18,59	100,00	14,92	52,98	19,65	27,96	10,83	14,67	41,04	39,06	-	17,42	14,14	35,96	0,00	16,88	12,17
		SD	14,15	2,19	.	1,97	15,97	0,84	5,00	18,75	3,58	10,12	20,35	-	3,73	0,66	19,97	0,00	23,86	3,57
		M.	30,23	16,98	100,00	13,13	36,51	18,92	22,21	0,00	11,74	30,98	17,48	-	14,96	13,64	15,85	0,00	0,00	8,31
	R2	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	1	3
		x	69,62	14,82	-	10,30	45,00	15,10	19,58	0,00	10,09	31,56	49,06	-	16,75	11,14	26,53	0,00	0,00	13,21
		SD	35,48	2,17	-	1,31	9,82	3,67	1,51	0,00	1,06	2,35	5,69	-	1,14	2,41	5,13	0,00	.	3,54
		M.	28,74	12,64	-	8,93	38,11	10,89	18,01	0,00	8,87	28,99	42,98	-	15,44	8,40	21,28	0,00	0,00	9,80
	R3	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	3	3
		x	52,47	13,71	100,00	12,09	50,81	46,74	25,62	0,00	10,90	35,86	51,65	-	19,03	13,01	58,41	0,95	33,33	13,95
		SD	11,77	2,29	.	3,93	15,18	28,13	3,04	0,00	1,57	10,52	13,58	-	3,78	3,21	2,57	1,64	57,74	4,39
		M.	39,16	11,41	100,00	9,45	37,99	22,28	22,22	0,00	9,44	26,32	39,15	-	14,79	10,68	56,76	0,00	0,00	10,98
P		0,43	0,06	1,00	0,18	0,96	0,03	0,06	0,37	0,10	0,49	0,73	-	0,88	0,25	0,06	0,37	0,79	0,88	
BR	R1	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
		x	14,70	14,22	0,00	15,92	1,95	18,76	11,88	0,00	19,71	4,06	0,00	-	22,95	17,20	10,07	19,12	0,00	11,04
		SD	12,41	1,38	.	0,84	3,38	3,17	1,32	0,00	1,53	2,14	0,00	-	2,39	4,66	4,57	2,41	0,00	2,82
		M.	0,37	12,64	0,00	14,96	0,00	16,56	10,51	0,00	18,05	2,08	0,00	-	21,12	11,85	5,73	16,35	0,00	9,26
	R2	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	1	3
		x	25,26	13,70	-	14,94	1,88	14,38	13,95	0,00	18,75	5,93	0,00	-	20,24	20,03	32,82	16,93	0,00	8,72
		SD	32,96	1,46	-	2,21	3,26	0,77	4,33	0,00	2,35	1,48	0,00	-	2,56	5,40	12,59	2,02	.	5,08
		M.	4,86	12,52	-	12,92	0,00	13,55	11,27	0,00	16,62	5,03	0,00	-	17,96	16,19	24,44	14,62	0,00	5,04
	R3	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	3	3
		x	7,73	14,05	0,00	16,01	1,62	10,73	11,99	0,00	19,80	4,20	0,00	-	18,31	20,53	7,22	18,89	0,00	6,99
		SD	13,39	0,98	.	0,31	2,80	6,03	0,40	0,00	1,26	2,02	0,00	-	4,21	1,56	1,45	1,54	0,00	1,58
		M.	0,00	13,04	0,00	15,78	0,00	3,87	11,62	0,00	18,87	2,09	0,00	-	14,34	19,00	5,72	17,11	0,00	5,20
P		0,56	0,96	1,00	0,73	0,94	0,06	1,00	1,00	0,84	0,43	1,00	-	0,33	0,56	0,05	0,39	1,00	0,29	
RE	R1	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
		x	45,87	67,19	0,00	69,16	45,07	61,59	60,16	89,17	65,62	54,89	60,94	-	59,63	68,66	53,97	80,88	83,13	76,79
		SD	23,50	3,20	.	1,17	16,52	3,21	4,95	18,75	2,06	9,02	20,35	-	3,54	5,06	22,36	2,41	23,86	1,51
		M.	22,41	63,98	0,00	68,01	31,60	58,15	56,49	67,52	63,29	45,02	42,10	-	56,21	65,66	34,58	79,31	66,25	75,08
	R2	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	1	3
		x	5,11	71,48	-	74,76	53,12	70,52	66,47	100,00	71,16	62,52	50,94	-	63,01	68,83	40,65	83,07	100,00	78,07
		SD	4,44	3,37	-	3,12	8,25	4,36	4,76	0,00	2,69	1,09	5,69	-	3,58	6,99	8,74	2,02	.	2,37
		M.	0,00	67,69	-	71,17	43,76	67,93	61,32	100,00	68,05	61,29	45,75	-	59,44	60,86	31,42	81,68	100,00	75,69
	R3	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	3	3
		x	39,80	72,24	0,00	71,90	47,57	42,53	62,39	100,00	69,30	59,94	48,35	-	62,66	66,46	34,37	80,16	66,67	79,06
		SD	3,03	3,28	.	4,24	14,81	22,20	3,02	0,00	2,71	12,50	13,58	-	7,85	4,57	3,11	2,79	57,74	2,91
		M.	37,65	69,00	0,00	67,03	32,42	18,65	60,29	100,00	66,21	46,74	33,90	-	55,22	61,20	31,30	77,31	0,00	75,81
P		0,06	0,19	1,00	0,15	0,84	0,05	0,15	0,37	0,43	0,39	0,73	-	0,67	0,88	0,20	0,43	0,79	0,39	



Tabla 5.7. (Continuación). Grupo de exposición: Pb

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn	
GD	R1	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3	
		x	63,04	16,87	-	12,99	44,07	24,25	25,59	8,43	14,41	37,91	41,18	100,00	16,36	15,99	58,09	0,00	33,33	9,72
		SD	12,99	4,02	-	3,66	21,61	7,86	13,63	14,61	6,80	10,87	22,67	.	1,97	5,31	40,55	0,00	57,74	5,64
		m	49,20	13,31	-	9,52	23,74	15,53	14,06	0,00	8,45	29,57	27,37	100,00	14,20	9,97	11,76	0,00	0,00	3,23
	M.	74,96	21,23	-	16,81	66,76	30,78	40,62	25,30	21,82	50,21	67,34	100,00	18,06	20,01	87,18	0,00	100,00	13,33	
	R2	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
		x	38,84	14,66	-	11,04	47,50	16,26	19,87	0,00	11,52	28,93	52,63	-	18,72	14,60	44,27	0,00	0,00	12,32
		SD	31,66	1,53	-	1,22	7,61	4,03	2,88	0,00	2,21	6,80	15,96	-	3,08	3,17	22,89	0,00	0,00	4,56
		m	5,48	13,14	-	9,77	40,46	11,61	17,09	0,00	8,97	24,33	34,58	-	15,56	10,93	25,99	0,00	0,00	7,20
	M.	68,49	16,21	-	12,21	55,58	18,75	22,85	0,00	12,82	36,74	64,87	-	21,72	16,48	69,94	0,00	0,00	15,94	
	R3	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3
		x	68,69	14,21	-	11,86	42,02	18,36	19,64	0,00	11,64	29,38	27,51	100,00	20,08	13,68	31,74	0,00	0,00	15,37
SD		21,29	0,21	-	1,23	6,13	2,47	0,94	0,00	0,46	2,84	4,50	.	2,17	0,86	5,18	0,00	0,00	3,98	
m		45,94	14,02	-	10,88	37,28	15,66	18,57	0,00	11,36	27,18	22,68	100,00	17,81	12,76	25,92	0,00	0,00	12,05	
M.	88,12	14,43	-	13,24	48,94	20,50	20,32	0,00	12,17	32,59	31,58	100,00	22,15	14,45	35,84	0,00	0,00	19,79		
P	0,29	0,67		0,73	0,67	0,39	0,88	0,37	0,67	0,29	0,20	1,00	0,25	0,67	0,56	1,00	0,44	0,39		
BR	R1	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3	
		x	32,88	14,91	-	16,50	4,74	17,38	13,55	0,00	19,83	9,30	0,00	0,00	24,19	18,31	12,93	19,96	0,00	11,73
		SD	17,26	2,92	-	3,39	2,05	3,48	2,27	-	3,96	2,79	-	-	7,06	5,46	11,80	4,77	-	5,20
		m	16,36	12,09	-	12,81	2,87	14,71	10,93	-	16,01	6,19	-	-	18,99	5,46	11,80	15,59	-	7,74
	M.	50,80	17,92	-	19,48	9,94	21,31	14,96	-	23,92	11,58	-	-	32,23	23,78	25,79	25,06	-	17,61	
	R2	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3
		x	32,88	14,90	-	16,50	4,74	17,38	13,55	0,00	19,83	9,30	0,00	0,00	24,19	18,31	12,93	19,96	0,00	11,73
		SD	17,26	2,92	-	3,39	2,05	3,48	2,27	0,00	3,96	2,79	0,00	.	7,06	5,46	11,80	4,78	0,00	5,20
		m	16,36	12,09	-	12,81	2,87	14,71	10,93	0,00	16,01	6,19	0,00	0,00	19,00	12,85	2,61	15,59	0,00	7,74
	M.	50,80	17,92	-	19,48	6,94	21,31	14,96	0,00	23,92	11,58	0,00	0,00	32,23	23,78	25,79	25,06	0,00	17,61	
	R3	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
		x	26,31	13,80	-	15,37	0,00	18,38	15,79	0,00	20,76	4,96	0,00	-	19,93	20,77	19,75	18,97	0,00	8,90
SD		26,98	3,47	-	1,96	0,00	6,60	4,65	0,00	2,42	1,95	0,00	-	4,46	2,34	9,92	4,35	0,00	4,55	
m		10,47	11,35	-	13,51	0,00	13,82	11,37	0,00	17,98	2,79	0,00	-	17,02	18,49	10,27	14,72	0,00	6,02	
M.	57,47	17,78	-	17,42	0,00	25,95	20,65	0,00	22,39	6,56	0,00	-	25,06	23,17	30,06	23,41	0,00	14,15		
P	0,10	0,73		0,88	0,15	0,84	0,59	1,00	0,96	0,19	1,00	1,00	0,56	0,73	0,59	0,84	1,00	0,67		
RE	R1	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3	
		x	4,07	68,23	-	70,52	51,19	58,37	60,86	91,57	65,75	52,79	58,82	0,00	59,44	65,70	28,99	80,04	66,67	78,54
		SD	4,36	1,36	-	2,70	20,58	8,71	11,51	14,61	5,42	8,09	22,67	.	5,40	6,88	29,05	4,78	57,74	10,02
		m	0,00	66,68	-	67,89	28,82	52,24	48,45	74,70	62,16	43,60	32,67	0,00	53,57	58,22	10,21	74,94	0,00	69,06
	M.	8,68	69,23	-	73,28	69,32	68,34	71,17	100,00	71,98	58,86	72,64	0,00	64,19	71,74	62,45	84,42	100,00	89,03	
	R2	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
		x	34,85	71,54	-	73,58	52,50	65,36	64,34	100,00	67,71	66,11	47,37	-	61,35	64,63	35,99	81,03	100,00	78,78
		SD	43,82	2,47	-	0,74	7,61	2,61	1,84	0,00	2,11	4,89	15,96	-	2,01	1,51	32,66	4,35	0,00	8,47
		m	0,00	69,08	-	72,82	44,42	62,44	62,27	100,00	65,30	60,47	35,13	-	59,37	62,97	0,00	76,59	100,00	69,91
	M.	84,05	74,02	-	74,28	59,54	67,44	65,79	100,00	69,20	69,10	65,42	-	63,40	65,90	63,74	85,28	100,00	86,78	
	R3	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3
		x	25,25	72,37	-	72,26	55,06	66,83	67,75	100,00	68,08	65,31	72,49	0,00	58,72	65,62	48,52	80,71	100,00	73,51
SD		16,38	1,67	-	4,02	4,65	6,43	2,24	0,00	2,32	3,60	4,50	.	1,71	2,62	8,55	6,54	0,00	10,48	
m		11,88	71,03	-	69,58	51,06	62,23	65,30	100,00	65,64	63,08	68,42	0,00	56,76	63,39	40,35	75,59	100,00	63,04	
M.	43,52	74,25	-	76,89	60,16	74,18	69,69	100,00	70,26	69,46	77,32	0,00	59,89	68,52	57,41	88,07	100,00	83,99		
P	0,10	0,73		0,88	0,15	0,84	0,59	1,00	0,96	0,19	1,00	1,00	0,56	0,73	0,59	0,84	1,00	0,67		

Tabla 5.7. (Continuación). Grupo de exposición: Cu

			Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn	
GD	R1	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3
		x	48,90	15,96	3,22	12,25	37,39	17,44	23,28	5,37	13,21	39,36	24,36	11,74	12,33	12,80	38,29	0,00	0,00	0,00	17,62
		SD	7,83	1,28	.	1,78	8,12	4,04	5,53	9,30	2,18	4,50	29,76	.	4,41	1,84	12,93	0,00	0,00	0,00	5,92
		m	42,42	14,63	3,22	10,23	32,16	13,08	19,73	0,00	11,20	34,71	2,63	11,74	7,30	10,70	23,37	0,00	0,00	0,00	12,00
	M.	57,60	17,19	3,22	13,57	46,75	21,04	29,65	16,12	15,54	43,69	58,27	11,74	15,54	14,08	46,03	0,00	0,00	0,00	23,79	
	R2	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	2	1	3
		x	32,33	14,36	-	10,41	27,04	5,85	14,21	0,00	10,07	25,85	12,51	0,00	16,49	9,63	11,49	0,00	0,00	0,00	10,79
		SD	16,50	2,88	-	0,59	8,89	2,22	2,89	0,00	1,08	3,89	11,06	.	4,19	1,52	12,31	0,00	.	1,94	
		m	13,40	11,91	-	10,06	17,34	3,37	10,96	0,00	9,32	21,42	0,00	0,00	11,71	8,19	0,00	0,00	0,00	0,00	8,60
	M.	43,68	17,53	-	11,09	34,78	7,63	16,48	0,00	11,30	28,72	20,98	0,00	19,50	11,22	24,48	0,00	0,00	0,00	12,32	
	R3	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
		x	36,42	14,13	-	10,51	39,66	13,99	17,57	0,00	10,52	30,46	24,19	-	17,35	12,53	10,28	0,00	0,00	0,00	14,74
		SD	15,79	3,79	-	2,71	12,97	7,62	4,87	0,00	2,48	4,51	13,56	-	6,22	1,91	2,87	0,00	0,00	0,00	10,84
m		21,16	10,19	-	7,71	24,69	9,06	14,16	0,00	7,94	27,41	9,85	-	10,83	10,39	7,07	0,00	0,00	0,00	4,19	
M.	52,69	17,75	-	13,11	47,21	22,77	23,15	0,00	12,90	35,64	36,81	-	23,21	14,05	12,58	0,00	0,00	0,00	25,84		
P	0,29	0,73		0,39	0,39	0,06	0,15	0,37	0,29	0,08	0,67	0,32	0,43	0,18	0,12	1,00	1,00	0,39			
BR	R1	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3
		x	33,04	17,94	0,00	18,39	0,00	15,57	14,90	0,00	22,14	5,10	4,73	0,00	19,64	22,38	27,15	21,98	0,00	0,00	11,09
		SD	24,43	3,00	.	2,60	0,00	4,64	3,21	0,00	2,77	4,67	8,19	.	3,06	4,19	26,05	2,37	0,00	0,00	5,94
		m	5,92	15,61	0,00	16,60	0,00	11,11	11,43	0,00	20,00	1,57	0,00	0,00	16,27	18,39	2,65	20,51	0,00	0,00	5,11
	M.	53,32	21,33	0,00	21,37	0,00	20,37	17,78	0,00	25,26	10,40	14,18	0,00	22,24	26,75	54,52	24,72	0,00	0,00	17,00	
	R2	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	2	1	3
		x	29,35	12,67	-	15,30	9,88	12,35	11,63	0,00	18,85	12,51	0,00	100,00	20,53	17,36	29,07	17,31	0,00	0,00	6,87
		SD	9,89	0,96	-	0,26	5,22	6,78	1,17	0,00	1,20	9,78	0,00	.	7,66	2,30	26,02	0,77	.	2,20	
		m	20,84	11,57	-	15,01	6,65	4,97	10,30	0,00	18,04	5,07	0,00	100,00	13,02	14,77	10,71	16,77	0,00	0,00	5,16
	M.	40,20	13,28	-	15,50	15,91	18,30	12,47	0,00	20,22	23,59	0,00	100,00	28,32	19,15	58,85	17,86	0,00	0,00	9,35	
	R3	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
		x	48,24	14,28	-	16,48	1,08	19,82	14,16	0,00	20,61	7,34	0,00	-	22,41	21,73	39,40	21,61	0,00	0,00	12,02
		SD	10,82	3,45	-	4,21	1,87	8,70	2,85	0,00	4,61	1,21	0,00	-	1,95	5,55	14,16	6,57	0,00	0,00	6,42
m		40,29	10,73	-	13,17	0,00	12,40	11,62	0,00	17,45	6,24	0,00	-	20,95	18,39	28,26	16,88	0,00	0,00	5,08	
M.	60,56	17,61	-	21,23	3,25	29,40	17,24	0,00	25,90	8,63	0,00	-	24,62	28,13	55,33	29,11	0,00	0,00	17,74		
P	0,29	0,73		0,39	0,39	0,06	0,15	0,37	0,29	0,08	0,67	0,32	0,43	0,18	0,12	1,00	1,00	0,39			
RE	R1	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3
		x	18,05	66,10	96,78	69,36	62,61	66,99	61,82	94,63	64,65	55,54	70,92	88,26	68,03	64,82	34,55	78,02	100,00	0,00	71,29
		SD	29,13	4,00	.	3,47	8,12	5,18	2,93	9,30	2,91	1,25	25,39	.	7,45	4,50	37,23	2,37	0,00	0,00	11,85
		m	0,00	61,48	96,78	65,68	53,25	61,43	58,92	83,88	61,85	54,74	41,73	88,26	62,21	59,62	0,00	75,28	100,00	0,00	59,21
	M.	51,66	68,49	96,78	72,56	67,84	71,68	64,78	100,00	67,65	56,99	87,84	88,26	76,43	67,53	73,98	79,49	100,00	0,00	82,89	
	R2	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	2	1	3
		x	38,32	72,97	-	74,29	63,08	81,80	74,16	100,00	71,08	61,64	87,49	0,00	62,98	73,01	59,44	82,69	100,00	0,00	82,34
		SD	25,23	3,17	-	0,72	4,45	8,71	4,00	0,00	2,27	6,30	11,06	.	11,62	3,75	16,28	0,77	.	0,94	
		m	16,12	69,31	-	73,52	58,13	75,15	71,39	100,00	68,47	54,99	79,02	0,00	52,17	69,63	41,15	82,14	100,00	0,00	81,58
	M.	65,76	74,81	-	74,93	66,75	91,66	78,74	100,00	72,64	67,52	100,00	0,00	75,27	77,04	72,36	83,23	100,00	0,00	83,39	
	R3	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	ND	3	3	3	3	2	3
		x	15,34	71,59	-	73,00	59,26	66,20	68,27	100,00	68,87	62,20	75,81	-	60,24	65,75	50,32	78,39	100,00	0,00	73,25
		SD	10,74	7,24	-	6,81	14,01	10,70	7,67	0,00	6,90	5,60	13,56	-	7,70	7,03	15,74	6,57	0,00	0,00	17,16
m		3,43	64,64	-	65,67	49,54	59,57	59,61	100,00	61,21	55,73	63,19	-	52,17	57,82	33,49	70,89	100,00	0,00	56,42	
M.	24,30	79,08	-	79,13	75,31	78,55	74,22	100,00	74,61	65,44	90,15	-	67,50	71,22	64,67	83,12	100,00	0,00	90,73		
P	0,39	0,18		0,25	0,73	0,11	0,11	0,37	0,25	0,19	0,59	0,32	0,39	0,10	0,56	0,20	1,00	0,56			

Tabla 5.7. (Continuación). Grupo de exposición: Pb+Cu

			Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn		
GD	R1	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3	
		x	49,69	18,15	-	14,72	55,29	24,26	30,15	10,96	15,81	42,15	45,14	0,00	19,53	16,75	43,18	0,00	29,16	15,81		
		SD	21,02	2,83	-	2,19	17,96	9,71	11,79	18,98	4,51	10,86	28,20	.	8,50	1,45	37,26	0,00	41,24	6,93		
		m	33,10	15,81	-	12,68	34,57	16,48	22,92	0,00	13,11	35,05	17,82	0,00	9,92	15,68	12,12	0,00	0,00	10,29		
	M.	73,34	21,29	-	17,04	66,47	35,14	43,76	32,87	21,01	54,65	74,15	0,00	26,03	18,40	84,50	0,00	58,32	23,59			
	R2	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	2	3	1	3	3	3	3	3	1	3	
		x	43,02	14,77	50,00	11,17	39,69	13,44	21,90	0,00	10,81	31,34	37,75	0,00	17,44	12,53	25,40	0,00	0,00	11,68		
		SD	15,72	2,31	70,71	2,03	6,20	2,05	5,82	0,00	2,32	0,71	35,97	.	0,83	6,25	21,70	0,00	.	5,38		
		m	33,19	13,11	0,00	9,34	33,83	11,58	17,32	0,00	8,99	30,84	10,47	0,00	16,49	7,61	6,28	0,00	0,00	5,50		
	M.	61,15	17,40	100,00	13,35	46,18	15,64	28,46	0,00	13,41	31,84	78,52	0,00	17,92	19,56	48,99	0,00	0,00	15,29			
	R3	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3	
		x	40,36	15,14	-	11,26	35,00	15,98	18,56	0,00	10,58	34,88	25,19	0,00	21,19	12,46	26,78	0,00	0,00	9,07		
		SD	26,89	1,95	-	1,33	9,46	0,51	1,65	0,00	1,47	5,31	10,38	.	2,37	1,32	8,74	0,00	0,00	3,11		
m		17,91	13,12	-	9,76	27,86	15,63	16,77	0,00	8,89	29,68	15,27	0,00	19,12	11,10	17,57	0,00	0,00	6,83			
M.	70,16	16,99	-	12,26	45,73	16,57	20,01	0,00	11,58	40,29	35,97	0,00	23,78	13,74	34,96	0,00	0,00	12,62				
P	0,56	0,29		0,12	0,20	0,06	0,15	0,37	0,18	0,21	0,73	1,00	0,29	0,30	0,84	1,00	0,47	0,39				
BR	R1	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3		
		x	28,44	11,82	-	13,79	2,07	13,44	10,27	0,00	18,14	3,78	0,00	0,00	17,73	15,73	14,74	15,66	0,00	10,46		
		SD	25,34	1,51	-	0,85	3,58	1,80	1,81	0,00	0,83	2,34	0,00	.	0,60	2,70	1,09	3,73	0,00	6,24		
		m	4,76	10,84	-	12,94	0,00	11,69	8,20	0,00	17,40	1,50	0,00	0,00	17,20	12,84	13,50	12,02	0,00	3,39		
	M.	55,17	13,56	-	14,64	6,21	15,29	11,56	0,00	19,04	6,16	0,00	0,00	18,38	18,19	15,51	19,47	0,00	15,17			
	R2	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	2	3	1	3	3	3	3	3	1	3	
		x	25,09	12,77	50,00	13,91	6,26	14,31	10,20	0,00	17,41	17,12	0,00	100,00	17,87	14,84	24,66	13,91	0,00	7,23		
		SD	31,40	1,08	70,71	3,39	10,84	5,31	0,62	0,00	2,79	13,40	0,00	.	3,15	3,85	32,09	5,14	.	3,99		
		m	0,00	11,55	0,00	10,16	0,00	8,73	9,66	0,00	14,21	7,65	0,00	100,00	14,42	12,29	2,26	7,99	0,00	3,10		
	M.	60,30	13,58	100,00	16,77	18,77	19,30	10,89	0,00	19,28	26,59	0,00	100,00	20,58	19,27	61,43	17,28	0,00	11,06			
	R3	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3	
		x	48,99	14,30	-	17,23	3,44	17,59	13,05	0,00	20,77	5,95	0,00	100,00	23,29	21,57	28,73	20,54	0,00	7,49		
		SD	30,95	1,44	-	1,64	5,96	3,50	0,45	0,00	2,29	2,62	0,00	.	2,66	2,07	4,98	2,63	0,00	3,69		
m		18,40	12,65	-	15,38	0,00	14,05	12,58	0,00	18,44	4,43	0,00	100,00	20,38	19,67	23,15	18,10	0,00	4,79			
M.	80,29	15,29	-	18,52	10,32	21,05	13,47	0,00	23,00	8,98	0,00	100,00	25,62	23,78	32,72	23,33	0,00	11,70				
P	0,56	0,20		0,10	0,94	0,39	0,06	1,00	0,29	0,15	1,00	0,37	0,10	0,07	0,30	0,11	1,00	0,56				
RE	R1	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3		
		x	21,86	70,03	-	71,48	42,64	62,31	59,57	89,04	66,05	54,08	54,86	100,00	62,74	67,51	42,08	84,34	70,84	73,72		
		SD	10,11	4,28	-	3,03	14,38	8,02	10,02	18,98	4,47	9,10	28,20	.	8,73	4,04	37,67	3,73	41,24	2,87		
		m	11,73	65,15	-	68,32	33,53	53,18	48,03	67,13	61,00	43,86	25,85	100,00	55,59	63,40	0,00	80,53	41,68	71,27		
	M.	31,96	73,13	-	74,37	59,22	68,23	66,03	100,00	69,49	61,28	82,18	100,00	72,46	71,49	72,65	87,98	100,00	76,88			
	R2	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	2	3	1	3	3	3	3	3	1	3	
		x	31,89	72,46	0,00	74,92	54,06	72,25	67,90	100,00	71,78	51,54	62,25	0,00	64,69	72,63	49,95	86,09	100,00	81,09		
		SD	22,72	2,97	0,00	5,33	16,66	6,64	5,87	0,00	4,77	12,69	35,97	.	3,94	10,08	37,76	5,14	.	6,15		
		m	6,51	69,41	0,00	69,88	35,05	65,06	61,48	100,00	67,31	42,57	21,48	0,00	61,50	61,17	17,65	82,72	100,00	74,69		
	M.	50,32	75,34	0,00	80,50	66,17	78,16	73,02	100,00	76,81	60,51	89,53	0,00	69,09	80,10	91,46	92,01	100,00	86,96			
	R3	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3	
		x	10,65	70,56	-	71,50	61,56	66,43	68,39	100,00	68,65	59,17	74,81	0,00	55,52	65,97	44,49	79,46	100,00	83,44		
		SD	8,48	3,25	-	2,91	9,38	3,03	1,50	0,00	3,69	7,72	10,38	.	4,37	2,90	10,65	2,63	0,00	6,80		
m		1,80	68,06	-	69,71	54,27	63,32	67,41	100,00	65,42	50,73	64,03	0,00	50,60	63,67	32,32	76,67	100,00	75,68			
M.	18,72	74,24	-	74,86	72,14	69,38	70,12	100,00	72,67	65,87	84,73	0,00	58,94	69,23	52,12	81,90	100,00	88,38				
P	0,29	0,59		0,56	0,43	0,39	0,19	0,37	0,49	0,49	0,73	0,37	0,15	0,73	0,96	0,11	0,47	0,18				

**Tabla 5. 8.** Distribución de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup>, peso húmedo) en tejidos de mejillón. Fase experimental 2. *p*=Kruskal Wallis.

Grupo de exposición: CONTROL

				Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn
GD	R1	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3
		x	44.84	18.51	0.97	17.74	42.44	20.03	21.22	24.83	14.77	34.55	49.32	15.80	9.96	16.15	30.58	0.00	28.04	22.87	
		SD	28.68	0.86	.	1.90	8.13	2.12	0.24	11.95	0.78	5.91	1.88	22.35	7.97	1.51	6.63	0.00	21.42	6.47	
		m	11.91	17.78	0.97	16.14	33.11	17.58	20.94	11.79	13.88	28.64	47.17	0.00	0.78	14.49	23.15	0.00	12.90	16.45	
	M.	64.33	19.45	0.97	19.84	48.06	21.28	21.38	35.25	15.30	40.46	50.68	31.61	15.09	17.45	35.90	0.00	43.19	29.38		
	R2	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3
		x	57.90	17.20	100.00	14.00	48.38	19.92	20.85	22.50	12.32	36.48	47.84	100.00	0.25	14.35	31.36	0.00	0.00	21.94	
		SD	7.28	1.87	.	1.38	8.02	0.60	6.08	8.38	0.72	8.71	6.31	0.00	0.44	3.59	10.97	0.00	0.00	12.66	
		m	50.08	15.90	100.00	12.62	39.94	19.38	14.99	14.69	11.51	28.24	40.61	100.00	0.00	11.01	21.57	0.00	0.00	13.19	
	M.	64.48	19.34	100.00	15.38	55.91	20.57	27.14	31.35	12.90	45.60	52.25	100.00	0.75	18.15	43.22	0.00	0.00	36.46		
	R3	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		x	47.10	16.80	100.00	12.71	47.48	19.07	18.78	20.11	12.48	32.63	38.89	95.07	5.14	16.89	53.99	0.00	14.41	16.98	
SD		19.98	0.77	.	2.18	10.40	1.22	3.38	7.15	1.96	4.03	11.88	8.54	4.46	1.22	13.13	0.00	19.78	5.60		
m		30.77	16.01	100.00	10.20	37.98	18.09	15.44	15.03	10.38	28.96	29.87	85.21	0.00	15.68	43.97	0.00	0.00	11.36		
M.	69.38	17.55	100.00	14.08	58.59	20.44	22.19	28.29	14.26	36.94	52.35	100.00	7.93	18.12	68.85	0.00	36.96	22.57			
P	0.73	0.19	0.37	0.06	0.67	0.56	0.73	0.96	0.11	0.96	0.73	0.09	0.11	0.67	0.07	1.00	0.16	0.56			
BR	R1	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3	
		x	54.27	17.91	99.03	26.55	27.02	21.66	14.96	52.17	28.22	23.85	40.40	84.20	12.01	25.79	42.99	7.16	20.78	11.98	
		SD	27.14	1.43	.	0.59	6.40	9.45	0.41	18.34	1.96	6.61	5.28	22.35	6.10	0.66	16.76	4.53	21.85	7.63	
		m	35.67	16.29	99.03	25.88	21.91	15.52	14.69	36.96	26.20	19.49	35.08	68.39	5.53	25.12	30.80	2.44	5.34	3.71	
	M.	85.41	18.98	99.03	26.93	34.21	32.54	15.43	72.54	30.11	31.46	45.63	100.00	17.64	26.44	62.10	11.46	36.23	18.75		
	R2	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3	
		x	32.86	18.31	0.00	24.90	23.01	17.58	14.86	43.70	28.39	18.87	43.71	0.00	12.88	25.46	38.16	11.93	2.22	16.81	
		SD	9.61	1.62	.	1.45	0.83	1.93	0.91	5.09	1.33	2.51	6.24	0.00	1.92	0.83	10.97	1.57	3.15	0.57	
		m	22.20	16.55	0.00	23.47	22.50	15.37	13.87	38.83	27.22	16.92	37.51	0.00	11.14	24.50	25.91	10.26	0.00	16.38	
	M.	40.86	19.74	0.00	26.38	23.97	18.88	15.66	48.99	29.84	21.70	49.99	0.00	14.94	25.95	47.06	13.39	4.45	17.46		
	R3	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
		x	30.47	17.63	0.00	23.64	18.21	13.47	15.32	41.43	27.49	19.02	37.37	4.93	13.54	21.97	20.67	10.16	0.00	6.93	
SD		19.91	2.33	.	2.57	4.83	0.22	3.06	3.19	1.59	1.55	4.35	8.54	6.74	3.76	6.53	3.17	0.00	2.83		
m		8.44	16.00	0.00	20.70	15.17	13.33	12.14	38.13	26.11	17.35	32.60	0.00	8.06	17.98	13.95	8.31	0.00	3.71		
M.	47.19	20.29	0.00	25.44	23.77	13.72	18.25	44.50	29.22	20.40	41.11	14.79	21.07	25.44	26.98	13.81	0.00	9.03			
P	0.39	0.88	0.37	0.10	0.25	0.07	0.84	0.73	0.59	0.30	0.49	0.09	1.00	0.19	0.11	0.25	0.08	0.20			
RE	R1	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3	
		x	0.89	63.58	0.00	55.70	30.54	58.32	63.83	23.00	57.01	41.60	10.29	0.00	78.03	58.05	26.43	92.84	51.17	65.15	
		SD	1.54	0.78	.	2.08	11.15	7.34	0.18	10.95	1.32	3.81	3.60	0.00	13.87	1.20	10.16	4.53	0.42	11.63	
		m	0.00	62.72	0.00	53.30	19.65	49.89	63.62	15.67	56.01	38.93	7.20	0.00	67.28	56.72	14.75	88.54	50.87	51.87	
	M.	2.67	64.26	0.00	56.93	41.94	63.26	63.97	35.59	58.51	45.97	14.24	0.00	93.69	59.06	33.30	97.56	51.47	73.50		
	R2	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3	
		x	9.24	64.49	0.00	61.10	28.61	62.49	64.30	33.80	59.30	44.65	8.44	0.00	86.87	60.20	30.48	88.07	97.78	61.25	
		SD	16.00	3.20	.	2.83	8.70	1.42	6.97	7.49	2.00	11.18	2.42	0.00	1.91	3.79	19.55	1.57	3.15	13.21	
		m	0.00	60.92	0.00	58.24	20.12	61.30	57.20	25.37	57.26	32.70	5.69	0.00	85.06	55.90	15.27	86.61	95.55	46.08	
	M.	27.71	67.10	0.00	63.91	37.50	64.06	71.15	39.71	61.27	54.84	10.24	0.00	88.86	63.07	52.52	89.74	100.00	70.23		
	R3	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
		x	22.43	65.57	0.00	63.65	34.31	67.46	65.90	38.46	60.04	48.35	23.74	0.00	81.32	61.14	25.34	89.84	85.59	76.09	
SD		0.55	2.96	.	2.02	15.04	1.16	5.65	4.25	2.29	5.53	7.58	0.00	10.27	2.54	7.06	3.17	19.78	8.32		
m		22.04	62.16	0.00	61.37	17.64	66.23	62.26	33.58	57.98	42.66	15.05	0.00	71.45	58.88	17.20	86.19	63.04	68.40		
M.	23.06	67.40	0.00	65.23	46.86	68.54	72.42	41.33	62.50	53.70	29.02	0.00	91.94	63.90	29.77	91.69	100.00	84.93			
P	0.22	0.56	1.00	0.04	0.84	0.06	0.96	0.15	0.18	0.39	0.06	1.00	0.73	0.39	0.96	0.25	0.11	0.25			

Tabla 5.8. (Continuación). Grupo de exposición: Cd

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn	
<b>GD</b>	<b>R1</b>	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	
		x	49,36	15,50	100,00	13,14	50,99	13,05	19,20	18,57	12,10	35,62	51,32	40,21	4,65	12,23	30,37	0,00	45,14	30,32
		SD	14,96	3,18	.	3,58	16,30	1,84	3,41	9,73	2,91	5,98	2,91	52,80	8,05	3,96	3,41	0,00	.	10,12
		m	38,45	11,83	100,00	9,24	32,77	11,51	15,41	7,35	9,17	31,82	49,34	0,00	0,00	7,67	27,53	0,00	45,14	22,11
	M.	66,41	17,49	100,00	16,28	64,18	15,09	22,01	24,59	14,99	42,51	54,65	100,00	13,94	14,83	34,15	0,00	45,14	41,62	
	<b>R2</b>	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
		x	31,82	19,03	33,33	15,78	54,33	16,96	24,12	17,53	14,82	37,42	51,06	70,23	12,77	19,42	27,70	0,00	50,00	26,31
		SD	14,89	1,29	57,74	2,48	2,12	3,76	4,63	5,26	3,07	7,67	1,61	51,56	4,22	4,25	8,14	0,00	70,71	7,58
		m	18,50	17,72	0,00	14,24	52,25	13,55	19,30	11,47	12,68	31,69	49,29	10,69	9,64	14,97	22,06	0,00	0,00	18,24
	M.	47,89	20,30	100,00	18,65	56,48	21,00	28,53	20,89	18,34	46,14	52,45	100,00	17,58	23,43	37,02	0,00	100,00	33,27	
	<b>R3</b>	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
		x	58,79	15,37	100,00	12,64	42,31	10,78	16,57	24,64	11,45	31,99	48,61	17,81	1,73	12,01	28,79	0,00	0,00	6,63
		SD	7,96	1,43	.	1,05	10,61	4,14	3,91	8,57	0,89	2,70	6,48	30,85	1,53	1,07	5,28	0,00	0,00	2,48
		m	53,72	14,45	100,00	11,43	31,41	7,52	13,77	16,33	10,46	28,94	41,21	0,00	0,00	10,84	22,71	0,00	0,00	4,34
M.	67,96	17,02	100,00	13,28	52,60	15,43	21,03	33,45	12,19	34,07	53,29	53,44	2,90	12,95	32,23	0,00	0,00	9,26		
P	0,11	0,06	0,41	0,15	0,30	0,18	0,20	0,49	0,18	0,67	0,96	0,30	0,18	0,06	0,84	1,00	0,42	0,07		
<b>BR</b>	<b>R1</b>	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	
		x	32,78	18,42	0,00	26,12	27,76	16,77	19,18	50,82	29,48	18,93	38,16	59,79	7,33	25,97	31,68	6,61	4,69	20,32
		SD	2,71	0,57	.	1,62	4,23	2,31	2,31	9,33	1,87	2,99	4,51	52,80	12,70	4,50	5,45	8,06	.	11,24
		m	29,75	17,85	0,00	24,32	23,13	14,47	16,75	40,15	27,31	15,61	35,37	0,00	0,00	20,87	25,91	0,00	4,69	7,67
	M.	34,99	18,98	0,00	27,45	31,42	19,10	21,34	57,51	30,59	21,40	43,36	100,00	22,00	29,40	36,74	15,59	4,69	29,14	
	<b>R2</b>	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
		x	61,50	17,54	66,67	23,49	26,23	15,44	16,11	55,80	27,94	23,29	40,33	29,77	5,71	23,50	49,00	4,94	50,00	15,24
		SD	24,89	1,53	57,74	2,18	4,26	4,38	3,36	18,03	1,39	11,77	3,59	51,56	6,12	2,60	24,42	5,19	70,71	9,61
		m	33,27	15,78	0,00	20,98	21,33	11,70	14,04	39,14	26,39	12,38	36,46	0,00	1,61	20,50	20,92	0,71	0,00	5,92
	M.	80,31	18,56	100,00	24,85	28,98	20,26	19,98	74,95	29,06	35,76	43,57	89,31	12,75	25,05	65,25	10,72	100,00	25,12	
	<b>R3</b>	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
		x	36,14	18,15	0,00	22,70	24,69	10,89	14,56	38,99	26,71	16,98	34,69	82,19	11,48	23,34	46,69	8,61	3,64	17,94
		SD	6,43	3,44	.	6,08	6,42	5,44	3,69	10,38	5,33	2,86	5,60	30,85	4,17	5,84	5,77	2,00	5,14	13,40
		m	29,34	16,12	0,00	16,91	17,41	6,39	10,80	31,24	22,06	13,67	28,36	46,56	8,92	19,04	40,33	6,65	0,00	2,89
M.	42,11	22,13	0,00	29,03	29,56	16,94	18,17	50,79	32,53	18,75	39,04	100,00	16,30	29,99	51,60	10,66	7,27	28,57		
P	0,39	0,73	0,44	0,59	0,73	0,39	0,29	0,19	0,56	0,56	0,43	0,30	0,56	0,73	0,30	0,73	0,95	0,73		
<b>RE</b>	<b>R1</b>	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	
		x	17,87	66,08	0,00	60,75	21,25	70,18	61,63	30,61	58,42	45,45	10,52	0,00	88,02	61,80	37,95	93,39	50,17	49,36
		SD	15,48	3,19	.	4,06	12,68	2,49	3,35	8,66	3,42	7,45	4,14	0,00	20,75	5,23	5,92	8,06	.	15,45
		m	0,00	63,83	0,00	56,27	12,69	68,17	58,48	20,62	54,48	37,72	6,68	0,00	64,06	55,77	33,45	84,41	50,17	34,22
	M.	27,04	69,73	0,00	64,18	35,82	72,97	65,15	36,07	60,55	52,57	14,91	0,00	100,00	64,94	44,65	100,00	50,17	65,11	
	<b>R2</b>	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
		x	6,68	63,43	0,00	60,72	19,43	67,60	59,78	26,67	57,24	39,29	8,61	0,00	81,52	57,09	23,30	95,06	0,00	58,44
		SD	10,55	1,89	0,00	4,04	2,73	8,13	2,29	13,55	3,55	5,96	2,16	0,00	5,11	2,64	16,55	5,19	0,00	10,03
		m	0,00	61,42	0,00	56,71	16,75	58,75	57,17	13,58	53,30	32,55	7,15	0,00	77,61	55,11	10,74	89,28	0,00	47,44
	M.	18,84	65,16	0,00	64,78	22,19	74,74	61,44	40,64	60,17	43,84	11,08	0,00	87,30	60,08	42,06	99,29	0,00	67,08	
	<b>R3</b>	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
		x	5,07	66,48	0,00	64,66	33,00	78,33	68,88	36,36	61,84	51,03	16,71	0,00	86,79	64,65	24,52	91,39	96,36	75,43
		SD	2,94	2,92	.	6,22	11,00	9,29	5,07	18,75	4,44	2,17	6,40	0,00	2,71	4,93	3,64	2,00	5,14	14,44
		m	2,70	63,42	0,00	57,75	20,31	67,62	64,27	15,75	57,01	48,52	9,65	0,00	83,70	59,17	20,44	89,34	92,73	62,17
M.	8,36	69,23	0,00	69,82	39,66	84,24	74,30	52,43	65,75	52,31	22,13	0,00	88,79	68,72	27,44	93,35	100,00	90,82		
P	0,58	0,43	1,00	0,43	0,18	0,56	0,10	0,56	0,33	0,15	0,29	1,00	0,43	0,20	0,19	0,73	0,15	0,18		

Tabla 5.8. (Continuación). Grupo de exposición: Cd+Pb

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn	
GD	R1	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3
		x	52,44	19,12	-	15,46	39,35	7,45	22,11	2,78	14,11	24,32	14,86	0,00	7,81	16,27	38,93	0,00	2,00	18,79
		SD	24,41	2,28	-	1,80	7,24	3,61	2,97	4,81	1,56	1,40	22,10	.	4,58	3,21	21,58	0,00	3,47	8,53
		m	33,78	17,43	-	13,53	33,70	3,48	19,19	0,00	13,06	23,45	0,00	0,00	3,38	13,86	14,68	0,00	0,00	13,18
	M.	80,06	21,72	-	17,10	47,51	10,53	25,12	8,34	15,90	25,94	40,26	0,00	12,53	19,91	56,01	0,00	6,00	28,61	
	R2	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
		x	44,09	17,22	100,00	15,73	49,97	16,69	21,52	27,14	13,75	37,35	49,13	50,00	2,60	15,09	31,86	0,00	41,85	18,67
		SD	15,08	2,78	.	3,52	8,33	0,25	3,53	4,78	2,82	5,60	8,64	70,71	4,50	6,25	15,26	0,00	51,96	8,01
		m	27,59	14,89	100,00	13,61	44,01	16,40	18,51	22,48	12,06	34,03	44,04	0,00	0,00	11,05	19,07	0,00	0,00	12,42
	M.	57,15	20,30	100,00	19,80	59,48	16,85	25,40	32,04	17,00	43,81	59,10	100,00	7,79	22,29	48,75	0,00	100,00	27,70	
	R3	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
		x	40,57	15,51	50,00	11,87	40,27	19,18	19,56	16,63	10,93	32,66	48,07	43,02	2,02	11,34	36,35	0,00	0,00	11,95
		SD	21,16	2,61	70,71	1,97	2,29	3,79	3,37	9,87	1,92	7,29	7,98	51,11	3,51	3,89	27,85	0,00	0,00	9,21
m		26,93	13,75	0,00	10,40	37,64	15,44	15,99	8,25	9,77	24,96	43,21	1,23	0,00	7,97	14,79	0,00	0,00	3,33	
M.	64,95	18,51	100,00	14,12	41,82	23,03	22,68	27,51	13,14	39,46	57,28	100,00	6,07	15,60	67,80	0,00	0,00	21,66		
P	0,67	0,33	0,48	0,30	0,19	0,06	0,73	0,08	0,25	0,08	0,05	0,45	0,26	0,39	1,00	1,00	0,27	0,43		
BR	R1	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	
		x	39,01	20,01	-	26,67	23,84	8,33	17,96	32,62	30,51	12,21	34,21	100,00	17,81	24,76	27,97	4,09	25,75	26,89
		SD	25,44	1,27	-	2,86	31,70	5,66	5,60	20,17	1,38	15,30	39,51	.	14,61	1,96	0,79	3,57	44,60	20,65
		m	12,69	18,58	-	24,09	0,00	1,80	11,68	12,88	28,97	0,00	0,00	100,00	2,47	22,50	27,42	0,00	0,00	10,43
	M.	63,47	21,00	-	29,75	59,82	11,86	22,46	53,20	31,61	29,37	77,46	100,00	31,55	25,99	28,88	6,60	77,25	50,06	
	R2	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
		x	39,91	18,12	0,00	23,86	27,94	13,18	17,16	45,43	27,96	19,62	39,54	50,00	8,30	24,21	27,37	2,63	0,00	26,90
		SD	22,06	2,06	.	3,29	0,98	1,81	0,89	6,18	2,34	4,22	13,04	70,71	7,32	0,29	4,91	2,23	0,00	1,52
		m	22,49	16,13	0,00	20,56	26,98	11,17	16,46	39,18	25,54	16,62	24,74	0,00	0,00	23,96	21,91	0,54	0,00	25,16
	M.	64,72	20,24	0,00	27,13	28,93	14,70	18,16	51,54	30,21	24,45	49,35	100,00	13,84	24,52	31,44	4,98	0,00	27,94	
	R3	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
		x	26,06	20,10	50,00	25,19	25,42	19,46	17,07	40,62	29,21	25,22	40,44	56,98	12,14	21,56	32,23	4,13	50,00	15,72
		SD	27,32	2,83	70,71	2,87	7,79	5,54	2,23	7,89	3,45	9,56	8,44	51,11	5,41	5,48	16,21	3,74	70,71	12,32
m		4,61	17,01	0,00	21,97	17,41	15,97	14,79	33,36	25,69	18,29	32,52	0,00	5,98	15,32	16,03	0,00	0,00	7,03	
M.	56,82	22,56	100,00	27,50	32,98	25,85	19,26	49,02	32,58	36,12	49,32	98,77	16,08	25,59	48,44	7,28	100,00	29,82		
P	0,56	0,30	0,48	0,49	0,67	0,05	0,73	0,67	0,39	0,39	0,88	0,45	0,39	0,49	0,73	0,74	0,41	0,56		
RE	R1	n	3	3	ND	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	
		x	8,56	60,87	-	57,86	36,81	84,22	59,94	64,60	55,38	63,47	50,93	0,00	74,37	58,97	33,10	95,91	72,25	54,32
		SD	6,55	3,38	-	4,61	28,55	9,13	7,97	16,30	2,43	15,02	43,28	.	19,15	4,77	20,79	3,57	48,07	28,87
		m	2,75	57,29	-	53,15	6,48	78,14	55,16	46,80	53,15	47,06	18,22	0,00	55,92	54,10	16,57	93,40	16,74	21,33
	M.	15,67	63,99	-	62,38	63,17	94,72	69,13	78,78	57,97	76,55	100,00	0,00	94,15	63,64	56,44	100,00	100,00	74,98	
	R2	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
		x	16,00	64,66	0,00	60,40	22,09	70,13	61,31	27,42	58,29	43,03	11,34	0,00	89,10	60,70	40,78	97,37	58,15	54,43
		SD	12,18	4,51	.	4,90	9,13	1,75	3,25	10,96	3,81	9,79	4,78	0,00	9,77	6,51	11,42	2,23	51,96	6,50
		m	7,69	59,45	0,00	56,31	11,59	68,49	58,14	16,42	54,88	31,75	6,61	0,00	81,14	53,19	29,34	95,02	0,00	47,15
	M.	29,98	67,39	0,00	65,83	28,08	71,97	64,63	38,33	62,40	49,18	16,16	0,00	100,00	64,79	52,17	99,46	100,00	59,64	
	R3	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
		x	33,37	64,39	0,00	62,94	34,31	61,36	63,36	42,75	59,86	42,12	11,49	0,00	85,84	67,10	31,42	95,87	50,00	72,33
		SD	30,50	4,37	0,00	4,29	9,79	3,23	5,08	8,32	5,19	5,22	4,80	0,00	8,09	9,02	35,02	3,74	70,71	15,60
m		13,34	60,76	0,00	58,39	25,68	58,71	60,15	36,84	54,28	38,92	7,46	0,00	77,85	58,81	0,00	92,72	0,00	59,32	
M.	68,47	69,25	0,00	66,92	44,95	64,96	69,22	52,27	64,54	48,14	16,81	0,00	94,02	76,71	69,18	100,00	100,00	89,63		
P	0,20	0,59	1,00	0,33	0,59	0,03	0,56	0,06	0,56	0,25	0,07	1,00	0,49	0,39	0,73	0,74	0,73	0,33		

Tabla 5.8. (Continuación). Grupo de exposición: Cd+Cu

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	Tl	V	Zn	
GD	R1	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	1	3
		x	59,53	19,37	100,00	14,62	46,82	22,25	24,24	21,82	13,35	36,42	41,45	100,00	2,35	18,64	36,19	0,00	0,00	21,41
		SD	18,40	0,91	0,00	0,80	10,43	2,73	4,94	9,84	0,87	7,38	12,55	.	4,07	3,71	0,31	0,00	.	8,53
		m	47,22	18,35	100,00	13,81	38,52	20,04	19,37	10,45	12,40	27,95	33,81	100,00	0,00	15,00	35,91	0,00	0,00	13,59
	M.	80,68	20,10	100,00	15,41	58,52	25,30	29,25	27,63	14,11	41,47	55,93	100,00	7,05	22,42	36,53	0,00	0,00	30,51	
	R2	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
		x	30,25	17,39	100,00	14,33	47,39	10,32	18,90	20,34	13,14	34,43	49,90	100,00	1,30	11,54	32,97	0,00	34,53	19,98
		SD	12,96	1,36	.	0,80	3,70	3,19	2,32	1,52	0,26	3,59	17,25	0,00	2,26	2,04	13,58	0,00	56,73	9,33
		m	15,69	16,52	100,00	13,43	43,84	7,45	17,40	18,59	12,93	31,50	31,76	100,00	0,00	9,22	21,71	0,00	0,00	9,51
	M.	40,51	18,96	100,00	14,95	51,23	13,76	21,57	21,39	13,43	38,44	66,10	100,00	3,91	13,04	48,05	0,00	100,00	27,42	
	R3	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
		x	37,77	13,69	50,00	10,35	38,09	13,59	14,41	19,62	10,46	33,07	40,71	71,16	1,78	12,60	41,48	0,00	5,30	12,83
SD		15,98	4,31	70,71	2,67	1,37	3,32	1,93	8,88	2,01	5,98	11,09	40,78	3,09	5,92	19,59	0,00	6,14	0,42	
m		21,53	9,90	0,00	7,32	36,52	11,14	12,20	9,36	8,14	26,92	32,32	42,33	0,00	6,23	23,09	0,00	0,00	12,36	
M.	53,48	18,37	100,00	12,33	39,00	17,37	15,78	24,86	11,67	38,87	53,28	100,00	5,35	17,92	62,08	0,00	12,03	13,17		
P	0,15	0,15	0,69	0,06	0,15	0,05	0,04	0,56	0,06	0,59	0,96	0,47	0,94	0,10	0,67	1,00	0,58	0,25		
BR	R1	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	1	3	
		x	34,98	20,51	0,00	26,51	34,41	19,15	19,50	50,50	29,62	23,89	45,19	0,00	11,01	25,73	36,26	9,65	100,00	36,55
		SD	15,04	1,54	0,00	1,92	10,88	1,46	3,34	13,81	1,51	7,92	14,72	.	0,93	1,84	10,85	5,94	.	11,26
		m	19,32	19,54	0,00	24,63	22,19	17,64	15,75	36,53	27,88	17,80	28,26	0,00	9,95	24,58	25,46	4,76	100,00	23,59
	M.	49,31	22,28	0,00	28,48	43,02	20,56	22,17	64,14	30,52	32,84	55,00	0,00	11,66	27,85	47,16	16,26	100,00	43,81	
	R2	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
		x	23,02	16,23	0,00	22,00	21,47	16,95	14,91	40,73	25,69	18,43	36,49	0,00	9,97	18,12	29,55	5,23	3,11	18,32
		SD	12,54	3,80	.	4,13	7,15	6,10	1,60	20,56	5,16	3,01	22,34	0,00	9,32	5,32	10,54	5,74	5,39	16,26
		m	11,76	12,23	0,00	17,84	15,25	9,97	13,07	28,72	20,11	16,13	14,88	0,00	0,00	12,64	17,51	0,00	0,00	2,40
	M.	36,53	19,79	0,00	26,10	29,28	21,21	16,01	64,47	30,29	21,84	59,51	0,00	18,46	23,27	37,15	11,38	9,33	34,91	
	R3	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
		x	23,43	20,98	50,00	30,31	30,01	15,40	17,16	43,26	33,34	20,21	43,89	28,84	12,52	27,01	30,33	19,25	3,85	23,09
SD		11,22	2,46	70,71	2,20	6,08	2,63	2,51	4,71	1,44	2,53	7,06	40,78	3,61	4,39	13,15	3,05	6,68	10,98	
m		15,11	18,71	0,00	27,82	23,02	12,94	14,43	37,86	31,70	17,33	36,66	0,00	9,71	22,59	17,08	16,09	0,00	10,44	
M.	36,19	23,59	100,00	32,02	34,04	18,16	19,38	46,54	34,42	22,05	50,76	57,67	16,59	31,36	43,37	22,18	11,56	30,19		
P	0,39	0,29	0,47	0,06	0,18	0,43	0,20	0,67	0,04	0,43	0,84	0,47	0,96	0,12	0,73	0,08	0,25	0,29		
RE	R1	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	1	3	
		x	5,49	60,12	0,00	58,87	18,78	58,60	56,26	27,68	57,03	39,70	13,36	0,00	86,64	55,63	27,55	90,35	0,00	42,03
		SD	9,51	1,95	0,00	1,73	0,45	4,14	1,92	7,54	1,02	0,90	2,32	.	4,51	2,42	10,55	5,94	.	5,26
		m	0,00	58,06	0,00	56,88	18,46	54,14	55,00	21,53	55,99	39,14	11,19	0,00	81,53	52,84	16,93	83,74	0,00	36,04
	M.	16,47	61,94	0,00	59,96	19,29	62,32	58,46	36,10	58,02	40,74	15,80	0,00	90,05	57,15	38,02	95,24	0,00	45,90	
	R2	n	3	3	1	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
		x	46,72	66,38	0,00	63,67	31,13	72,73	66,20	38,93	61,18	47,14	13,61	0,00	88,73	70,34	37,48	94,77	62,36	61,70
		SD	21,16	5,01	.	4,90	5,72	3,61	3,58	21,19	4,90	6,60	5,16	0,00	11,19	7,29	21,65	5,74	54,39	11,17
		m	22,96	61,25	0,00	58,96	26,88	69,05	62,42	14,50	56,78	39,72	8,74	0,00	77,63	63,68	17,97	88,62	0,00	54,92
	M.	63,53	71,25	0,00	68,73	37,64	76,28	69,53	52,40	66,46	52,38	19,01	0,00	100,00	78,14	60,78	100,00	100,00	74,59	
	R3	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
		x	38,80	65,33	0,00	59,34	31,90	71,01	68,43	37,13	56,20	46,72	15,39	0,00	85,70	60,39	28,19	80,75	90,84	64,08
SD		26,73	6,33	0,00	3,22	5,30	5,90	3,11	8,21	1,51	6,75	7,08	0,00	6,65	9,34	15,84	3,05	4,58	10,67	
m		10,33	58,04	0,00	55,66	28,26	64,47	64,84	28,83	54,51	39,07	10,06	0,00	78,07	54,99	17,36	77,82	87,97	57,45	
M.	63,36	69,46	0,00	61,60	37,98	75,92	70,31	45,26	57,45	51,83	23,42	0,00	90,29	71,18	46,37	83,91	96,12	76,39		
P	0,10	0,39	1,00	0,39	0,06	0,06	0,05	0,43	0,25	0,33	0,96	1,00	0,96	0,18	0,73	0,08	0,36	0,05		

Tabla 5.8. (Continuación). Grupo de exposición: Cd+Pb+Cu

		Al	As	Be	B	Co	Cr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Sb	Se	Sr	Ti	TI	V	Zn	
GD	R1	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
		x	17,82	16,18	33,33	11,75	45,30	14,27	19,28	19,59	11,63	30,47	45,59	35,82	3,76	11,19	21,30	0,00	20,13	25,35
		SD	2,20	2,80	57,74	1,10	12,04	5,53	2,13	4,18	0,11	3,90	13,21	55,71	4,30	1,00	2,68	0,00	24,27	19,78
		m	15,30	12,95	0,00	10,51	36,65	7,90	17,11	14,76	11,52	26,21	34,61	0,00	0,00	10,04	19,70	0,00	2,97	12,21
	M.	19,33	17,83	100,00	12,61	59,05	17,75	21,37	22,12	11,73	33,88	60,25	100,00	8,45	11,80	24,39	0,00	37,29	48,10	
	R2	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3
		x	49,65	12,48	12,99	9,34	50,61	12,45	15,65	14,85	8,64	31,61	39,28	74,12	0,00	9,88	17,58	0,00	3,90	13,72
		SD	30,64	1,87	18,37	2,35	17,19	2,75	2,93	7,46	2,25	7,39	4,85	30,44	0,00	4,29	7,29	0,00	.	3,17
		m	29,48	10,83	0,00	7,27	36,90	9,95	13,04	8,58	6,55	25,13	34,50	40,58	0,00	5,86	9,79	0,00	3,90	10,07
	M.	84,91	14,51	25,97	11,89	69,89	15,40	18,81	23,11	11,02	39,66	44,19	100,00	0,00	14,41	24,22	0,00	3,90	15,72	
	R3	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3
		x	30,99	17,28	100,00	11,72	42,83	9,84	16,79	23,56	10,56	35,34	60,33	60,07	6,32	11,25	29,05	0,00	32,41	15,66
		SD	4,00	4,15	0,00	3,03	3,46	3,78	4,05	9,05	2,73	1,18	7,74	56,46	5,47	4,90	3,76	0,00	16,35	5,67
m		28,09	12,49	100,00	8,45	39,94	5,54	12,38	16,02	7,47	34,15	52,98	20,15	0,00	6,42	24,74	0,00	20,85	9,14	
M.	35,55	19,95	100,00	14,44	46,67	12,60	20,35	33,60	12,62	36,51	68,41	100,00	9,70	16,22	31,63	0,00	43,97	19,53		
P	0,05	0,18	0,35	0,30	0,84	0,49	0,39	0,56	0,18	0,29	0,15	0,74	0,19	0,73	0,05	1,00	0,50	0,56		
BR	R1	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	
		x	61,44	14,74	33,33	21,26	20,87	21,86	15,73	39,48	24,42	20,31	39,20	33,33	5,44	21,79	39,09	1,61	14,27	14,10
		SD	27,04	3,27	57,74	4,54	7,77	7,61	0,88	11,63	4,15	7,91	11,48	57,74	7,72	3,73	20,82	2,13	20,18	7,77
		m	30,52	10,96	0,00	16,24	14,88	14,80	15,18	32,22	19,63	14,68	28,73	0,00	0,00	17,48	15,21	0,00	0,00	5,12
	M.	80,67	16,84	100,00	25,08	29,66	29,92	16,74	52,89	27,00	29,35	51,48	100,00	14,28	24,20	53,46	4,02	28,53	18,59	
	R2	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3
		x	33,36	11,22	87,01	21,55	24,15	15,68	12,20	46,37	24,24	17,43	51,58	25,88	0,00	21,97	41,77	4,58	0,00	20,13
		SD	26,54	1,52	18,37	4,98	5,65	3,13	0,95	7,80	5,54	3,09	4,58	30,44	0,00	5,24	27,66	7,93	.	6,29
		m	13,87	9,87	74,03	17,81	18,88	13,43	11,32	38,20	19,52	14,13	46,72	0,00	0,00	17,68	12,53	0,00	0,00	13,28
	M.	63,59	12,87	100,00	27,21	30,11	19,25	13,21	53,73	30,33	20,24	55,81	59,42	0,00	27,81	67,54	13,73	0,00	25,66	
	R3	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3
		x	43,30	10,74	0,00	18,73	27,17	9,50	12,19	33,93	22,01	15,64	19,49	39,93	1,79	15,93	27,19	0,74	0,00	22,61
		SD	28,08	1,74	0,00	4,09	4,40	1,63	2,58	21,36	4,64	1,88	8,30	56,46	2,29	2,18	1,20	1,28	0,00	7,50
m		15,79	9,22	0,00	14,68	22,65	8,02	10,34	12,66	16,82	13,56	9,91	0,00	0,00	13,50	25,81	0,00	0,00	16,77	
M.	71,91	12,63	0,00	22,85	31,43	11,24	15,14	55,39	25,75	17,23	24,28	79,85	4,37	17,73	27,99	2,21	0,00	31,06		
P	0,25	0,18	0,31	0,73	0,39	0,04	0,06	0,56	0,67	0,59	0,04	0,98	0,23	0,19	0,73	0,81	0,47	0,43		
RE	R1	n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	
		x	20,74	69,08	33,33	66,99	33,82	63,87	64,99	40,94	63,95	49,22	15,22	30,85	90,79	67,03	39,61	98,39	65,60	60,56
		SD	29,23	6,08	57,74	5,64	10,12	3,63	2,90	14,24	4,06	4,15	11,30	53,43	8,63	4,73	18,16	2,13	4,09	12,06
		m	0,00	65,33	0,00	62,31	26,06	61,40	61,89	25,23	61,37	44,43	6,63	0,00	82,88	64,08	26,84	95,98	62,71	46,77
	M.	54,18	76,09	100,00	73,25	45,27	68,03	67,63	53,01	68,63	51,78	28,01	92,55	100,00	72,48	60,40	100,00	68,50	69,20	
	R2	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3
		x	16,98	76,30	0,00	69,11	25,24	71,88	72,15	38,78	67,12	50,96	9,15	0,00	100,00	68,14	40,65	95,42	96,10	66,15
		SD	26,77	3,39	0,00	7,31	22,77	3,53	2,64	1,14	7,78	9,42	7,93	0,00	0,00	9,50	24,63	7,93	.	9,37
		m	1,22	72,62	0,00	60,90	0,00	68,76	69,10	37,69	58,65	40,10	0,00	0,00	100,00	57,79	22,68	86,27	96,10	58,62
	M.	47,89	79,30	0,00	74,92	44,22	75,70	73,75	39,95	73,94	56,95	14,13	0,00	100,00	76,46	68,73	100,00	96,10	76,65	
	R3	n	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3
		x	25,71	71,99	0,00	69,54	30,00	80,66	71,02	42,51	67,43	49,02	20,18	0,00	91,89	72,82	43,76	99,26	67,59	61,74
		SD	24,45	5,53	0,00	6,43	3,04	5,03	6,39	16,50	7,20	1,90	15,31	0,00	7,17	6,58	3,35	1,28	16,35	11,77
m		0,00	67,98	0,00	64,86	26,68	77,36	64,51	23,56	62,65	47,35	7,31	0,00	86,38	67,23	40,59	97,79	56,03	50,64	
M.	48,67	78,29	0,00	76,87	32,64	86,45	77,28	53,74	75,71	51,09	37,11	0,00	100,00	80,08	47,28	100,00	79,15	74,08		
P	0,97	0,20	0,51	0,84	1,00	0,03	0,18	0,73	0,56	0,67	0,56	0,44	0,17	0,56	0,73	0,81	0,37	0,88		



**Tabla 6. 1.** Concentración de Pb, Cd y Cu (mg kg<sup>-1</sup>) en heces tras 7 días de exposición para cada réplica y grupos de exposición (media, desviación estándar, mínimo y máximo).

		<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
<b>CONTROL FE1</b>	<b>Pb</b>	1.84	1.82	2.64
	<b>Cd</b>	0.06	0.09	0.16
	<b>Cu</b>	35.96	38.41	54.41
<b>Pb</b>	<b>Pb</b>	67.96	88.41	103.12
	<b>Cd</b>	0.04	0.12	0.16
	<b>Cu</b>	36.72	53.15	52.59
<b>Cu</b>	<b>Pb</b>	1.40	2.24	3.23
	<b>Cd</b>	0.00	0.12	0.23
	<b>Cu</b>	133.37	122.08	170.33
<b>Pb+Cu</b>	<b>Pb</b>	58.01	88.18	80.95
	<b>Cd</b>	0.08	0.11	0.12
	<b>Cu</b>	135.22	144.17	147.98
<b>CONTROL FE2</b>	<b>Pb</b>	1.59	1.44	0.89
	<b>Cd</b>	0.41	0.09	0.47
	<b>Cu</b>	37.35	39.33	22.01
<b>Cd</b>	<b>Pb</b>	1.72	2.61	0.46
	<b>Cd</b>	15.30	10.61	4.84
	<b>Cu</b>	41.48	49.49	13.03
<b>Cd+Pb</b>	<b>Pb</b>	73.32	119.90	62.58
	<b>Cd</b>	10.25	13.50	6.80
	<b>Cu</b>	28.93	49.50	18.75
<b>Cd+Cu</b>	<b>Pb</b>	0.63	2.21	0.88
	<b>Cd</b>	11.54	6.87	3.32
	<b>Cu</b>	65.84	155.36	79.77
<b>Cd+Pb+Cu</b>	<b>Pb</b>	376.09	429.21	351.58
	<b>Cd</b>	12.66	10.49	14.83
	<b>Cu</b>	311.49	353.51	298.95

**Tabla 6. 2.** Concentración de elementos traza mayoritarios  $\text{g } 100\text{g}^{-1}$  en heces de mejillón tras 7 días de exposición para cada réplica y grupos de exposición.

	Control			Pb			Cu			Pb + Cu		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>Ca</b>	2.62	1.81	2.53	2.26	2.45	2.56	2.75	2.39	2.69	2.92	2.30	2.40
<b>K</b>	0.63	0.75	0.75	0.63	0.72	0.73	0.84	0.76	0.72	0.71	0.81	0.76
<b>Mg</b>	2	2.15	1.73	2.06	1.84	1.72	2.29	1.80	1.89	2.07	2.03	2.04
<b>Na</b>	14.01	15.08	12	14.17	12.57	12.10	14.54	13.33	12.57	14.02	14.76	14.20
<b>P</b>	0.84	0.74	0.76	0.81	0.70	0.76	0.72	0.57	0.78	0.74	0.61	0.68
<b>S</b>	2.11	1.8	1.66	2.14	1.70	1.33	1.72	1.34	1.34	1.68	1.41	1.36

	Control			Cd			Cd + Pb			Cd + Cu			Cd + Pb Cu		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>Ca</b>	2.41	2.35	1.80	2.13	2.83	1.08	1.88	2.64	1.41	1.26	4.35	1.87	2.74	3.29	2.57
<b>K</b>	0.88	0.80	0.90	0.85	0.72	1.01	0.96	0.81	0.95	1.08	0.81	1.01	1.03	0.84	0.91
<b>Mg</b>	2.22	2.27	1.99	2.19	1.96	2.63	1.78	2.02	2.41	2.15	2.02	2.19	2.40	2.01	1.95
<b>Na</b>	11.99	10.23	16.05	13.28	10.99	20.50	14.73	12.79	19.34	17.75	14.46	17.88	16.72	14.11	14.66
<b>P</b>	0.22	0.29	0.17	0.26	0.27	0.08	0.16	0.25	0.13	0.08	0.22	0.12	0.19	0.22	0.20
<b>S</b>	1.43	1.39	1.67	1.43	1.30	1.88	1.39	1.39	1.85	1.71	1.35	1.71	1.40	1.35	1.36

**Tabla 6. 3.** Concentración de elementos traza minoritarios (mg kg<sup>-1</sup>) en heces.

Fase experimental 1

	Control			Pb			Cu			Pb + Cu		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>Al</b>	220,62	163,09	275,51	206,98	209,6	344,22	132,8	190,2	220,83	147,53	205,42	213,66
<b>As</b>	2,65	2,24	2,77	2,47	2,55	3,31	1,43	2,36	3,17	2,71	2,28	2,63
<b>Be</b>	-	0,06	0,02	-	0,08	0,03	-	0,07	-	-	0,04	-
<b>Bi</b>	0,91	-	-	0,96	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>B</b>	168,42	193,33	215,77	186,15	201,49	229,28	194,82	203,16	220,21	176,68	210,48	211,49
<b>Co</b>	2,05	2,15	2,62	1,84	2,31	2,84	1,32	1,84	2,08	1,37	1,86	1,9
<b>Cr</b>	3,67	7,22	9,38	3,41	8,49	10,32	4,07	7,69	9,19	5,81	7,39	8,34
<b>Fe</b>	5380,2	5564,17	6129,03	5336,46	5732,616	6743,777	5204,85	5006,645	6293,75	5046,51	5214,912	5691,089
<b>Li</b>	4,21	3,98	3,78	4,18	3,72	3,65	5,85	3,72	3,75	5,12	3,88	4,06
<b>Mn</b>	83,01	83,76	82,28	87,39	76,51	84,38	115,18	87,34	87,85	108,79	95,13	90,83
<b>Mo</b>	0,61	0,56	0,68	0,72	0,54	0,92	0,86	0,75	0,73	1,06	0,75	0,67
<b>Ni</b>	6,99	8,78	10,59	6,69	9,67	13,92	6,15	10,07	12,54	6,03	11,25	9,07
<b>Sb</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Se</b>	0,79	0,13	0,81	0,94	0,97	0,69	-	0,42	-	0,47	-	-
<b>Sr</b>	390,87	421,39	439,55	372,71	432,53	435,29	411,59	359,8	427,92	395,56	359,87	400,2
<b>Ti</b>	9,98	7,45	10,92	6,5	6,89	17,09	6,01	8,7	11,42	7,61	7,94	8,24
<b>Tl</b>	47,43	48,95	44,5	49,45	44,22	44,23	58,33	44,04	40,94	57,74	44,45	43,8
<b>V</b>	0,82	0,89	1,42	0,78	1,04	1,49	0,59	1,28	1,06	0,85	0,94	1,03
<b>Zn</b>	43,19	49,68	70,42	41	77,02	86,08	71,81	78,14	153,5	74,69	92,74	89,29

Tabla 6.4. (Continuación) Fase experimental 2.

	Control 2			Cd			Cd + Pb			Cd + Cu			Cd + Pb Cu		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Al	177,13	209,54	124,59	306,54	447,32	64,97	131,28	252,71	94,77	77,37	242,67	103,16	350,31	335,75	246,49
As	3,86	2,53	1,87	2,16	2,86	0,64	1,11	1,75	1,22	1,12	1,86	1,08	4,6	4,18	4,33
Be	0,02	0,02	-	-	0,1	-	0,02	-	0,02	-	-	0,02	-	0,05	-
Bi	--	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	172,08	196,94	145,63	197,94	211,43	112	149,1	182,02	128,44	113,57	163,52	133,96	151,62	177,2	159,25
Co	1,39	1,57	0,8	1,4	1,46	0,5	1,06	1,44	0,78	0,34	1,05	0,62	0,68	1,01	0,86
Cr	4,2	5,86	3,1	3,71	4,4	1,39	2,75	3,85	2,01	1,14	4,18	2,1	4,44	3,65	3,09
Fe	1198,265	1811,736	1019,309	1549,153	1617,903	425,22	952,29	1471,875	760,45	346,88	1320,57	730,21	954,66	1310,28	1060,351
Li	4,26	3,55	4,12	3,85	3,25	5,04	4,52	4,15	4,64	5,07	4,29	4,97	4,53	4,49	3,77
Mn	88,99	83,26	87,88	102,13	94,91	96,44	101,19	90,1	93,63	101,16	88,82	100,15	110,62	91,99	90,53
Mo	1,07	1,11	0,65	0,94	0,95	0,54	0,65	0,75	0,56	0,71	0,99	0,54	1,21	1,26	0,86
Ni	11,15	8,86	4,85	9,66	10,61	2,78	7,84	8,23	4,79	3,44	9,17	4,48	10,34	12,2	9,19
Sb	0,32	0,07	-	-	-	-	-	0,08	0,11	-	0,18	-	0,09	-	0,12
Se	1,2	1,43	0,76	-	-	0,17	-	0,52	0,07	0,15	-	0,21	-	-	0,37
Sr	262,3	281,05	237,4	252,3	257,03	184,17	225,91	263,33	208,24	194,38	343,11	229,66	246,3	276,64	242,46
Ti	3,44	5,22	2,88	6,88	7,75	2,57	2,61	6,44	3,74	1,58	6,37	3,88	8,63	7,45	6,63
Tl	42,52	42,4	48,37	45,86	38,8	55,73	52,12	40,81	51,9	59,19	38,53	54,75	42,48	38,79	42,35
V	1,4	2,81	0,7	1,24	1,48	0,51	0,63	0,75	0,57	0,46	1,27	0,33	1,18	1,96	1,49
Zn	165,14	75,71	80,9	104,6	89,26	28,93	154,03	72,08	36,93	48,87	160,24	54,66	164,72	122,03	117,67

RESUMEN  
SUMMARY

---



En la actualidad, los ecosistemas marinos se encuentran sometidos a una gran presión derivada de la contaminación ambiental. Esto hace imprescindible el constante estudio de los posibles riesgos asociados a la presencia de contaminantes. Así, a través de los programas oficiales de vigilancia ambiental (biomonitorización) se conoce la calidad del medio marino de numerosas zonas. Esta evaluación de la calidad del agua marina se realiza habitualmente mediante la identificación de los contaminantes químicos, su acumulación en especies bioindicadoras y la medida de las respuestas biológicas mediante el uso de biomarcadores. Además de los programas de biomonitorización, los bioensayos en condiciones controladas de laboratorio aportan una valiosa información para la toma de decisiones en los citados programas de vigilancia.

Los metales pesados siguen siendo fuente de preocupación a nivel social y científico. Metales como el Pb, Cd y Cu están considerados como sustancias peligrosas prioritarias y preferentes. Debido a su elevada persistencia, bioacumulación y toxicidad, suponen un riesgo importante en aguas superficiales, tanto para organismos marinos como para el ser humano. Por ello, la evaluación de efectos biológicos por estos elementos sigue siendo de interés, lo cual se pone de manifiesto en la gran cantidad de estudios que anualmente son publicados. Por otra parte, las mezclas de metales son consideradas de gran importancia en Toxicología, ya que la forma de presentación de aquellos es normalmente a base de mezclas, a menudo complejas. Sin embargo, la mayoría de estudios experimentales se desarrollan con metales en forma única, siendo escasas las publicaciones sobre efectos biológicos e interacciones entre metales pesados.

En toxicología marina, el mejillón silvestre (*Mytilus galloprovincialis*) es considerada la especie de elección en estudios de campo como en bioensayos. Los conocimientos relativos a su fisiología y nutrición, junto a la gran información disponible sobre acumulación de metales y efectos biológicos, los convierten en una especie ideal para la búsqueda de efectos por exposición a mezclas de metales. Pero en todo nuevo programa de investigación es imprescindible empezar la recogida de información desde lo más básico, para posteriormente poder tomar decisiones en base a los resultados obtenidos. Por ello, en esta tesis se ha planteado la evaluación de efectos derivados de la exposición a mezclas de tres metales pesados considerados de interés (Pb, Cd y Cu), analizando los efectos de la exposición simple, a mezclas binarias y finalmente a la ternaria. Los marcadores biológicos seleccionados en primer lugar proporcionan una importante fuente de información sobre el

efecto inmediato en los mejillones, evaluables sin necesidad de complicadas técnicas analíticas: comportamiento alimentario, alteraciones biométricas y en la respuesta inmune. Sobre estos marcadores, también se han evaluado los efectos interactivos de las mezclas (aditivo, sinérgico o antagonico). En una segunda fase se consideró la acumulación tisular de Pb, Cd y Cu, ya que se trata de la respuesta que durante años se usó en la interpretación de resultados en estudios de biomonitorización. Como complemento a esta evaluación, hemos estudiado la acumulación en tres compartimentos: glándula digestiva, branquia y resto de tejidos, de manera que también hemos podido realizar el estudio correspondiente a su distribución tisular, para intentar estudiar las posibles traslocaciones entre compartimentos. Finalmente hemos analizado las interacciones de estos metales pesados con otros elementos inorgánicos presentes en los tejidos: elementos traza mayoritarios (ETM) y minoritarios (ETm).

En general, los mejillones expuestos a la mezcla ternaria fueron los más afectados. Los ejemplares expuestos a esta mezcla fueron los que menos materia orgánica consumieron, seguidos de los expuestos a Cd y a Cd+Pb ( $p < 0.05$ ). Los marcadores biométricos afectados significativamente fueron los pesos de glándula y branquia, así como sus correspondientes índices de condición (hepatosomático y branquial), aunque solo en el grupo expuesto a la mezcla ternaria. De los índices de condición totales, solo encontramos diferencias significativas en los calculados con el peso de las valvas (ICval) del mismo grupo. Con respecto a la respuesta inmune analizada, solo los grupos expuestos a Cu y a Pb+Cu aumentaron la actividad PO con respecto al grupo control ( $p < 0.05$ ). La acumulación de Pb, Cd y Cu aumentó significativamente en el grupo expuesto a la mezcla ternaria, no existiendo un patrón común de respuesta en las exposiciones a las mezclas simples y binarias.

La glándula digestiva fue el órgano en el que mayoritariamente se concentraron los metales pesados, mientras que los porcentajes en los diferentes compartimentos variaban según los tratamientos, poniendo de manifiesto la traslocación tisular de los mismos. Con respecto a los ETM y ETm, las diferencias más marcadas fueron sobre el K, Na, P (ETM), B y Cr (ETm), siendo de nuevo el grupo expuesto a la mezcla ternaria el que más modificaciones presentó. El efecto interactivo más observado fue el aditivo, mientras que el antagonico fue el menos registrado. Finalmente, las concentraciones de Pb, Cd y Cu en heces se incrementaron notablemente en el caso de los grupos expuestos a la mezcla ternaria



seguidamente del expuesto a la mezcla Cd+Pb, mientras que los ETM y ETm fueron escasas las diferencias observadas.

## SUMMARY

At present, marine ecosystems are under great pressure due to environmental pollution. This makes necessary to set a constant evaluation of the possible risks associated to the presence of pollutants. For this purpose, official surveillance environmental programs (biomonitoring) are established, which gather information on the quality of the marine environment in many places. The evaluation of the quality of marine waters is usually carried out by identifying chemical pollutants, analyzing their accumulation in bioindicator species and evaluating biological response given by biomarkers. In addition to biomonitoring programs, bioassays carried out under laboratory controlled conditions provide useful information when taking decisions related to monitoring activities.

Heavy metals remain a source of concern at both social and scientific level. Metals such as Pb, Cd and Cu are considered as priority and preferred hazardous substances. Because of their high persistence, bioaccumulation and toxicity, they pose a significant risk to superficial waters, as much as for marine organisms as for humans. Thus, the evaluation of the biological effects caused by these elements remains interesting and a large number of studies are annually published about that. Moreover, mixtures of metals are considered of high relevance in Toxicology, as metals are often present in complex mixtures. However, most of experimental studies are developed with metals in single form, with a few number of published studies on interactions between heavy metals and the biological effects of such interactions.

In marine toxicology, wild mussel (*Mytilus galloprovincialis*) is considered the species of choice in field studies and in bioassays. Knowledge about their physiology and nutrition, along with the great information available on accumulation of metals and biological effects, make it ideal for finding effects of exposure to metal mixtures. In any new research program it is essential to begin by collecting information from the basics, and then taking decisions based on the results. Therefore, this thesis sets out the assessment of the effects of exposure to mixtures of three heavy metals considered of interest (Pb, Cd and Cu), analyzing the effects of single exposure in first place, then of exposure to binary compounds and finally to ternary mixtures. Biomarkers selected first provide an important source of information about the immediate effect on the mussels, evaluated without complex analytical techniques:

feeding behaviour, biometric alterations and immune response. The interactive effects of mixtures (additive, synergistic or antagonistic) have been also evaluated. In a second phase the tissue accumulation of Pb, Cd and Cu was considered, as it is the response used for years in the interpretation of results in biomonitoring studies. In addition to this assessment, we studied the accumulation into three compartments: digestive gland, gills and remainder tissues, so that we could also make the corresponding tissue distribution study, to try to study possible displacements between compartments. Finally we have analyzed the interactions of these heavy metals and other inorganic elements present in tissues: majority and minority trace elements (MTE and mTE).

In general, the mussels exposed to the ternary mixture were the most affected. The specimens which consumed less organic matter were those exposed to that mixture, followed by the specimens exposed to Cd and Cd+Pb ( $p < 0.05$ ). The gland and gill weights were the biometric markers most significantly affected as well as their corresponding condition indexes (hepatosomatic and gill index), but only in the group exposed to the ternary mixture. Among the total condition indexes, we found significant differences only in those calculated from the weight of the shells (ICval) among the same group. Regarding the immune response analyzed, only groups exposed to Cu and Pb+Cu increased the PO activity compared to the control group ( $p < 0.05$ ). The accumulation of Pb, Cd and Cu increased significantly in the group exposed to the ternary mixture, with no common pattern of response to exposure to simple and binary mixtures.

Heavy metals mainly concentrated in the digestive gland, and the percentages varied in different compartments according to the treatments, showing their displacement between tissues. Regarding MTE and mTE, the biggest differences were observed on K, Na, P (MTE), B and Cr (mTE), with the group exposed to the ternary mixture being again the one which underwent the biggest modifications. The interactive effect the most observed was the additive, while the less frequent was the antagonistic one. Finally, concentrations of Pb, Cd and Cu in faeces increased significantly in the case of groups exposed to the ternary mixture followed by the group exposed to the mixture of Cd+Pb, and few differences were observed between MTE and mTE groups.