

# Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático

J.A. Camargo<sup>1</sup>, A. Alonso<sup>2</sup>

(1) Departamento de Ecología. Universidad de Alcalá, 28871. Alcalá de Henares. Madrid. España

(2) Laboratorio de Ecotoxicología, Departamento de Medio Ambiente, INIA, E-28040, Madrid.

➤ Recibido el 20 de noviembre de 2006, aceptado el 3 de diciembre de 2007.

**Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático.** Los principales problemas medioambientales asociados a la contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos son: (1) acidificación de ríos y lagos con baja o reducida alcalinidad; (2) eutrofización de las aguas dulces y marinas (con el problema adicional de las algas tóxicas); y (3) toxicidad directa de los compuestos nitrogenados para los animales acuáticos. Además, la contaminación por nitrógeno inorgánico podría inducir efectos perjudiciales sobre la salud humana. En base a diferentes criterios de calidad del agua, consideramos que niveles máximos de nitrógeno inorgánico disuelto dentro del rango 0,5-1,0 mg NID/l (o mejor aún de nitrógeno total dentro del rango 0,5-1,0 mg NT/l) pueden ser adecuados para prevenir los procesos de acidificación y eutrofización en los ecosistemas acuáticos (al menos por nitrógeno) y, al mismo tiempo, proteger a los animales acuáticos (y también a las personas) de los efectos tóxicos de los compuestos nitrogenados  $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{HNO}_2^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ . Este rango de concentraciones no sería aplicable a aquellos ecosistemas que, de manera natural, presentan niveles altos de nitrógeno. Concluimos que los problemas comentados pueden agudizarse en aquellas regiones del mundo (por ejemplo, en el sur de España) donde se esperan disminuciones de los recursos hídricos y aumentos de las temperaturas ambientales como consecuencia del cambio climático en curso.

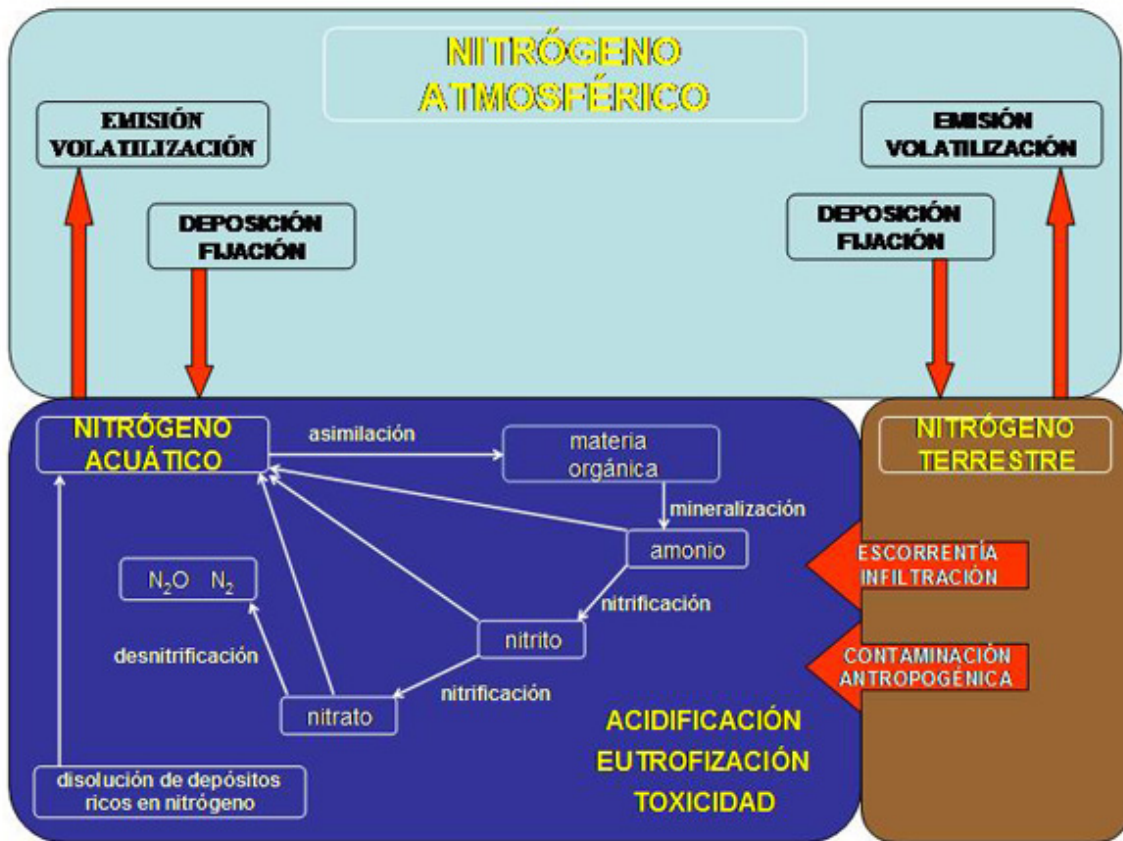
Palabras clave: Contaminación por nitrógeno inorgánico, Ecosistemas acuáticos, Problemas medioambientales, Criterios de calidad del agua, Implicaciones del cambio climático

**Inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: environmental problems, water quality criteria, and implications of climate change.** The major environmental problems related to inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems are: (1) acidification of lakes and rivers with low or reduced alkalinity; (2) eutrophication of fresh and marine waters (with the additional problem of toxic algae); and (3) direct toxicity of nitrogenous compounds to aquatic animals. Additionally, inorganic nitrogen pollution could induce adverse effects on human health. On the basis of different water quality criteria, we consider that maximum levels of dissolved inorganic nitrogen within the range 0.5-1.0 mg DIN/l (or even better of total nitrogen within the range 0.5-1.0 mg TN/l) may be suitable to prevent the processes of acidification and eutrophication in aquatic ecosystems (at least by nitrogen) and, at the same time, to protect aquatic animals (and also humans) against the toxic effects of inorganic nitrogenous compounds  $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{HNO}_2^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ . This range of concentrations would not be applicable to those aquatic ecosystems with naturally high nitrogen levels. We conclude that the commented problems can become acute in those world's regions (for example, in southern Spain) where reductions in water resources and rises in environmental temperatures are expected to occur as a consequence of the current climate change.

Key words: Inorganic nitrogen pollution, Aquatic ecosystems, Environmental problems, Water quality criteria, Implications of climate change

## Introducción

Las formas iónicas (reactivas) de nitrógeno inorgánico más comunes en los ecosistemas acuáticos son el amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), el nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) y el nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). Estos iones pueden estar presentes de manera natural en el medio acuático como consecuencia de la deposición atmosférica, la escorrentía superficial y subterránea, la disolución de depósitos geológicos ricos en nitrógeno, la descomposición biológica de la materia orgánica, y la fijación de nitrógeno por ciertos procariontes (**Fig. 1**). Sin embargo, las actividades humanas han alterado de manera significativa el ciclo global del nitrógeno (y de otros elementos químicos), aumentando su disponibilidad en muchas regiones del planeta como consecuencia de fuentes puntuales y difusas de contaminación (**Tabla 1**). Asociados a esta contaminación generalizada aparecen los siguientes problemas medioambientales en los ecosistemas acuáticos: (1) acidificación de ríos y lagos con baja o reducida alcalinidad; (2) eutrofización de las aguas y proliferación de algas tóxicas; (3) toxicidad directa de los compuestos nitrogenados para los animales acuáticos. Además, la contaminación por nitrógeno inorgánico podría inducir efectos perjudiciales sobre la salud humana.



**Figura 1.** Esquema general del ciclo del nitrógeno en los ecosistemas acuáticos, y los principales problemas medioambientales derivados de la contaminación.

**Tabla 1.** Principales fuentes antropogénicas de nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos (adaptado de Camargo y Alonso, 2006).

<b>Fuentes puntuales</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Residuos y vertidos de granjas de animales, piscifactorías continentales, y centros de acuicultura marina.</li> <li>● Vertidos industriales y municipales sin un tratamiento adecuado.</li> <li>● Procesos de escorrentía e infiltración en basureros.</li> </ul>
<b>Fuentes difusas</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Procesos de escorrentía e infiltración en campos de cultivo.</li> <li>● Procesos de escorrentía e infiltración en praderas y bosques quemados.</li> <li>● Emisiones a la atmósfera provenientes del uso de combustibles fósiles y fertilizantes, y la posterior deposición atmosférica sobre las aguas superficiales.</li> </ul>

## Acidificación

El dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) y los óxidos de nitrógeno (NO, NO<sub>2</sub>) han sido reconocidos tradicionalmente como los contaminantes principales en el proceso de acidificación de lagos y ríos con baja o reducida alcalinidad (Schindler, 1988; Baker *et al.*, 1991). Estos gases, una vez emitidos a la atmósfera, pueden reaccionar con otras moléculas (H<sub>2</sub>O, OH, O<sub>3</sub>), llegando a formar ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>). La deposición atmosférica de estos ácidos sobre las aguas superficiales puede incrementar no solo la concentración de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> y NO<sub>3</sub><sup>-</sup> sino también la concentración de H<sup>+</sup> y, en consecuencia, reducir el valor del pH del agua (Schindler, 1988; Baker *et al.*, 1991). Una disminución del pH puede incrementar la concentración de aluminio disuelto y otros metales trazas (Nelson y Campbell, 1991), lo cual puede a su vez perturbar el ciclo del fósforo al formarse y precipitar compuestos insolubles como el fosfato de aluminio (Kopáèek *et al.*, 2001).

Como resultado de la reducción significativa en las emisiones de SO<sub>2</sub> durante los años 80 y 90 del siglo pasado, la deposición atmosférica de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ha disminuido sensiblemente en muchas regiones de Norte América y Europa (Skjelkvale *et al.*, 2001). Por el contrario, las emisiones de óxidos de nitrógeno parece que no han experimentado una reducción equivalente y, en consecuencia, la relevancia de la deposición atmosférica de HNO<sub>3</sub> en el proceso de acidificación ha incrementado (Skjelkvale *et al.*, 2001).

La acidificación antropogénica de ríos y lagos puede causar diversos efectos adversos en plantas y animales acuáticos (**Tabla 2**). En muchos casos se ha observado una disminución drástica de las poblaciones de invertebrados y peces, especialmente de crustáceos, gasterópodos y salmónidos. Por otra parte, la acidificación de ríos y lagos puede alterar procesos microbianos que son importantes para el reciclaje de nutrientes y el funcionamiento del ecosistema: cesación del proceso de nitrificación y estimulación del proceso de desnitrificación (Rudd *et al.*, 1988); suspensión del proceso de fijación (Schindler, 1988); reducción del proceso de descomposición de la materia vegetal, con cambios en la calidad y disponibilidad de alimento para los invertebrados acuáticos (Dangles *et al.*, 2004).

**Tabla 2.** Principales efectos adversos de la acidificación antropogénica sobre los productores primarios y secundarios (adaptado de Camargo y Alonso, 2006).

<b>Efectos adversos</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reducción de la fotosíntesis y la productividad en algas del plancton y el bentos.</li> <li>• Disminución de la diversidad de especies en las comunidades del fitoplancton y el perifiton.</li> <li>• Bioacumulación y toxicidad del aluminio en macrófitos sumergidos y animales acuáticos.</li> <li>• Alteración de la respiración y la regulación iónica en animales acuáticos.</li> <li>• Reducción de la actividad o eficiencia alimentaria en animales acuáticos.</li> <li>• Alteración del desarrollo embrionario y la tasa de crecimiento en animales acuáticos.</li> <li>• Disminución de la diversidad de especies en las comunidades de animales acuáticos.</li> </ul>

## Eutrofización

Aunque el fósforo ha sido considerado tradicionalmente como el principal nutriente limitante para el crecimiento de las algas en los ecosistemas acuáticos continentales, existe en la actualidad una evidencia creciente de que el nitrógeno también puede actuar como nutriente limitante, sobre todo en aquellos casos de sobre-enriquecimiento por fósforo y disminuir el valor del cociente N:P. Contrariamente, en estuarios y ecosistemas costeros, el nitrógeno ha sido identificado generalmente como el principal nutriente limitante. No obstante, en los casos en que se produce una entrada significativa de nitrógeno, el valor del cociente N:P suele aumentar marcadamente, pudiendo devenir entonces el fósforo en nutriente limitante. Otros elementos químicos, como Si y Fe, también pueden influir en el crecimiento y abundancia de las algas pero, en general, con menor relevancia que N y P.

Concentraciones elevadas de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$  pueden, por tanto, promover el desarrollo, mantenimiento y proliferación de los productores primarios (fitoplancton, algas bentónicas, macrófitos), contribuyendo al muy extendido fenómeno de la eutrofización cultural de los ecosistemas acuáticos (Wetzel, 2001; Anderson *et al.*, 2002; Smith, 2003; EEA, 2005).

La eutrofización cultural puede producir diversos efectos ecológicos y toxicológicos los cuales están directa o indirectamente relacionados con la proliferación de los productores primarios (**Tabla 3**). Esta proliferación, y su posterior muerte y descomposición, suelen conducir a una marcada disminución de la concentración de oxígeno disuelto en aquellos ecosistemas con una reducida tasa de renovación de agua. Las muertes masivas de peces (y de otros animales) son probablemente la manifestación más dramática de hipoxia o anoxia en ecosistemas eutróficos e hipertróficos que experimentan estratificación. En algunas regiones del planeta (por ejemplo, Bahía de Chesapeake, Mar Báltico, Mar Negro) la pérdida de hábitat para la supervivencia y reproducción de los animales acuáticos puede llegar a ser enorme como consecuencia del déficit de oxígeno. Por otra parte, los procesos de mortalidad y la pérdida de hábitat pueden acentuarse con la proliferación de algas tóxicas en la comunidad fitoplanctónica.

**Tabla 3.** Principales efectos ecológicos y toxicológicos de la eutrofización cultural (adaptado de Camargo y Alonso, 2006).

<b>Efectos ecológicos y toxicológicos</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incremento de la biomasa de los productores primarios (proliferación de algas tóxicas en ciertas situaciones).</li> <li>• Reducción de la transparencia y la disponibilidad de luz.</li> <li>• Aumento de la materia orgánica sedimentada.</li> <li>• Disminución de la concentración de oxígeno disuelto en las aguas del fondo y los sedimentos.</li> <li>• Formación de compuestos reducidos (<math>\text{H}_2\text{S}</math>, por ejemplo) en las aguas del fondo y los sedimentos.</li> <li>• Cambios (aumento o disminución) en la biomasa de los productores secundarios.</li> <li>• Disminución de la diversidad de especies en las comunidades de productores primarios y secundarios.</li> </ul>

## Ocurrencia de algas tóxicas

Entre los diferentes grupos de algas que contribuyen a la ocurrencia de algas tóxicas en la comunidad fitoplanctónica, las cianobacterias, los dinoflagelados y las diatomeas parecen ser los más importantes.

### Cianobacterias

Las cianobacterias (o algas verde-azules) suelen ser más abundantes y diversas en los ecosistemas acuáticos continentales que en estuarios y ecosistemas costeros (Sellner, 1997; Wetzel, 2001; Smith, 2003). Las condiciones ambientales que favorecen su proliferación en la comunidad fitoplanctónica parecen ser una amplia radiación solar, una temperatura del agua relativamente elevada, y altas concentraciones de nutrientes (Hitzfeld *et al.*, 2000; Chorus, 2001). En este sentido, la importancia del nitrógeno inorgánico puede ser similar a la del fósforo inorgánico para la proliferación de aquellas cianobacterias que carecen de la capacidad de fijar nitrógeno molecular.

Los géneros de cianobacterias a menudo implicados en procesos de toxicidad para peces e invertebrados acuáticos son *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Nodularia* y *Planktothrix* (Hitzfeld *et al.*, 2000; Chorus, 2001; Landsberg, 2002). No obstante, las poblaciones de estos géneros no siempre son tóxicas (*Microcystis* casi siempre lo es). Investigaciones de campo y laboratorio han mostrado que la toxicidad de las cianobacterias depende en gran medida de si las células contienen los genes para la síntesis de las toxinas, y de si se dan las condiciones ambientales que promueven la expresión de tales genes (Hitzfeld *et al.*, 2000; Chorus, 2001; Landsberg, 2002).

Grupos principales de toxinas que han sido encontradas en poblaciones de cianobacterias son anatoxinas, microcistinas, nodularinas y saxitoxinas (**Tabla 4**). Aunque las neurotoxinas pueden matar más rápidamente que las hepatotoxinas, las microcistinas hepatotóxicas suelen ser más problemáticas debido a su abundancia y ubicuidad (Hitzfeld *et al.*, 2000; Chorus, 2001; Landsberg, 2002). Estudios de campo recientes han mostrado que la concentración de microcistinas puede correlacionar positivamente (pero no linealmente) con la concentración de nitrógeno total: niveles máximos de microcistinas pueden ocurrir entre 1,5 y 4,0 mg NT/l (Graham *et al.*, 2004). En el caso de otras cianotoxinas menos frecuentes, como la cilindrospermopsina y la neosaxitoxina, su relevancia puede ser importante en ciertas situaciones (Chorus, 2001; Landsberg, 2002).

**Tabla 4.** Grupos principales de toxinas en cianobacterias, dinoflagelados y diatomeas, indicando su estructura química, sitio y modo de acción, y algunas especies típicas (adaptado de Camargo y Alonso, 2006).

<b>Toxinas</b>	<b>Estructura</b>	<b>Sitio y modo</b>	<b>Especies</b>
Anatoxina-a	Amina secundaria (alcaloide)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sistema nervioso.</li> <li>• Mimetiza la acetilcolina, sobre-estimulando las células musculares.</li> </ul>	<i>Anabaena flos-aquae</i> <i>Aphanizomenon flos-aquae</i>
Anatoxina-a(s)	Organofosfato	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sistema nervioso.</li> <li>• Inhibe la acetilcolinesterasa, sobre-estimulando las células musculares.</li> </ul>	<i>Anabaena flos-aquae</i> <i>Anabaena lemmermannii</i>
Brevetoxinas	Éteres policíclicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sistema nervioso.</li> <li>• Se traban en los canales del sodio, y alteran la conducción del impulso nervioso.</li> </ul>	<i>Karenia brevis</i>
Ácido domoico	Ácido amino-tricarboxílico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sistema nervioso.</li> <li>• Se une a ciertos receptores, causando la despolarización y muerte de las neuronas.</li> </ul>	<i>Pseudo-nitzschia multiseriata</i> <i>Pseudo-nitzschia seriata</i>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Células diana.</li> </ul>	<i>Alexandrium</i>

Hemolisinas	Ácidos grasos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Perturban la estructura de las membranas, causando la lisis celular.</li> </ul>	<i>monilatum</i> <i>Gymnodinium aureolum</i>
Microcistinas	Heptapéptidos cíclicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hígado, hepato-pancreas.</li> <li>• Alteran el citoesqueleto, deformando las células y causando hemorragias.</li> </ul>	<i>Microcystis aeruginosa</i> <i>Planktothrix agardhii</i>
Nodularinas	Pentapéptidos cíclicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hígado, hepato-pancreas.</li> <li>• Alteran el citoesqueleto, deformando las células y causando hemorragias.</li> </ul>	<i>Nodularia spumigena</i>
Saxitoxinas	Carbamatos (alcaloides)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sistema nervioso.</li> <li>• Se traban en los canales del sodio, y alteran la conducción del impulso nervioso.</li> </ul>	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> <i>Alexandrium tamarense</i> <i>Gymnodinium catenatum</i>

### Dinoflagelados

En contraste con las cianobacterias, los dinoflagelados (o algas marrón-rojizas) suelen ser más abundantes y diversos en estuarios y ecosistemas costeros que en los ecosistemas continentales (Wetzel, 2001; Anderson *et al.*, 2002; Smith, 2003). Aunque las condiciones ambientales que favorecen su proliferación en la comunidad fitoplanctónica, dando lugar a las famosas mareas rojas, no han sido aún dilucidadas completamente, parece ser que la ocurrencia de mareas rojas ha incrementado en muchas regiones del planeta como consecuencia de la contaminación por nitrógeno inorgánico (Van Dolah, 2000; Anderson *et al.*, 2002; Smith, 2003).

Los géneros de dinoflagelados a menudo implicados en procesos de toxicidad para los animales marinos (moluscos, crustáceos, peces, aves, focas, delfines, etc.) son *Karenia*, *Alexandrium* y *Gymnodinium* (Van Dolah, 2000; Landsberg, 2002). Principales grupos de toxinas que han sido encontradas en poblaciones de estos géneros son brevetoxinas, saxitoxinas y hemolisinas (**Tabla 4**). Por su frecuencia, toxicidad, y rango de especies afectadas, las brevetoxinas pueden ser mucho más problemáticas que otras toxinas de dinoflagelados (Van Dolah, 2000; Landsberg, 2002).

### Diatomeas

Las diatomeas (o algas silíceas) son muy abundantes y diversas en el medio marino, pero también pueden serlo en el medio acuático continental (Adams *et al.*, 2000; Wetzel, 2001). Varias especies del género *Pseudo-nitzschia* han estado implicadas en ciertos procesos de toxicidad para algunos animales marinos (Landsberg, 2002; Busse *et al.*, 2006) debido a la biosíntesis de ácido domoico (**Tabla 4**). Además, la proliferación de diatomeas tóxicas en la comunidad fitoplanctónica parece que ha incrementado como consecuencia del enriquecimiento en nutrientes de las zonas costeras, siendo la contaminación por nitrógeno inorgánico un importante factor causativo (Adams *et al.*, 2000; Landsberg, 2002; Busse *et al.*, 2006).

## **Toxicidad de compuestos nitrogenados**

Los animales acuáticos están, en general, mejor adaptados a niveles relativamente bajos de nitrógeno inorgánico. Por este motivo, concentraciones anormalmente elevadas de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$  pueden mermar la habilidad de esos animales para sobrevivir, crecer y reproducirse, resultando en toxicidad directa de tales compuestos nitrogenados.



## Amoniaco

El amoniaco ionizado o ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y el amoniaco no ionizado ( $\text{NH}_3$ ) se encuentran estrechamente relacionados a través del equilibrio químico  $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \leftrightarrow \text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$ . Las concentraciones relativas de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NH}_3$  dependen básicamente del pH y la temperatura del agua (Russo, 1985): a medida que los valores de pH y temperatura aumentan, la concentración de  $\text{NH}_3$  también aumenta pero la concentración de  $\text{NH}_4^+$  disminuye.

El amoniaco no ionizado es muy tóxico para los animales acuáticos, en especial para los peces, mientras que el ión amonio es apreciablemente mucho menos tóxico. La acción tóxica de  $\text{NH}_3$  puede ser debida a una o más de las siguientes causas (para más información ver Camargo y Alonso, 2006): (1) destrucción del epitelio branquial; (2) estimulación de la glucólisis y supresión del ciclo de Krebs; (3) inhibición de la producción de ATP y reducción de sus niveles; (4) alteración de la actividad osmorreguladora; (5) disrupción del sistema inmunológico.

No obstante, niveles elevados de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$  en el medio acuático pueden reducir la susceptibilidad de los animales a la toxicidad del amoniaco (Environment Canada, 2001). Esto explicaría el hecho de que, en general, los animales de agua dulce muestran una menor tolerancia, con ciertos invertebrados (moluscos, planarias) y peces (salmónidos) como los más sensibles (**Tabla 5**).

**Tabla 5.** Toxicidad del amoniaco para animales acuáticos relativamente sensibles. Los valores de los parámetros toxicológicos ( $\text{CL}_{50}$ ,  $\text{CL}_{0,01}$ , LOEC), a diferentes tiempos de exposición (horas o días), se expresan en mg  $\text{NH}_3\text{-N/l}$  (adaptado de Camargo y Alonso, 2006).

<b>Especies</b>	<b>Parámetros</b>
<i>Villosa iris</i> (molusco; juveniles)	0,11 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Lampsilis cardium</i> (molusco; juveniles)	0,15 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Lampsilis fasciola</i> (molusco; juveniles)	0,26 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Polycelis felina</i> (planaria; adultos)	0,39 (96 h $\text{CL}_{50}$ ) 0,05 (30 d LOEC)
<i>Sphaerium novaezelandiae</i> (molusco; juveniles)	0,49 (96 h $\text{CL}_{50}$ ) 0,05 (60 d LOEC)
<i>Polycelis tenuis</i> (planaria; adultos)	0,58 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Eulimnogammarus toletanus</i> (anfípodo; adultos)	0,65 (96 h $\text{CL}_{50}$ ) 0,09 (96 h $\text{CL}_{0,01}$ )
<i>Oncorhynchus gorbuscha</i> (salmónido; alevines)	0,08 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (salmónido; alevines)	0,16-0,37 (96 h $\text{CL}_{50}$ ) 0,05 (72 d $\text{CL}_{50}$ )
<i>Salmo salar</i> (salmónido; alevines)	0,23 (24 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Perca fluviatilis</i> (pérido; alevines)	0,29 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Rutilus rutilus</i> (ciprinido; alevines)	0,35 (96 h $\text{CL}_{50}$ )

## Nitrito

El ión nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) y el ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ) están estrechamente relacionados a través del equilibrio químico  $\text{NO}_2^- + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{HNO}_2$ . Las concentraciones relativas de  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{HNO}_2$  dependen básicamente del pH del agua (Russo, 1985): a medida que el valor de pH aumenta, la concentración de  $\text{NO}_2^-$  también puede incrementar, pero la concentración de  $\text{HNO}_2$  disminuye.

Tanto el ión nitrito como el ácido nitroso son bastante tóxicos. Sin embargo, debido a que en los ecosistemas acuáticos la concentración de  $\text{NO}_2^-$  suele ser mucho mayor que la concentración de  $\text{HNO}_2$ , los iones nitrito son considerados los principales responsables de la toxicidad para los animales. La acción tóxica de  $\text{NO}_2^-$  es debida fundamentalmente a la conversión de los pigmentos respiratorios (hemoglobina, hemocianina) en formas que son incapaces de transportar y liberar oxígeno (meta-hemoglobina, meta-hemocianina), lo cual puede causar asfixia y en último término la muerte (para más información ver Camargo y Alonso, 2006).

No obstante, niveles elevados de  $\text{Cl}^-$  en el medio acuático pueden disminuir de forma significativa la susceptibilidad de los animales a la toxicidad del nitrito (Jensen, 2003). Esto explicaría el hecho de que, en general, los animales de agua dulce muestran una menor tolerancia, con ciertos crustáceos (decápodos, anfípodos), insectos (efemerópteros) y peces (salmónidos) como los más sensibles (**Tabla 6**).

**Tabla 6.** Toxicidad del nitrito para animales acuáticos relativamente sensibles. Los valores de los parámetros toxicológicos ( $\text{CL}_{50}$ ,  $\text{CL}_{0,01}$ ), a un tiempo de exposición de 96 horas, se expresan en  $\text{mg NO}_2\text{-N/l}$  (adaptado de Camargo y Alonso, 2006).

<b>Especies</b>	<b>Parámetros</b>
<i>Cherax quadricarinatus</i> (decápodo; adultos)	1,03 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Hexagenia</i> sp. (efemeróptero; larvas)	1,40 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Eulimnogammarus toletanus</i> (anfípodo; adultos)	2,09 (96 h $\text{CL}_{50}$ ) 0,18 (96 h $\text{CL}_{0,01}$ )
<i>Ephemerella</i> sp. (efemeróptero; larvas)	2,50 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Echinogammarus echinosetosus</i> (anfípodo; adultos)	2,59 (96 h $\text{CL}_{50}$ ) 0,21 (96 h $\text{CL}_{0,01}$ )
<i>Gammarus fasciatus</i> (anfípodo; adultos)	5,89 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Procambarus clarkii</i> (decápodo; adultos)	8,91 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Helisoma trivolvis</i> (molusco; adultos)	10,9 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (salmónido; alevines)	0,1-0,4 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Salmo clarki</i> (salmónido; alevines)	0,5-0,6 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i> (salmónido; alevines)	0,9 (96 h $\text{CL}_{50}$ )
<i>Pimephales promelas</i> (ciprinido; alevines)	2,3-3,0 (96 h $\text{CL}_{50}$ )



## Nitrato

Lo mismo que en el caso del nitrito, la acción tóxica de  $\text{NO}_3^-$  es debida básicamente a la conversión de los pigmentos respiratorios en formas que son incapaces de transportar y liberar oxígeno. Para ello, el nitrato ha de convertirse previamente en nitrito bajo las condiciones internas del animal. Sin embargo, el nitrato presenta una menor toxicidad que el nitrito y el amoníaco como resultado de su baja permeabilidad branquial, lo cual hace que su absorción a través de las branquias sea más limitada (para más información ver Camargo y Alonso, 2006).

En general, los animales marinos son más tolerantes que los animales de agua dulce a la toxicidad del nitrato. Ciertos crustáceos (anfípodos), insectos (tricópteros) y peces (salmónidos) destacan como los más sensibles (**Tabla 7**). También algunos anfibios, sobre todo en el estadio larvario, pueden mostrarse sensibles a concentraciones relativamente bajas de nitrato en el medio acuático (Sparling *et al.*, 2000; Camargo *et al.*, 2005). Es más, diversos estudios de campo y laboratorio indican que el uso generalizado de fertilizantes nitrogenados ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{NaNO}_3$ ) podría estar contribuyendo de manera significativa a la disminución de las poblaciones de anfibios en muchas áreas del mundo (Sparling *et al.*, 2000; Camargo *et al.*, 2005).

**Tabla 7.** Toxicidad del nitrato para animales acuáticos relativamente sensibles. Los valores de los parámetros toxicológicos ( $CL_{50}$ ,  $CL_{0,01}$ , LOEC, NOEC) a diferentes tiempos de exposición (horas o días), se expresan en  $\text{mg NO}_3\text{-N/l}$  (adaptado de Camargo y Alonso, 2006).

<b>Especies</b>	<b>Parámetros</b>
<i>Echinogammarus echinosetosus</i> (anfípodo; adultos)	62,5 (96 h $CL_{50}$ ) 2,8 (120 h $CL_{0,01}$ )
<i>Eulimnogammarus toletanus</i> (anfípodo; adultos)	85,0 (96 h $CL_{50}$ ) 4,4 (120 h $CL_{0,01}$ )
<i>Hydropsyche occidentalis</i> (tricóptero; larvas)	97,3 (96 h $CL_{50}$ ) 4,5 (120 h $CL_{0,01}$ )
<i>Cheumatopsyche pettiti</i> (tricóptero; larvas)	113,5 (96 h $CL_{50}$ ) 6,7 (120 h $CL_{0,01}$ )
<i>Hydropsyche exocellata</i> (tricóptero; larvas)	269,5 (96 h $CL_{50}$ ) 11,9 (120 h $CL_{0,01}$ )
<i>Ceriodaphnia dubia</i> (cladóceros; neonatos)	374 (48 h $CL_{50}$ ) 7,1-56,5 (7 d NOEC)
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (salmónido; alevines)	2,3 (30 d LOEC) 1,1 (30 d NOEC)
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i> (salmónido; alevines)	4,5 (30 d LOEC) 2,3 (30 d NOEC)
<i>Salmo clarki</i> (salmónido; alevines)	7,6 (30 d LOEC) 4,5 (30 d NOEC)
<i>Pseudacris triseriata</i> (anuro; renacuajos)	17,0 (96 h $CL_{50}$ ) 10,0 (100 d LOEC)
<i>Rana pipiens</i> (anuro; renacuajos)	22,6 (96 h $CL_{50}$ ) 10,0 (100 d LOEC)
<i>Rana temporaria</i> (anuro; larvas)	5,0 (56 d LOEC)

## Efectos sobre la salud humana

La ingestión de nitritos y nitratos a través del agua de bebida puede inducir directamente efectos adversos sobre la salud humana (**Tabla 8**). Los niños pequeños, sobre todo los menores de cuatro meses, son más susceptibles de sufrir meta-hemoglobinemia, manifestando los síntomas típicos de cianosis, taquicardia, convulsiones, asfixia, y en último término la muerte (Fewtrell, 2004). En el caso de las nitrosaminas, su formación se ve favorecida por el ambiente ácido (pH bajo) del estómago y la interacción de aminas secundarias con los iones nitrito (Manahan, 1992). Algunas evidencias científicas sugieren además que la ingestión prolongada de nitratos y nitritos podría contribuir al desarrollo de linfomas y cánceres, enfermedades coronarias, infecciones del tracto respiratorio, y malformaciones en los recién nacidos (para más información ver Camargo y Alonso, 2006).

**Tabla 8.** Principales efectos perjudiciales de la contaminación por nitrógeno inorgánico sobre la salud humana (adaptado de Camargo y Alonso, 2006).

<b>Efectos directos</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Bloqueo de la capacidad de transportar y liberar oxígeno de la hemoglobina (meta-hemoglobinemia).</li> <li>● Desarrollo de procesos cancerígenos en el tracto digestivo por la formación de nitrosaminas.</li> </ul>
<b>Efectos indirectos</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Trastornos fisiológicos (nauseas, vómitos, diarrea, gastroenteritis, neumonía, dolores musculares, etc.) y síndromes de intoxicación como consecuencia de la ingestión de agua o alimentos conteniendo toxinas algales.</li> <li>● Enfermedades infecciosas (malaria, encefalitis, cólera, etc.) al verse favorecido el desarrollo de organismos transmisores (mosquitos) o causantes (bacterias) de tales enfermedades.</li> </ul>

Por otra parte, el enriquecimiento en nutrientes de los ecosistemas acuáticos y la proliferación de algas tóxicas pueden causar indirectamente efectos adversos sobre la salud humana (**Tabla 8**). La ingestión de agua o alimentos (principalmente marisco) conteniendo toxinas algales puede dar lugar a trastornos fisiológicos y diversos síndromes de intoxicación (PSP, NSP, PEAS, ASP) que, en último término, pueden desembocar en la muerte de la persona afectada (Hitzfeld *et al.*, 2000; Van Dolah, 2000; Chorus, 2001; Landsberg, 2002; Busse *et al.*, 2006). Además, la eutrofización de las aguas puede favorecer el desarrollo de organismos transmisores o causantes de enfermedades infecciosas. Varios estudios han mostrado una relación directa entre la concentración de nutrientes en las aguas superficiales y la abundancia de mosquitos (vectores potenciales de agentes patógenos productores de enfermedades como la malaria) y la ocurrencia de brotes de cólera (Townsend *et al.*, 2003).

## Criterios de calidad del agua

Con el objetivo fundamental de prevenir el fenómeno de la eutrofización cultural en los ecosistemas acuáticos, investigadores y organismos han sugerido o establecido una serie de criterios de calidad del agua con relación a la carga de nutrientes. Dodds *et al.* (1998) han sugerido límites superiores de nitrógeno total y fósforo total, dentro de los rangos 1260-1500 µg NT/l y 71-75 µg PT/l, para prevenir el desarrollo de lagos y ríos eutróficos en regiones templadas del planeta. Swedish EPA (2000) ha considerado que niveles superiores a 440 µg NT/l y 30 µg PT/l pueden resultar en eutrofización de las zonas costeras. Similarmente, US EPA (2002, 2006) ha considerado que niveles superiores a 760 µg NT/l y 40 µg PT/l pueden resultar en eutrofización de ríos y lagos en muchas ecoregiones del país. Además, la agencia europea para el medioambiente (EEA, 2000, 2005) considera que, en general, una concentración de nitrógeno total al menos diez veces superior a la concentración de fósforo total (la cual no debería exceder el rango 10-25 µg PT/l) puede prevenir la proliferación de cianobacterias fijadoras de nitrógeno en ríos y lagos.

Para proteger a los animales acuáticos de la toxicidad de los compuestos nitrogenados (amoníaco, nitrito, nitrato), varios criterios de calidad del agua han sido propuestos y recomendados. US EPA (1999, 2006), EEA (2000, 2005), Environment Canada (2001) y Alonso (2005) han recomendado concentraciones máximas dentro del rango 0,05-0,35 mg NH<sub>3</sub>-N/l durante exposiciones de corta duración, y concentraciones máximas dentro del rango 0,004-0,02 mg NH<sub>3</sub>-N/l durante exposiciones de larga duración, para proteger a las especies más sensibles de la toxicidad del amoníaco. EEA (2000, 2005) considera que concentraciones superiores a 0,009 y 0,09 mg NO<sub>2</sub>-N/l pueden causar efectos tóxicos a las especies de salmónidos y ciprínidos más sensibles, respectivamente, durante exposiciones prolongadas a los iones nitrito. Alonso (2005) ha propuesto

recientemente concentraciones máximas dentro del rango 0,08-0,35 mg NO<sub>2</sub>-N/l para proteger a las especies más sensibles de la toxicidad de los iones nitrito durante exposiciones de corta duración. En el caso de los iones nitrato, Camargo *et al.* (2005) han propuesto un nivel máximo de 2 mg NO<sub>3</sub>-N/l para proteger a las especies más sensibles durante exposiciones prolongadas.

Por otra parte, para prevenir el desarrollo de efectos adversos, especialmente la meta-hemoglobinemia, sobre la salud humana, concentraciones máximas de 1 mg NO<sub>2</sub>-N/L y 10-11 mg NO<sub>3</sub>-N/L en el agua de bebida han sido recomendadas (WHO, 1996; EEA, 2000; US EPA, 2002, 2006). No obstante, algunos investigadores han puesto en duda la necesidad de tales niveles máximos argumentando la existencia de una escasa evidencia científica de los efectos perjudiciales y, al mismo tiempo, sugiriendo la existencia de posibles efectos beneficiosos (ver, por ejemplo, L'hirondel y L'hirondel, 2002).

En base a los criterios de calidad del agua más arriba mencionados, consideramos que unos niveles máximos de nitrógeno inorgánico disuelto dentro del rango 0,5-1,0 mg NID/l pueden ser adecuados para prevenir los procesos de acidificación y eutrofización en los ecosistemas acuáticos (al menos por nitrógeno inorgánico) y, al mismo tiempo, proteger a los animales acuáticos (y a las personas) de los efectos tóxicos de los compuestos nitrogenados (NH<sub>3</sub>+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, HNO<sub>2</sub>+NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Incluso si el máximo nivel propuesto de NID fuera debido únicamente a la disociación de HNO<sub>3</sub> en NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y H<sup>+</sup>, no se deberían alcanzar valores bajos de pH que fueran perjudiciales para los organismos acuáticos. Además, en ausencia del proceso de eutrofización, las aguas superficiales suelen presentar concentraciones relativamente elevadas de oxígeno disuelto, la mayor parte del nitrógeno inorgánico estando por tanto en forma de nitrato (menos tóxico que otras formas de nitrógeno). Como las emisiones antropogénicas de nitrógeno orgánico y nitrógeno particulado también pueden contribuir a la contaminación por nitrógeno inorgánico, es plausible considerar que niveles todavía más seguros serían aquellos que hacen referencia a la carga de nitrógeno total (esto es, dentro del rango 0,5-1,0 mg NT/l).

Este rango de concentraciones puede parecer relativamente bajo con relación a las elevadas concentraciones de compuestos nitrogenados que habitualmente se encuentran en muchos ecosistemas acuáticos. Sin embargo, no debemos olvidar, que esas concentraciones tan elevadas son en realidad una consecuencia directa de las propias actividades humanas cuyos efectos se manifiestan a diferentes escalas espaciales y temporales (ver, por ejemplo, Meybeck *et al.*, 1989; EEA, 2000, 2005; Camargo, 2006). Lógicamente, de nuestra propuesta quedarían excluidos aquellos ecosistemas que, de manera natural, presentan niveles altos de nitrógeno.

## Implicaciones del cambio climático

De todo lo expuesto anteriormente se desprende que la contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos genera serios problemas medioambientales. En consecuencia, para evitar o reducir en lo posible el desarrollo de tales problemas, las actividades humanas deberían disminuir drásticamente sus emisiones de nitrógeno al medio ambiente. De lo contrario, los efectos ecológicos y toxicológicos asociados a este tipo de contaminación pueden agudizarse, sobre todo bajo las condiciones ambientales derivadas del cambio climático en curso (UNEP-WMO, 2001).

Un aumento de las temperaturas ambientales y una disminución de las precipitaciones en las regiones continentales previsiblemente más afectadas (por ejemplo, el sur de España) pueden potenciar los procesos de toxicidad en los animales acuáticos. Por un lado, debido a una mayor concentración de los compuestos nitrogenados en el medio acuático continental como resultado de una menor dilución por la disminución de los recursos hídricos. Por otro lado, debido a un incremento en el metabolismo de los animales ectotermos como resultado del aumento en la temperatura del agua. Diversos estudios indican que incrementos en el metabolismo de los peces e invertebrados pueden inducir aumentos en la absorción de amoníaco, nitrito y nitrato (Camargo *et al.*, 2005; Camargo y Alonso, 2006). No obstante, adaptaciones a concentraciones más elevadas de compuestos nitrogenados podrían ocurrir en algunas especies de animales acuáticos (Camargo *et al.*, 2005; Camargo y Alonso, 2006).

Aumentos en la temperatura del agua, junto con elevadas concentraciones de nutrientes, también pueden estimular e intensificar el desarrollo, mantenimiento y proliferación de los productores primarios, con el resultado previsible de una mayor ocurrencia de los procesos de eutrofización y de una mayor abundancia de algas tóxicas (Wetzel, 2001; Smith, 2003). Por ejemplo, una temperatura del agua relativamente elevada y altas concentraciones de nutrientes pueden favorecer la proliferación y predominancia de las cianofíceas en la comunidad fitoplanctónica y, en algunos casos, de poblaciones productoras de cianotoxinas (Hitzfeld *et al.*, 2000; Chorus, 2001).

## Referencias

- Adams , N.G., Lesoing, M. y Trainer, V.L. 2000. Environmental conditions associated with domoic acid in razor clams on the Washington coast. *J. Shell. Res.* 19: 1007-1015.
- Alonso, A. 2005. *Valoración de la degradación ambiental y efectos ecotoxicológicos sobre la comunidad de macroinvertebrados bentónicos en la cabecera del río Henares*. Tesis Doctoral, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares (Madrid), España.
- Anderson , D.M., Glibert, P.M. y Burkholder, J.M. 2002. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries* 25: 704-726.
- Baker, L.A. , Herlihy, A.T., Kaufmann, P.R. y Eilers, J.M. 1991. Acidic lakes and streams in the : the role of acidic deposition. *Science* 252: 1151-1154.
- Busse, L.B., Venrick, E.L., Antrobus, R., Miller, P.E., Vigilant, V., Silver, M.W., Mengelt, C., Mydiarz, L. y Prezelin, B.B. 2006. Domoic acid in phytoplankton and fish in San Diego, CA, . *Harmful Algae* 5: 91-101.
- Camargo, J.A. (editor) 2006. *Ecología y conservación del río Henares y sus tributarios*. CERSA Ediciones, Madrid, España.
- Camargo, J.A., Alonso, A. y Salamanca, A. 2005. Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. *Chemosphere* 58: 1255-1267.
- Camargo, J.A. y Alonso, A. 2006. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. *Environment International* 32: 831-849.
- Chorus, I. (editor) 2001. *Cyanotoxins: occurrence, causes, consequences*. Springer, Berlin, .
- Dangles, O., Gessner, M.O., Guérol, F. y Chauvet, E. 2004. Impacts of stream acidification on litter breakdown: implications for assessing ecosystem functioning. *J. Appl. Ecol.* 41: 365-378.
- Dodds, W.K., Jones, J.R. y Welch, E.B. 1998. Suggested classification of stream trophic state: distributions of temperate stream types by chlorophyll, total nitrogen, and phosphorus. *Water Res.* 32: 1455-1462.
- EEA. 2000. *Nutrients in European ecosystems*. Environmental Assessment Report No 4. European Environment Agency, Copenhagen, .
- EEA. 2005. *Source apportionment of nitrogen and phosphorus inputs into the aquatic environment*. Environmental Assessment Report No 7. European Environment Agency, Copenhagen, .
- Environment . 2001. *Priority substances assessment report: ammonia in the aquatic environment*. Minister of Public Works and Government Services, Ottawa, .
- Fwetrell, L. 2004. Drinking-water nitrate, methemoglobinemia, and global burden of disease: a discussion. *Environ. Health Perspect.* 112: 1371-1374.
- Graham, J.L., Jones, J.R., Jones, S.B., Downing, J.A. y Clevenger, T.E. 2004. Environmental factors influencing microcystin distribution and concentration in the Midwestern United States. *Water Res.* 38: 4395-4404.
- Hitzfeld, B.C., Hoger, S.J. y Dietrich, D.R. 2000. Cyanobacterial toxins: removal during water treatment, and human risk assessment. *Environ. Health Perspect.* 108: 113-122.
- Jensen, F.B. 2003. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. *Comp. Biochem. Physiol.* 135A: 9-24.
- Kopáček, J., Ulrich, K.-U., Hejzlar, J., Borovec, J. y Stuchlík, E. 2001. Natural inactivation of phosphorus by aluminum in atmospherically acidified water bodies. *Water Res.* 35: 3783-3790.
- Landsberg, J.H. 2002. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. *Rev. Fish Sci.* 10: 113-390.

- L'hirondel, J. y L'hirondel, J.-L. 2002. *Nitrate and man: toxic, harmless or beneficial?* CABI Publishing, New York, .
- Manahan, SE. 1992. *Toxicological chemistry, 2<sup>nd</sup> edition*. Lewis Publishers, Boca Raton (FL), .
- Nelson, W.O. y Campbell, P.G.C. 1991. The effects of acidification on the geochemistry of Al, Cd, Pb and Hg in freshwater environments: a literature review. *Environ. Pollut.* 71: 91-130.
- Meybeck, M., Chapman, D.V. y Helmer, R. 1989. *Global freshwater quality: a first assessment*. WHO-UN Environmental Program, Blackwell, Oxford, .
- Rudd, J.W.M., Kelly, , Schindler, D.W. y Turner, M.A. 1988. Disruption of the nitrogen cycle in acidified lakes. *Science* 240: 1515-1517.
- Russo, R.C. 1985. Ammonia, nitrite and nitrate. En: *Fundamentals of aquatic toxicology*: (editores Rand, G.M. y Petrocelli, S.R.), pp. 455-471, Hemisphere Publishing Corporation, Washington DC, .
- Schindler, D.W. 1988. Effects of acid rain on freshwater ecosystems. *Science* 239: 149-157.
- Sellner, K.G. 1997. Physiology, ecology, and toxic properties of marine cyanobacteria blooms. *Limnol. Oceanogr.* 42: 1089-1104.
- Skjelkvale, B.L., Stoddard, J.L. y Andersen, T. 2001. Trends in surface water acidification in Europe and North America (1989-1998). *Water Air Soil Pollut.* 130: 787-792.
- Smith, V.H. 2003. Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems: a global problem. *Environ. Sci. Pollut. R.* 10: 126-139.
- Sparling D.W., Linder, G. y Bishop, (editores) 2000. *Ecotoxicology of amphibians and reptiles*. Society of Environmental Toxicology & Chemistry, Pensacola, .
- Swedish EPA. 2000. *Environmental quality criteria: coasts and seas*. Swedish Environmental Protection Agency, Stockholm, .
- Townsend, A.R., Howarth, R.W., Bazzaz, F.A., Booth, M.S., Cleveland, C.C., Collinge, S.K., Dobson, A.P., Epstein, P.R., Holland, E.A., Keeney, D.R., Mallin, M.A., Rogers, C.A., Wayne, P. y Wolfe, A.H. 2003. Human health effects of a changing global nitrogen cycle. *Front. Ecol. Environ.* 1: 240-246.
- UNEP-WMO. 2001. *Climate change: impacts, adaptation and vulnerability*. United Nations Environment Programme-World Meteorological Organization, New York, .
- EPA. 1999. *Update of ambient water quality criteria for ammonia*. US Environmental Protection Agency, Washington, DC, .
- EPA. 2002. <http://www.epa.gov/waterscience/criteria/nutrient/guidance/index.html>.
- EPA. 2006. *National recommended water quality criteria*. US Environmental Protection Agency, Washington, DC, .
- Van Dolah, F.M. 2000. Marine algal toxins: origins, health effects, and their increased occurrence. *Environ. Health Perspect.* 108: 133-141.
- Wetzel, R.G. 2001. *Limnology, 3<sup>rd</sup> edition*. Academic Press, New York, .
- WHO. 1996. *Guidelines for drinking-water quality: health criteria and other supporting information*. World Health Organization, Geneva, .