
Conselleria de Agricultura, Desarrollo Rural, Emergencia Climática y Transición Ecológica



Universidad Miguel Hernández de Elche



Informe

Convenio entre la GVA y la UMH

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN APLICADA A RECURSOS
HÍDRICOS EN LA COMUNITAT VALENCIANA**

2020

Equipo de investigación

Coordinador de la investigación: Jose Navarro Pedreño

Miembros participantes:

Acción 1: “Calidad de las aguas de las redes de drenaje agrícola del sur de la Comunidad Valenciana”

Coordina esta acción: María Belén Almendro Candel

Colaboran: Ignacio Gómez Lucas, Manuel Miguel Jordán Vidal, , Ignacio Meléndez Pastor.

Centro: Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente

Personal contratado con cargo al proyecto para la acción 1: Claudia Gallego Moreno

Acción 2. “Evaluación de la presencia de SARS-CoV-2 en aguas residuales, regeneradas y drenajes”.

Coordina esta acción. Luis Pérez García-Estañ

Colaboran: María Belén Almendro Candel, María del Mar Ortega-Villaizán Romo, Juan Antonio Reig Maciá, Antonio José Martínez Murcia, Felix Gutiérrez Rodero

Centros participantes: Instituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche, Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Producción Vegetal y Microbiología, Departamento de Medicina Clínica.

Personal contratado con cargo al proyecto en la acción 2: Verónica Chico Gras, María Remedios Torres Montero

La realización de esta investigación no habría sido posible si no se contara con la colaboración y apoyo técnico del Excmo. Ayuntamiento de Elche y la empresa Aigües i Sanejament d’Elx - Hidraqua

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.	4
2. ACCIÓN 1: AZARBES	6
3. RESULTADOS DE LA ACCIÓN 1.	9
4. ACCIÓN 2: COVID.	20
5. RESULTADOS DE LA ACCIÓN 2.	25
6. CONCLUSIONES.	33
BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA.	34

1. Introducción.

La presente investigación continua con la línea de trabajo iniciada en el año 2016 y cuya financiación en esta primera etapa concluyó en 2018 en el caso de la Universidad Miguel Hernández de Elche, sobre los recursos hídricos del sur de la Comunitat Valenciana.

El objetivo general inicial de esta serie de investigaciones fue el de valorar la calidad de los efluentes que vierten sus aguas en el sur de la Comunitat Valenciana, que pueden afectar a zonas costeras de gran valor ambiental, económico y social, especialmente las áreas litorales de Santa Pola, Elche y Guardamar del Segura, así como Torreveja, Orihuela y Pilar de la Horadada.

A esta finalidad, dada la situación de emergencia sanitaria provocada por la pandemia derivada del virus SARS-CoV-2, el equipo investigador se diversifica y se añade la investigación que tiene como objetivo detectar la presencia de este virus en aguas residuales y regeneradas, junto a las aguas de drenajes. Esta presencia puede servir de indicador para prever la posible situación de infección en la población y ayudar para el control de la pandemia.

1.1. Acción 1.

En el primer caso, la investigación se enmarca en la **ACCIÓN 1** que estudia los efluentes vertidos a través de la red de drenaje situada en las comarcas valencianas de la Vega Baja del Segura y el Baix Vinalopó, que tienen como principal origen la actividad agrícola, siendo sobrantes de riego, pero también se unen aportes y escorrentías debidos a otras actividades, especialmente asociadas a la ocupación urbana y los servicios.

Los trabajos preliminares realizados a lo largo de los años 2016, 2017 y 2018 gracias a la CONSELLERIA DE AGRICULTURA, MEDIO AMBIENTE, CAMBIO CLIMÁTICO Y DESARROLLO RURAL, hoy día CONSELLERIA DE AGRICULTURA, DESARROLLO RURAL, EMERGENCIA CLIMÁTICA Y TRANSICIÓN ECOLÓGICA, han aportado un conocimiento básico sobre las aguas de los azarbes y su calidad, que se refuerzan con estos nuevos datos correspondientes al año 2020.

Así se abordan los dos principales objetivos, evaluar la calidad de las aguas (salinidad) y la presencia de contaminantes que pueden desencadenar procesos no deseables, como una explosión biológica y posterior anoxia en las zonas costeras.

1.2. Acción 2.

En el segundo caso, es la **ACCIÓN 2** la que se centra en el análisis de las aguas residuales brutas y tratadas, así como las de los azarbes, buscando detectar la presencia de restos genéticos del virus SARS-CoV-2. Para esta acción, ha sido necesario incorporar al equipo de trabajo a un grupo de investigadores especialistas en virus, concretamente en virus de sistemas acuáticos del Instituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche (IDiBE), así como a especialistas en el uso de la metodología analítica PCR y del campo de la epidemiología.

Dada la novedosa aplicación de las técnicas de detección de restos genéticos del SARS-CoV-2 en las aguas, esta parte de la investigación se ha centrado en el estudio de una metodología óptima para detectar la presencia, más que en aspectos relacionados a la determinación cuantitativa de las concentraciones de materiales genéticos del virus en las aguas o a la epidemiología y modelización de la pandemia, cuestiones que previsiblemente podrían realizar si se dispone de un volumen importante de datos procedentes de los resultados analíticos.

Por tanto, este convenio se centró en dos grandes retos, el primero el estudio de los azarbes y la calidad de sus aguas, especialmente interesante tras las inundaciones acaecidas en el año 2019 y que afectaron notablemente al sur de la Comunitat Valenciana, y el segundo, en la detección de la presencia de restos genéticos asociados a la COVID-19 que pudiera ayudar al control y estudio de la pandemia que padecemos en la actualidad.

2. Acción 1: Azarbes.

La agricultura es, con carácter general, la principal actividad asociada a la contaminación difusa del medio ambiente. Como indica la Agencia Europea de Medio Ambiente (2017), la contaminación difusa puede ser causada por una variedad de actividades que no tienen un punto de descarga de contaminantes específico. La agricultura es fuente de contaminación difusa, pero las zonas urbanas, la silvicultura, la deposición atmosférica, las viviendas rurales, y otras actividades localizadas en el medio rural también pueden ser fuentes importantes de contaminación.

Los sistemas de drenaje de zonas agrícolas, en alguna medida, actúan como receptores de los contaminantes y canalizadores de los mismos. En el caso de la contaminación puntual, se sabe concretamente la zona de descarga del contaminante al medio. Sin embargo, la densa red de drenaje que canaliza las descargas difusas hacia los azarbes de las comarcas del Bajo Segura y del Baix Vinalopó dificulta la labor de establecer, para los distintos tipos de contaminantes, un foco puntual de origen. No obstante, sí que se conoce, por la confluencia de la red de drenaje, los dos puntos finales de descargas de contaminación que afectan a las aguas costeras, en las desembocaduras del río Segura y del Vinalopó.

En el caso de los azarbes del sur de la Comunidad Valenciana, la contaminación que llega de tipo difuso a sus cauces, procede de diversos espacios ocupados por actividades entre las que predomina la agricultura. La red de drenaje se encarga de la transformación de un sistema de contaminación difusa, a un sistema de traslado lineal de contaminantes, en el sentido de que se desarrolla o progresa a lo largo de una línea que corresponde con el trazado de los propios azarbes y su flujo, y finalmente condiciona la aparición de un foco de contaminación puntual en la zona costera.

Se produce una acumulación de flujos, de forma dendrítica, que acaba localizando en dos áreas de pequeña dimensión en la costa, toda la carga de sustancias que arrastran y evacúan las escorrentías del sur de la Comunitat. No debemos olvidar que con relación al río Segura, esta carga también puede proceder de la comunidad autónoma de la Región de Murcia.

Conocer la calidad de las aguas, permite saber el estado de estos posibles recursos y los efectos que podrían desencadenar en su vertido al mar (EPA, 2001). En la actual situación, se debe contemplar como posibilidad la reutilización de recursos hídricos de muy diverso origen entre los que se deben incluir las aguas de escorrentías y drenajes. Tras los acontecimientos constatados en el Mar Menor y sus graves problemas de eutrofización, saber la calidad del agua vertida en las costas se convierte un tema prioritario.

El funcionamiento del sistema agrícola del sur de la Comunitat es un tanto complejo, porque se tiene que mantener un equilibrio entre la calidad de las aguas vertidas, el lavado de suelos (sales y otros), el mantenimiento de caudales de evacuación de sustancias (contaminantes) y la necesidad de emplear al máximo y mejorar los escasos recursos disponibles.

La situación del área de estudio está delimitada por la costa del sur de la Comunitat Valenciana, entre el Cabo de l'Aljub (Santa Pola) y al sur por el Cabo Cervera (Torrevieja). La ocupan los tramos finales de las cuencas de los ríos Segura y Vinalopó, sobre suelos aluviales y con un relieve llano (figura 1).

El conjunto de azarbes estudiados tiene caudales sujetos a variaciones estacionales, a los riegos y la climatología de la zona, fundamentalmente significativos son los eventos de fuertes

precipitaciones. Analizar la calidad del agua se convierte en la herramienta óptima para poder determinar tratamientos, gestión y uso adecuado de estos recursos hídricos. La localización geográfica y la influencia del entorno (actividades antrópicas) son factores que condicionan esta calidad.



Figura 1. Localización de los puntos de muestreo a lo largo de los principales azarbes estudiados que desembocan en la vertiente del río Vinalopó (norte) y del río Segura (sur).

Los azarbes están agrupados en dos grandes conjuntos determinados por el destino de sus efluentes: los azarbes asociados al Vinalopó y aquellos que aportan sus aguas en la desembocadura del río Segura.

Con relación a los primeros, los considerados en este estudio son los siguientes:

- Dalt o Cebadas
- Robatori
- Dulce
- Ancha o Ampla

Los azarbes considerados asociados al río Segura y que acompañan a este en la desembocadura artificial creada en la población de Guardamar del Segura son los siguientes:

- Convenio
- Pineda
- Mayayo
- Acierto

- Enmedio
- Culebrina
- La Reina
- De la Villa
- De la Comuna

La importancia de cada uno de los azarbes es variable, puesto que algunos reciben numerosos aportes de otros azarbes menores y azarbetas, así como aguas residuales tratadas (Ancha y Convenio, figura 2), y amplían notablemente su área de influencia, frente a otros que disponen de una menor red de drenaje. Además, estas redes se entrecruzan a varios niveles, generando un entramado muy singular y complejo.

Del mismo modo, las zonas agrícolas cultivadas, las que disponen de parcelas abandonadas y las transformadas para otras actividades (residencial, industrial, recreativo), generan una situación poco uniforme en el territorio en cuanto a los usos del suelo. En estas condiciones, la calidad de las aguas de los azarbes refleja esta influencia y dinámica territorial con grandes variaciones espaciales.

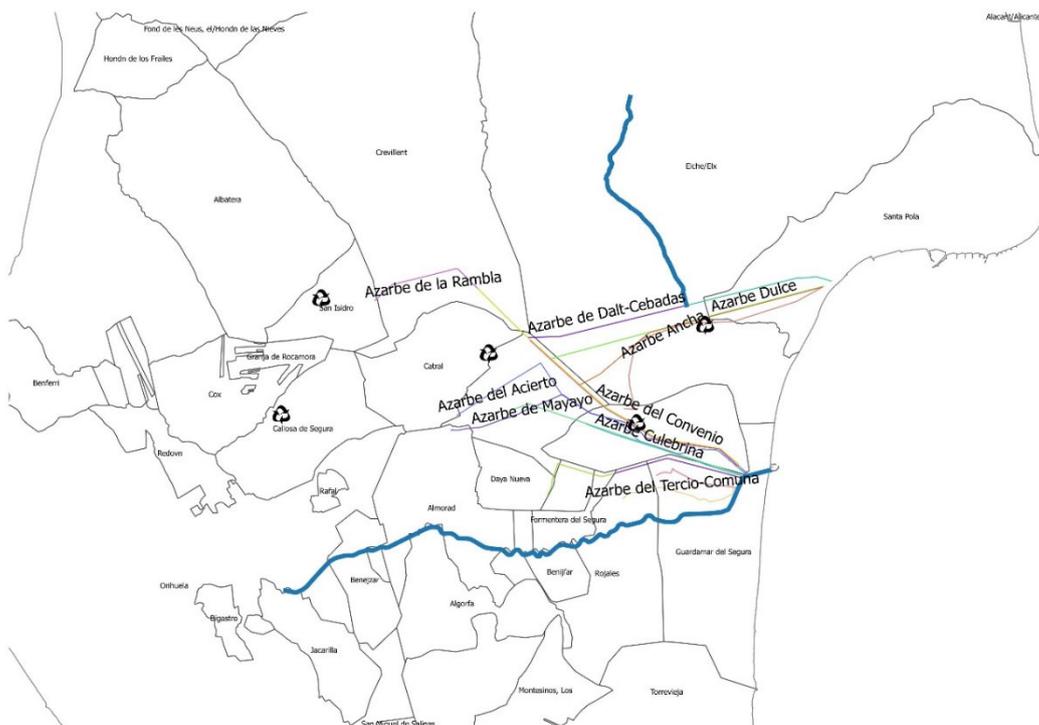


Figura 2. Depuradoras situadas en el ámbito de estudio.

3. Resultados de la acción 1.

Los resultados de este año 2020 permiten obtener una información muy relevante sobre la calidad de las aguas, comparadas con las medias del periodo 2016-18 y comprobar si se recuperan los valores del estado previo al evento de precipitaciones extraordinarias acaecido en septiembre de 2019.

Los resultados de la investigación en este apartado, se centran en los valores determinados en los muestreos del mes de junio y el mes de septiembre, comparados con las medias del conjunto de todos los valores anteriores (2016-18) de los siguientes parámetros: pH, salinidad de las aguas (conductividad eléctrica a 25°C y cloruro, y oxigenación (oxígeno disuelto), nutrientes de origen agrícola (formas nitrogenadas y fosfato), presencia de boro en las aguas, análisis de contaminantes (DDT y derivados, y glifosato). Todos ellos determinados siguiendo las normas estándar (APHA, AWWA, WEF, 2012) y los test inmunológicos homologados de Eurofins-Abraxis para los dos pesticidas (test ELISA).

En la figura 1, mostrada con anterioridad, se señala la localización de los puntos de muestreo de aguas (puntos de color naranja), donde se tomaban cuatro alícuotas para formar una muestra compuesta en los meses de junio y de septiembre de 2020.

3.1. pH.

Los valores de pH encontrados en los azarbes (tabla 1) son muy similares entre todos ellos. Se sitúan en la horquilla de 7,7 y 8,1 unidades de pH, ligeramente básico. Vertidos ocasionales podrían modificar puntualmente este parámetro. Son escasa las diferencias en los valores obtenidos entre los azarbes. En líneas generales, tanto en el muestreo previo a la época estival como en el realizado un mes de septiembre, los valores de pH se sitúan en la misma línea que los datos medios obtenidos para todos ellos en los estudios realizados en los años anteriores.

Tabla 1. pH (uds. de pH) a 20°C.

Punto de muestreo	Valor medio 2016-18	SD	18/06/20	SD	23/09/20	SD
Desembocadura Vinalopó	8,0	0,2	8,2	0,0	8,1	0,0
Azarbe de Dalt	7,9	0,2	7,7	0,0	7,8	0,0
Azarbe del Robatori	7,8	0,2	7,8	0,0	7,9	0,0
Azarbe Dulce	7,9	0,2	7,8	0,0	8,1	0,0
Azarbe Ancha	7,8	0,2	7,9	0,0	7,8	0,0
Azarbe del Convenio	7,9	0,2	7,7	0,0	7,6	0,0
Azarbe de Pineda	7,9	0,1	8,1	0,0	7,9	0,0
Azarbe Mayayo	8,0	0,2	8,1	0,0	8,1	0,0
Azarbe del Acierto	7,8	0,2	7,7	0,0	7,7	0,0
Azarbe de Enmedio	8,0	0,2	7,8	0,0	7,9	0,0
Azarbe Culebrina	7,9	0,1	7,7	0,0	8,0	0,0
Azarbe de la Reina	8,1	0,2	7,9	0,0	8,0	0,0
Azarbe de la Villa	8,0	0,2	7,9	0,0	7,9	0,0
Azarbe de la Comuna	7,9	0,2	7,7	0,0	7,9	0,0
Azud San Antonio	8,0	0,1	8,0	0,0	7,9	0,0

3.2. Salinidad: conductividad eléctrica.

Con relación a la salinidad, determinada en función de la conductividad eléctrica a 25°C, destacan, sobre todo, el conjunto de azarbes de la vertiente del río Vinalopó como más salinos,

exceptuando el Dulce. Los valores son superiores a los obtenidos en los azarbes de la vertiente del Segura.

Por encima de todos los estudiados, destaca el río Vinalopó por su salinidad, como es habitual y así se ha comprobado en estudios previos (Torrijos, 2015), pero también los valores medios del azarbe de Dalt y Ancha (ver tabla 2). En el caso de la vertiente del Segura, es el del Convenio el que da valores muy parejos a los de los azarbes mencionados en el caso del Vinalopó, siendo el más salino. Este, junto con los anteriores, atraviesan zonas donde los suelos poseen mayores concentraciones de sales, próximos a los embalses de El Hondo (Meléndez et al., 2010) y es previsible que haya importantes aportes de sales solubles procedentes de los suelos. En líneas generales, se observa una menor salinidad en las aguas en el año 2020 que la media de los anteriores con la excepción del río Vinalopó, que puede deberse a varios factores. Puede influir una disminución del riego y por tanto del lavado de sales o puede influir el uso de agua de buena calidad para el riego y las precipitaciones, acabando una buena parte del agua de mejor calidad en los azarbes, con menor carga de sales. Es probable que, tras las precipitaciones e inundaciones acaecidas en el año anterior, en 2019, los suelos hayan disminuido su contenido en sales por un intenso lavado.

Tabla 2. Conductividad eléctrica (mS/cm) a 25°C.

Punto de muestreo	Valor medio 2016-18	SD	18/06/20	SD	23/09/20	SD
Desembocadura Vinalopó	15,5	3,5	18,9	0,1	18,4	0,0
Azarbe de Dalt	12,8	3,4	9,9	0,0	4,3	0,1
Azarbe del Robatori	9,1	3,2	6,0	0,1	6,8	0,0
Azarbe Dulce	3,1	0,5	3,9	0,0	2,8	0,0
Azarbe Ancha	11,0	2,0	9,3	0,1	10,1	0,1
Azarbe del Convenio	10,8	1,1	9,1	0,1	6,7	0,0
Azarbe de Pineda	7,1	2,2	5,1	0,0	4,2	0,0
Azarbe Mayayo	6,2	2,8	3,6	0,0	2,8	0,0
Azarbe del Acierto	5,7	1,6	4,7	0,1	4,1	0,0
Azarbe de Enmedio	4,8	1,1	4,8	0,0	3,3	0,0
Azarbe Culebrina	4,7	1,0	4,4	0,0	2,6	0,0
Azarbe de la Reina	3,7	0,8	3,6	0,0	2,4	0,0
Azarbe de la Villa	4,0	0,9	3,7	0,0	2,9	0,0
Azarbe de la Comuna	3,8	0,9	4,2	0,0	2,7	0,0
Azud San Antonio	3,3	0,8	3,5	0,0	2,5	0,0

3.3. Cloruros.

Los datos del contenido en este anión son conformes con lo observado en el caso de la salinidad de las aguas. Es decir, se comportan de manera similar a los valores de conductividad eléctrica analizados (tabla 3).

De esta manera, se corrobora el comportamiento detectado en el anterior parámetro y la diferencia entre los azarbes que van a las distintas desembocaduras.

Destaca, al igual que en la conductividad eléctrica, la fuerte presencia de cloruros en las aguas del río Vinalopó, aunque esta y el resto de los valores se pueden considerar dentro de la variabilidad obtenida en los estudios precedentes.

Tabla 3. Cloruros (mg/l).

Punto de muestreo	Valor medio 2016-18	SD	18/06/20	SD	23/09/20	SD
Desembocadura Vinalopó	4648	1279	5984	15	5730	0
Azarbe de Dalt	2996	966	2169	15	821	27
Azarbe del Robatori	1952	815	1168	12	1362	0
Azarbe Dulce	647	173	824	6	491	12
Azarbe Ancha	2520	559	2049	0	2210	6
Azarbe del Convenio	2484	315	1957	6	1405	0
Azarbe de Pineda	1485	595	937	6	767	12
Azarbe Mayayo	1276	757	597	6	439	12
Azarbe del Acierto	1059	336	807	6	694	6
Azarbe de Enmedio	874	277	807	6	524	6
Azarbe Culebrina	831	239	719	6	394	6
Azarbe de la Reina	633	160	558	12	368	6
Azarbe de la Villa	669	185	575	0	498	6
Azarbe de la Comuna	648	200	667	6	425	0
Azud San Antonio	560	172	549	12	377	6

3.4. Oxígeno disuelto.

El contenido de oxígeno disuelto es un parámetro relevante para estimar el estado biológico de los azarbes. Podemos considerar que valores inferiores a 3 mg/l de oxígeno disuelto, puede causar graves daños ecológicos en las zonas costeras (EPA, 1990), por tanto, que los azarbes dispongan de valores superiores de forma general, es un factor positivo. El rango habitual de valores se sitúa entre 5 y 7 mg/l de oxígeno.

Los valores obtenidos en el año 2020 son ligeramente inferiores a los valores medios en el muestreo de septiembre, tras el estiaje, no así en el caso de las muestras de junio. No obstante, los valores entran aproximadamente dentro del rango de variación, tal y como se aprecia en la tabla 4.

Tabla 4. Oxígeno disuelto (mg/l) a 20°C.

Punto de muestreo	Valor medio 2016-18	SD	18/06/20	SD	23/09/20	SD
Desembocadura Vinalopó	6,5	1,2	6,8	0,2	5,9	0,1
Azarbe de Dalt	5,4	1,6	6,1	0,1	4,8	0,1
Azarbe del Robatori	6,5	1,3	6,4	0,1	5,7	0,1
Azarbe Dulce	6,4	1,2	6,4	0,1	5,5	0,1
Azarbe Ancha	6,6	1,4	6,7	0,0	5,1	0,1
Azarbe del Convenio	6,7	0,8	6,6	0,1	5,1	0,1
Azarbe de Pineda	6,8	1,1	7,3	0,0	5,0	0,1
Azarbe Mayayo	7,4	1,1	6,9	0,1	5,5	0,0
Azarbe del Acierto	6,3	0,8	6,3	0,1	5,2	0,1
Azarbe de Enmedio	6,7	1,3	6,4	0,1	5,1	0,0
Azarbe Culebrina	6,1	0,7	6,3	0,1	5,3	0,1
Azarbe de la Reina	6,4	0,9	6,4	0,1	5,4	0,1
Azarbe de la Villa	6,3	0,7	6,5	0,1	5,2	0,1
Azarbe de la Comuna	6,0	1,0	6,3	0,1	5,2	0,1
Azud San Antonio	6,4	0,8	6,2	0,1	5,3	0,1

3.5. Sólidos en suspensión.

La presencia de sólidos en suspensión (SS) en las aguas se puede asociar a la turbidez y la presencia de partículas y sedimentos transportados por los azarbes que después, pueden ser descargados en las zonas costeras.

En este caso y como aspecto negativo, destaca por encima de todos, el azarbe de Pineda (de la Pineda), tanto en sus valores medios como en los determinados en el año 2020.

Para establecer algún tipo de comparación de los valores de sólidos en suspensión en estas aguas y en las destinadas al riego agrícola, se puede recurrir a lo previsto en el RD 1620/2007. En este, se indica que los sólidos en suspensión expresados en mg/l, tienen unos límites para el uso del agua para riego de 20 mg/l para cultivos de tipo A (productos de consumo humano fresco) y de 35 mg/l para cultivos de tipo B (para consumo humano no fresco, consumo de animales productores y acuicultura). Estos valores se superan como en valor medio en todos, y en muchos también el valor de 35 mg/l.

Tabla 5. Sólidos en suspensión (mg/l).

Punto de muestreo	Valor medio 2016-18	SD	18/06/20	SD	23/09/20	SD
Desembocadura Vinalopó	24	13	98	0	108	2
Azarbe de Dalt	35	19	56	2	23	4
Azarbe del Robatori	48	33	57	3	89	3
Azarbe Dulce	35	42	62	0	55	3
Azarbe Ancha	34	14	73	4	77	6
Azarbe del Convenio	46	28	108	7	57	5
Azarbe de Pineda	104	57	122	1	106	1
Azarbe Mayayo	32	17	35	3	12	3
Azarbe del Acierto	39	14	70	2	62	13
Azarbe de Enmedio	46	18	136	0	49	4
Azarbe Culebrina	37	19	63	3	23	4
Azarbe de la Reina	32	25	26	0	32	0
Azarbe de la Villa	29	15	48	2	60	2
Azarbe de la Comuna	24	18	58	8	43	17
Azud San Antonio	52	68	61	2	91	7

3.6. Formas nitrogenadas.

La presencia de nitrógeno, especialmente de nitratos en las aguas, es uno de los factores más importantes en cuanto al aporte de nutrientes y sus efectos en el medio ambiente. Es conocido el fenómeno de la eutrofización de las aguas por un exceso de nutrientes y la posterior explosión biológica puede provocar anoxia y la mortandad de especies acuícolas.

Sin embargo, conviene destacar que los valores medios de nitratos obtenidos para estos azarbes no superan los 50 mg/l, por debajo de los límites máximos permitidos en aguas de consumo (RD 140/2003 y 902/2018). De todas formas, puntualmente se superan estos valores en algunos de los azarbes, especialmente los que confluyen en el río Segura (tabla 6).

En líneas generales, se puede indicar en cuanto a la calidad de las aguas, que la concentración de nitratos es superior en los azarbes del ámbito del río Segura que en los correspondientes al río Vinalopó y, por tanto, las descargas de este nutriente en las zonas costeras pueden ser más importantes en Guardamar del Segura que en Santa Pola.

Tabla 6. Formas nitrogenadas (mg/l).

Punto de muestreo	Valor medio 2016-18	SD	18/06/20	SD	23/09/20	SD
Nitratos						
Desembocadura Vinalopó	33,5	14,9	35,6	0,2	35,0	0,1
Azarbe de Dalt	14,2	10,7	19,2	0,0	29,4	0,3
Azarbe del Robatori	22,5	13,0	16,5	0,0	13,9	0,3
Azarbe Dulce	18,0	12,5	34,0	0,3	23,9	0,4
Azarbe Ancha	20,1	15,5	17,5	0,2	14,7	0,3
Azarbe del Convenio	41,9	5,4	38,9	0,3	36,8	0,6
Azarbe de Pineda	22,9	14,9	4,8	0,0	19,0	0,1
Azarbe Mayayo	23,2	21,5	12,8	0,1	23,8	0,6
Azarbe del Acierto	39,3	18,2	23,8	0,0	33,4	0,1
Azarbe de Enmedio	33,3	18,5	36,2	0,1	26,7	0,1
Azarbe Culebrina	45,1	16,7	37,6	0,3	23,2	0,2
Azarbe de la Reina	34,6	10,5	31,5	0,1	23,1	0,2
Azarbe de la Villa	42,3	14,1	32,9	0,2	27,2	0,1
Azarbe de la Comuna	38,1	18,2	39,6	0,2	21,2	0,0
Azud San Antonio	24,3	12,0	24,4	0,4	23,4	0,0
Nitritos						
Desembocadura Vinalopó	1,3	2,1	0,6	0,0	0,2	0,0
Azarbe de Dalt	0,3	0,3	0,2	0,0	0,8	0,0
Azarbe del Robatori	0,3	0,2	0,4	0,0	0,2	0,0
Azarbe Dulce	0,3	0,2	0,1	0,0	0,1	0,0
Azarbe Ancha	0,3	0,2	0,3	0,0	0,4	0,0
Azarbe del Convenio	0,3	0,1	0,4	0,0	0,3	0,0
Azarbe de Pineda	0,4	0,2	0,2	0,0	0,5	0,0
Azarbe Mayayo	0,4	0,3	0,4	0,0	0,4	0,0
Azarbe del Acierto	0,7	0,4	0,4	0,0	0,3	0,0
Azarbe de Enmedio	0,7	0,4	0,8	0,0	0,4	0,0
Azarbe Culebrina	0,8	0,4	0,6	0,0	0,4	0,0
Azarbe de la Reina	0,7	0,5	0,6	0,0	0,4	0,0
Azarbe de la Villa	0,8	0,4	0,5	0,0	0,5	0,0
Azarbe de la Comuna	0,8	0,4	0,5	0,0	0,6	0,0
Azud San Antonio	0,7	0,6	0,4	0,0	0,7	0,0
Amonio						
Desembocadura Vinalopó	0,7	1,8	0,2	0,0	0,0	0,0
Azarbe de Dalt	0,4	0,5	0,0	0,0	0,1	0,0
Azarbe del Robatori	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
Azarbe Dulce	0,2	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0
Azarbe Ancha	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
Azarbe del Convenio	0,2	0,2	0,0	0,0	0,1	0,0
Azarbe de Pineda	0,2	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0
Azarbe Mayayo	0,2	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
Azarbe del Acierto	0,7	0,9	0,3	0,0	0,0	0,0
Azarbe de Enmedio	0,2	0,2	0,5	0,1	0,0	0,0
Azarbe Culebrina	0,6	0,4	0,4	0,0	0,0	0,0
Azarbe de la Reina	0,3	0,3	0,3	0,1	0,0	0,0
Azarbe de la Villa	0,4	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0
Azarbe de la Comuna	0,5	0,3	0,2	0,0	0,2	0,0
Azud San Antonio	0,3	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0

Ciñéndonos estrictamente a criterios de calidad de agua para riego dados por la FAO (Ayers y Westcot, 1985), el valor del contenido en nitratos de los azarbes del Segura se aproxima al valor establecido por estos autores para aguas con grado de restricción en el uso para riego “ligero o moderado” (comprendido entre 5 y 30 mg/l expresado como N, contenido en forma de nitrato).

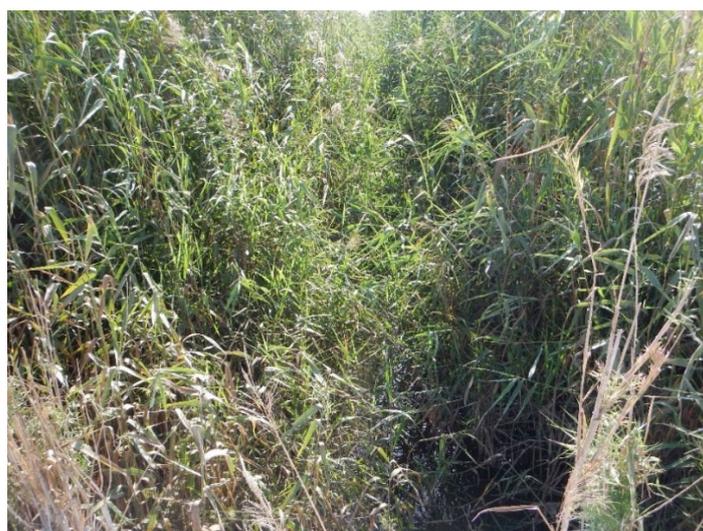
La presencia de nitrógeno en forma de nitritos es más inestable que las otras dos formas inorgánicas estudiadas, pero tiene reconocidos efectos tóxicos, especialmente en mamíferos, y al igual que en el caso del nitrato, puede ser precursor de sustancias cancerígenas como las nitrosaminas (Junta de Andalucía, 2017). Sin embargo, las concentraciones detectadas generalmente son bajas, aunque en el caso del río Vinalopó se han detectado en años anteriores valores superiores a 1 mg/l.

En el caso del amonio, la presencia en aguas marinas puede provocar efectos tóxicos en larvas marinas, más que estimular el crecimiento algal. La presencia de amonio en concentraciones de 10 μ M (aproximadamente 0,2 mg/l), puede ser tóxica para las larvas marinas, especialmente para los moluscos (EPA, 2001). Por estas razones comentadas, debemos entender el potencial efecto negativo de los nutrientes en las costas y los niveles mayores de amonio tras las lluvias torrenciales encontrados en los azarbes de la vertiente del Segura. La concentración de amonio en las aguas es particularmente baja, se aprecia especialmente en los datos obtenidos en el año 2020. Como en el caso anterior, destaca como aspecto negativo la mayor concentración promedio del río Vinalopó.

3.7. Fosfatos.

El fósforo es otro de los nutrientes que ejercen un control muy relevante en la biología de las aguas. Al igual que el nitrógeno, puede desencadenar explosiones biológicas indeseables.

Se realizaron las mediciones de ortofosfato soluble presente en las aguas, es decir, la especie química directamente asimilable por las plantas y la principal que influye en su incorporación a las aguas marinas (Kennish, 1989), con un mayor riesgo para el medio acuático de forma inmediata.



Fotografía 1. Aspecto que presentaba el azarbe Dulce en el mes de junio.

En este caso, los valores más relevantes, en relación a la calidad de las aguas, se encontraron en el azarbe Dulce. Sin embargo, con carácter general, los azarbes asociados a la desembocadura del río Segura, aportan más fosfatos que los asociados al río Vinalopó. No obstante, este río mostró al igual que sucedía en el caso del nitrato, una concentración importante, acorde con los valores medios detectados en los años anteriores.

Tabla 7. Fosfatos (mg/l).

Punto de muestreo	Valor medio 2016-18	SD	18/06/20	SD	23/09/20	SD
Desembocadura Vinalopó	1,9	0,7	1,5	0,0	0,7	0,0
Azarbe de Dalt	0,6	0,3	0,1	0,0	0,8	0,0
Azarbe del Robatori	0,7	0,3	0,6	0,0	0,5	0,0
Azarbe Dulce	9,5	6,7	16,1	0,1	4,7	0,0
Azarbe Ancha	0,5	0,2	1,1	0,0	0,3	0,0
Azarbe del Convenio	0,9	0,2	0,5	0,0	0,9	0,0
Azarbe de Pineda	0,4	0,2	0,1	0,0	0,5	0,0
Azarbe Mayayo	0,5	0,4	0,4	0,0	0,9	0,0
Azarbe del Acierto	1,1	0,2	0,8	0,0	0,8	0,0
Azarbe de Enmedio	1,0	0,5	0,8	0,0	1,0	0,0
Azarbe Culebrina	1,4	0,3	1,1	0,0	1,6	0,0
Azarbe de la Reina	1,3	0,3	1,5	0,0	1,5	0,0
Azarbe de la Villa	1,7	0,5	1,4	0,0	2,0	0,0
Azarbe de la Comuna	2,3	0,7	1,6	0,0	2,5	0,0
Azud San Antonio	1,4	0,3	1,3	0,0	1,2	0,0

La llegada de fosfatos a las costas y estuarios genera un problema que es bien conocido, y que, junto con la llegada de nitratos, parece estar en el origen de los problemas de la laguna del Mar Menor y que podría repetirse en otras zonas de la costa. Smith y Longmore (1980) ya indicaron hace cuarenta años que los aportes de fosfatos proceden de los suelos (actividades agrícolas, la remoción del suelo, arado y volteo) y la descarga de aguas residuales. Además, apuntan que la llegada de este compuesto a los estuarios (aguas de transición) y aguas costeras podía incrementar el crecimiento del fitoplancton y las macroalgas, con efectos negativos en la pesca, las infraestructuras y las playas. Estos autores indicaron que el fosfato permanece en disolución en un amplio rango de salinidad del agua y lo asocian a la presencia de materia particulada en suspensión. Este es el caso que se da en estos azarbes, que transportan importantes cantidades de sólidos en suspensión. En la guía de calidad de aguas costeras de EPA (EPA, 2001), se indica que las partículas en suspensión pueden retener fosfato y tóxicos. Los sólidos en suspensión podrían potenciar el efecto de los fosfatos.

La agencia norteamericana para la protección del medio ambiente de EEUU (EPA, 2017) avisa en su informe “Coastal Trophic” que la presencia de nutrientes en las aguas costeras es crítica, especialmente si se trata de nitrógeno y fósforo, que influyen en el crecimiento de algas, disminuyen la transparencia de las aguas, reduce los niveles de oxígeno disuelto y pueden perjudicar a los peces y al resto de especies acuáticas. Si trasladamos estas afirmaciones a nuestras costas, las praderas costeras de posidonia oceánica podrían verse afectadas por esta situación con relación a la pérdida de transparencia de las aguas y sus efectos sobre la actividad fotosintética.

Conviene recordar que, compuestos de N y P, aparecen como sustancias contaminantes en el anexo III del R.D. 60/2011 de 21 de enero, sobre las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas.

3.8. Boro.

El Boro es un elemento esencial para las plantas, pero al mismo tiempo puede ser tóxico (Martínez et al., 1999). Se sabe que existen especies sensibles a niveles de B altos en el suelo y en el agua de riego, especialmente los cítricos (Martínez-Cuenca et al., 2015). Para muchos cultivos, es necesario que haya concentraciones de B de 0,2 mg/l en el agua de riego, pero en concentraciones mayores, entre de 1 a 2 mg/l puede ser tóxico (Ayers y Westcot, 1994). Naranja, limón o pomelo se encuentran entre los cultivos más sensibles a la tolerancia al boro en las aguas de riego, pudiendo padecer toxicidad con valores situados entre 0,3 y 1 mg/l (Texas Agricultural Extension Services, 1996).

En este año 2020, se añadió la determinación de este elemento en las aguas por la gran preocupación existente con relación a la toxicidad que pudiera ocasionar en cultivos sensibles en el caso de emplear para el riego el agua de los azarbes. En líneas generales, el análisis de boro en estas aguas de drenajes agrícolas muestra que los valores pueden considerarse elevados para el caso de cultivos sensibles, situándose por encima de 0,5 mg/l en todos los azarbes (tabla 8).

Este hecho conviene valorarlo de cara a una adecuada planificación sobre el uso de estas aguas, especialmente si se incluye la posibilidad de su reutilización directa o a través de un proceso previo de desalinización. Sería en este último caso, muy relevante determinar la concentración de boro en el agua desalinizada.

Tabla 8. Boro (mg/l).

Punto de muestreo	18/06/20	SD	23/09/20	SD
Desembocadura Vinalopó	1,1	0,0	1,2	0,0
Azarbe de Dalt	1,7	0,0	0,8	0,0
Azarbe del Robatori	1,0	0,0	1,3	0,0
Azarbe Dulce	1,1	0,0	0,6	0,0
Azarbe Ancha	1,7	0,0	1,9	0,0
Azarbe del Convenio	1,6	0,0	1,3	0,0
Azarbe de Pineda	1,0	0,0	0,8	0,0
Azarbe Mayayo	0,7	0,0	0,6	0,0
Azarbe del Acierto	0,9	0,0	0,8	0,0
Azarbe de Enmedio	0,9	0,0	0,7	0,0
Azarbe Culebrina	0,9	0,0	0,6	0,0
Azarbe de la Reina	0,8	0,0	0,6	0,0
Azarbe de la Villa	0,9	0,0	0,8	0,0
Azarbe de la Comuna	1,0	0,0	0,7	0,0
Azud San Antonio	0,8	0,0	0,6	0,0

3.9. DDT y derivados.

El insecticida (DDT) y sus derivados se encuentran en concentraciones muy bajas en las aguas analizadas. Sin embargo, detectar su presencia es una muestra de la persistencia de este contaminante en el medio, incluso transcurridos decenas de años desde la prohibición de su aplicación.

Se ha analizado la presencia de DDE/DDT, es decir el diclorodifeniltricloroetano (DDT, 1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)-etano) y su derivado el diclorodifenildicloroetileno. Su enorme persistencia en el medio contrasta con el tiempo transcurrido desde la adopción oficial el 23 de mayo de 2001 en Estocolmo (Suecia), del convenio sobre su prohibición en agricultura. Su uso extendido durante muchos años nos ha dejado su constancia en la zona del sur de la Comunitat, al ser un insecticida muy utilizado para combatir plagas, especialmente de mosquitos y otros insectos. Precisamente la persistencia en el medio ambiente de estos compuestos es una de las razones por las que en la Unión Europea quedaron prohibidos o rigurosamente restringidos (prohibidos salvo en determinados casos concretos) por el Reglamento (CE) 850/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004 y afectados por la Decisión de la Comisión de 19 de mayo de 2005 por la que se adoptan decisiones sobre la importación comunitaria de determinados productos químicos con arreglo al Reglamento (CE) 304/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, y se modifican las Decisiones 2000/657/CE, 2001/852/CE y 2003/508/CE.

Su peligrosidad está asociada al riesgo a la exposición, que ocurre principalmente al comer alimentos que contienen pequeñas cantidades de estos compuestos, especialmente carne, pescado y aves de corral. Los niveles altos de DDT pueden afectar el sistema nervioso produciendo excitabilidad, temblores y convulsiones. En mujeres, el DDE puede producir una disminución en la duración del período de lactancia y un aumento de las probabilidades de tener un bebé prematuro (Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades, 2017). Conviene recordar que la peligrosidad del DDT dio lugar a uno de los libros que más ha concienciado sobre el uso de estas sustancias peligrosas, “Primavera silenciosa”, de Rachel Carson, publicado en 1962. La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) prohibiría el DDT en 1972.

Sin embargo, dada su alta eficacia como insecticida, que contrasta con la enorme persistencia en el medio, la Organización Mundial de la Salud (OMS) utiliza este insecticida en países donde el paludismo es endémico, es parte de su programa para erradicar la malaria fumigando el interior de residencias, mosquiteras... y así, matar a los mosquitos que transmiten la malaria (OMS, 2016). El diclorodifeniltricloroetano (DDT) se continúa utilizando para la fumigación de interiores con insecticidas de acción residual, si bien en situaciones muy específicas.

Tabla 9. DDT/DDE ($\mu\text{g/l}$).

Punto de muestreo	20/06/19	SD	23/09/20	SD
Desembocadura Vinalopó	1,1	0,1	1,5	0,4
Azarbe de Dalt	1,3	0,1	1,4	0,4
Azarbe del Robatori	1,5	0,3	1,3	0,7
Azarbe Dulce	1,2	0,4	1,9	0,4
Azarbe Ancha	1,2	0,2	1,4	0,4
Azarbe del Convenio	1,4	0,0	1,2	0,4
Azarbe de Pineda	2,3	0,7	1,6	0,4
Azarbe Mayayo	1,4	0,6	1,5	0,5
Azarbe del Acierto	2,6	2,0	1,5	0,7
Azarbe de Enmedio	1,8	0,6	2,1	1,1
Azarbe Culebrina	1,6	0,6	1,6	0,5
Azarbe de la Reina	1,6	0,7	1,7	0,7
Azarbe de la Villa	2,6	1,7	1,9	0,7
Azarbe de la Comuna	1,8	0,1	1,0	0,1
Azud San Antonio	1,9	0,5	1,2	0,3

Los resultados mostrados en la tabla 9 señalan que, por los azarbes y los dos ríos, se sigue desplazando el insecticida DDT/DDE, con valores que oscilan como media entre 1 y 3 µg/L. Aunque no existen datos concretos del volumen total utilizado de DDT, sí sabemos que en la zona de la desembocadura del río Vinalopó, Carrisars d'Elx, ha sido usado hasta tiempos recientes para combatir las plagas de mosquitos al igual que la Vega Baja del Segura. Así, Alfaro et al. (2015) reseñan que la malaria (conocida también con el nombre de tercianas o calenturas) ha sido endémica en la zona hasta que el tratamiento masivo con DDT erradicó al vector (mosquitos del género *Anopheles*) y permitió que hacia 1964 se declarase erradicada localmente la enfermedad. La acumulación a lo largo de los años ha sido tal que todavía persiste en el medio y, por tanto, se seguirá detectando su presencia en las aguas.

3.10. Glifosato.

Junto al anterior plaguicida organoclorado, se ha analizado el herbicida organofosforado conocido como glifosato, de amplio uso tanto en agricultura como en zonas urbanas. Es necesario investigar este herbicida, especialmente por los últimos estudios que lo relacionan con diversas enfermedades y riesgo para el medio ambiente (Avigliano et al., 2014; Torretta et al., 2018).

Este organofosforado denominado glifosato <<2-ácido acético sal de isopropilamina de N(-fosfonometil) glicina>>, introducido en la década de los años setenta del pasado siglo, se encuentra en España en la formulación de aproximadamente 2000 productos distintos autorizados. En marzo de 2015, la Agencia para la Investigación sobre el Cáncer (IARC), dependiente de la Organización Mundial de la Salud (OMS), clasificó el glifosato como “probablemente cancerígeno para los seres humanos”. Existe en la actualidad una alta preocupación por la presencia de este herbicida en el medio y su relativa facilidad para ser transportado por las aguas.

Tabla 10. Glifosato (µg/l).

Punto de muestreo	20/06/19	SD	23/09/20	SD
Desembocadura Vinalopó	0,4	0,0	0,9	0,3
Azarbe de Dalt	1,0	0,0	0,7	0,1
Azarbe del Robatori	2,3	0,2	0,7	0,2
Azarbe Dulce	0,8	0,1	1,3	0,0
Azarbe Ancha	0,3	0,1	0,4	0,1
Azarbe del Convenio	1,3	0,1	0,3	0,1
Azarbe de Pineda	0,9	0,1	1,5	0,2
Azarbe Mayayo	3,0	0,3	1,0	0,2
Azarbe del Acierto	1,7	0,0	1,9	0,5
Azarbe de Enmedio	1,5	0,2	1,8	0,3
Azarbe Culebrina	2,0	0,0	2,1	0,1
Azarbe de la Reina	2,4	0,2	2,2	0,1
Azarbe de la Villa	2,1	0,0	2,5	0,0
Azarbe de la Comuna	1,9	0,1	2,4	0,0
Azud San Antonio	1,6	0,1	2,3	0,1

En la tabla 10 se representan los valores obtenidos para este herbicida y nos muestra que el herbicida se encuentra con mayor concentración en las aguas asociadas a los azarbes agrícolas de la Vega Baja, siendo menores los valores encontrados en la vertiente del río Vinalopó, en

líneas generales. Es posible que sea reflejo de una mayor actividad agrícola en la primera zona que en la segunda.

Las cantidades detectadas, aunque son muy bajas, si muestran ligeras diferencias entre un periodo y otro de muestreo, que puede deberse a varios factores, entre los que se encuentra los climáticos y el uso que se le da en cada temporada que dependerá de las necesidades de aplicación (eliminación de hierbas no deseadas).

4. Acción 2: COVID.

Tal como indica la Organización Mundial de la salud en su página web, a partir del 11 de marzo de 2020 y profundamente preocupada por los alarmantes niveles de propagación de la enfermedad y por su gravedad, y por los niveles también alarmantes de inacción, determina en su evaluación que la COVID-19 puede caracterizarse como una pandemia (OMS, 2020). A lo largo de los meses anteriores, hace una serie de llamamientos para la toma de medidas urgentes, indicando orientaciones y recomendaciones al ver la rápida propagación de la enfermedad. Sin embargo, no es hasta el 20 de enero de 2020 cuando se efectúa la primera misión de la OMS en el foco más importante y considerado origen de la pandemia, Wuhan (China).

A partir de este momento se desencadena una serie de actuaciones a todos los niveles y en la mayoría de los países para controlar este coronavirus de tipo SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome), destacando el impulso dado a la investigación sobre la pandemia. Dentro de las múltiples acciones de investigación, se desarrollan una serie de trabajos que tratan de la detección del virus en aguas residuales, con la idea centrada en ayudar a la detección precoz y conocer si hay vía de transmisión por las aguas.

4.1. Antecedentes y condicionantes metodológicos.

En este sentido, sin querer ser exhaustivos en cuanto a los estudios sobre la presencia de SARS-CoV-2 en aguas residuales, conviene realizar una serie de matizaciones sobre la utilidad de este método en aguas residuales y otros aspectos relacionados con este tema. Los resultados que hemos obtenido corroboran en gran medida todo lo que se indica a continuación, siendo estos estudios en buena medida paralelos a los que hemos realizado bajo el auspicio de la Generalitat Valenciana en este convenio de investigación aplicada a las aguas.

En primer lugar, los datos clínicos siguen siendo el estándar para la vigilancia y el seguimiento de enfermedades, aunque sean limitados debido a factores como el sesgo de notificación y la incapacidad de rastrear a los portadores de enfermedades asintomáticos (Thompson et al., 2020). Sin embargo, la idea de que los agentes patógenos se excretan en la orina y las heces de las personas infectadas, independientemente de la gravedad de los síntomas de la enfermedad, hace que la vigilancia y la detección en las aguas residuales sea un valioso complemento de los enfoques clínicos. El hecho de detectar SARS-CoV-2 en las aguas residuales asociadas a una población dada, ya indica la presencia del virus independientemente de que se hayan realizado o no ensayos clínicos para detectarlo en las personas. Sirve por tanto como forma de alerta.

La detección, como vemos, se basa en la presencia de restos biológicos del virus, activo o inactivo. Más concretamente, las técnicas empleadas se basan en la presencia de material genético del SARS-CoV-2. Esta presencia, como se ha indicado, está asociada a los agentes patógenos excretados por las personas afectadas, sintomáticas o no. El virus ha sido identificado en las heces y por esta razón se han señalado como potenciales vías de transmisión secundaria, junto con las aguas residuales (Liu et al., 2020). Apuntan estos autores que en el año 2003 ya se alertó de esta circunstancia durante la epidemia de SARS-CoV y que puede afectar especialmente a los países menos desarrollados. Sin embargo, conviene hacer unas matizaciones con relación a la presencia de restos biológicos del virus y su cuantificación.

Estas matizaciones tienen que considerar al menos dos aspectos:

- La cantidad de virus excretado por cada persona, que es variable

- La matriz en la que se encuentra el virus, que puede facilitar la degradación del material biológico.

En el caso de las aguas residuales, sus características son diferentes y cambiantes, de forma muy notable, de unas poblaciones a otras. Las características de las aguas residuales están asociadas a las actividades que las originan (domésticas, industriales, otras) y las sustancias que se vierten, por lo que estos condicionantes influirán en la persistencia de restos biológicos del SARS-CoV-2 y en su degradación.

En este sentido, Foladori et al. (2020), indican la viabilidad de detectar el virus mediante la técnica PCR (Polymerase Chain Reaction, reacción en cadena de polimerasa) en las heces de pacientes infectados, pero que hay mayores dificultades en las aguas residuales por varias razones. La primera es la carga viral en las heces de las personas, que se diluyen en las aguas residuales, y además se puede ver afectada por la temperatura, el pH, los sólidos presentes, los microcontaminantes, desinfectantes, la incidencia de la luz, etc. Añaden estos autores que el hallazgo de RNA viral en las heces no implica que el virus sea viable e infeccioso y que la viabilidad de los CoV como el SARS-CoV-2 disminuye en las aguas residuales, debido a numerosos factores como los comentados. Este decaimiento de la presencia del virus y sus restos biológicos en las aguas ha sido objeto de estudio en varios trabajos de investigación como los de Ahmed et al. (2020) y Kumar et al. (2020). No hay resultados concluyentes con relación a la transmisión por las aguas dados los pocos estudios realizados (Rimoldi et al., 2020), pero todo parece indicar que el tipo de matriz y sus características, especialmente en el caso de las aguas residuales, es determinante de la mayor o menor persistencia de los restos biológicos del virus.

Es decir, las características de las aguas residuales alteran el material y por tanto su detección y cuantificación está intrínsecamente asociada al tipo de matriz en la que se encuentra el material biológico del virus. Todo parece indicar que en ningún caso podemos detectar una cantidad igual a la excretada, y que la proporcionalidad de lo que se detecta en las aguas residuales con relación al origen va a depender mucho de las características y sustancias que transportan las aguas residuales con las que puede interactuar. Sin embargo, eso no implica que la epidemiología basada en el análisis de aguas residuales (WBE, Wastewater Based Epidemiology) no tenga potencial para el monitoreo de la transmisión comunitaria de la COVID-19; sin embargo, se necesitan datos precisos sobre la estabilidad del ARN del SARS-CoV-2 en las aguas residuales para poder interpretar los resultados (Ahmed et al., 2020). Para esa interpretación más precisa, se necesita analizar individualmente las aguas residuales y sus condicionantes en cada lugar y momento, así como la población y actividades asociadas al sistema de recogida de aguas residuales.

Finalmente, debemos llamar la atención con relación a la metodología de análisis y determinación. La técnica PCR, previamente a su uso, precisa de una serie de etapas de preparación que son críticas. Como se puede apreciar en la figura 3 y tal como indica Luis Pérez García-Estañ, la preparación y concentración de la muestra para su detección es muy compleja en el caso de las aguas residuales.

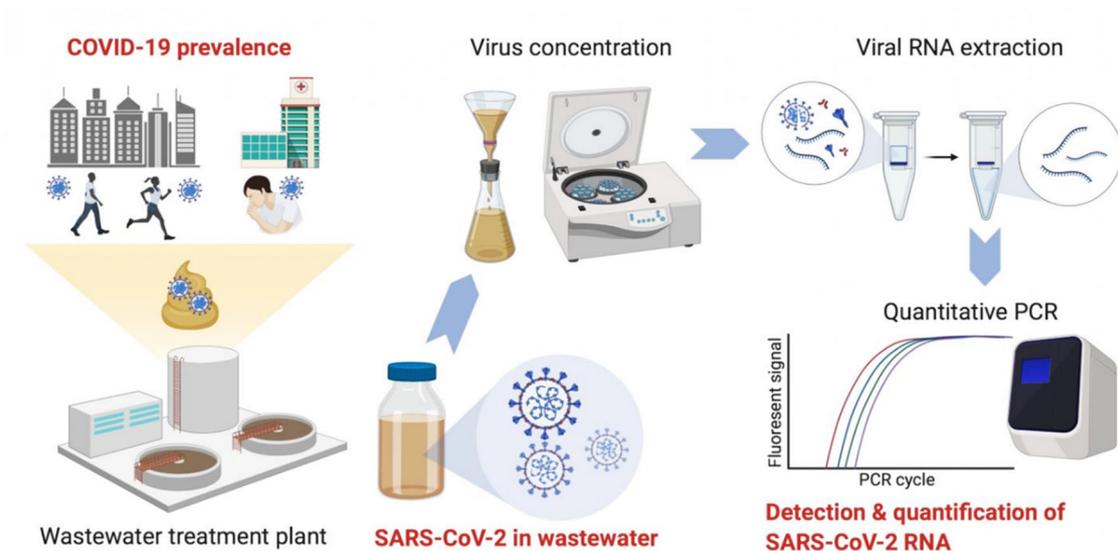


Figura 3. Proceso de toma de muestra, preparación y análisis mediante PCR del RNA del virus SARS-CoV-2.

Sería deseable poder disponer un método de monitoreo rápido a nivel comunitario, aplicando la metodología de la epidemiología basada en aguas residuales (WBE), para cuantificar el SARS-CoV-2, una importante amenaza para la salud pública mundial, el medio ambiente y la economía (Gautam y Hens, 2020; Shreedhar y Mourato, 2020). En este sentido se está prestando mucha atención por la comunidad académica y particularmente por las ciencias e ingeniería ambientales (Lu et al., 2020) y biotecnología, para lograr un balance de masa sobre el número total de copias de ARN viral en muestras de aguas residuales y las muestras de heces infectadas. Como indican estos autores, el resultado de la detección cuantitativa de RNA en aguas residuales debe ser altamente sensible, preciso y de confianza y para ello es imprescindible la aplicación de métodos de concentración efectivos antes de la posterior extracción de RNA y la detección de RT-qPCR. Lu et al. (2020) ponen de manifiesto las dificultades metodológicas de los procedimientos previos a la detección PCR. Es en esta parte donde hemos centrado y encontrado similares dificultades.

Sin duda, se ha demostrado la presencia de SARS-CoV-2 en aguas residuales sin tratar (brutas) pero algunos estudios han demostrado que no se detecta en las aguas tratadas y regeneradas (Rimoldi et al., 2020) y que, en todos los casos, la infectividad del virus siempre fue nula, lo que indica la pérdida progresiva de la patogenicidad viral en el tiempo, desde la emisión (excreción). Precisamente el tiempo desde la excreción y el tiempo de residencia del virus en las aguas es un condicionante asociado, que puede enmascarar y limitar la cuantificación del virus y por tanto dificultar enormemente su asociación a la cantidad de personas de una población dada que se encuentren infectadas. Sin embargo, esas limitaciones no implican que no sirva como una herramienta auxiliar de interés para el control de la salud pública y para contrastar con los datos clínicos epidemiológicos.

A modo de resumen podemos indicar algunas de las consideraciones que subyacen en esta investigación realizada en la acción 2 de este proyecto:

- Es una herramienta complementaria de los datos clínicos y, por tanto, útil desde el punto de vista de la vigilancia de la salud pública.

- La detección se centra en determinar restos biológicos del virus, fragmentos de secuencias de RNA, que es una molécula de grandes dimensiones, pero lábil, que se degrada con cierta facilidad.
- La cantidad excretada, variable según la persona infectada, así como las características de las aguas residuales y el tiempo de residencia de los restos biológicos en las aguas, condicionan la cantidad y persistencia del material genético del SARS-CoV-2.
- La interpretación de los datos obtenidos en las aguas residuales, estarán muy condicionados por dichas aguas, sus características y sustancias que contienen, lo que hace muy complejo la interpretación epidemiológica de los datos con fines cuantitativos.
- La metodología para llegar a la detección y cuantificación de los restos de RNA en las aguas residuales, presenta etapas críticas y que probablemente deban optimizarse para cada tipo de matriz en la que se encuentre el material biológico.

Las aguas residuales, brutas y tratadas (regeneradas), se tomaron semanalmente desde mediados del mes de mayo de 2020, desde el 13 de mayo de 2020. A estas aguas, se unieron las tomadas en los azarbes en los meses de junio y septiembre, para detectar la presencia o no del virus.

4.2. EDAR estudiadas.

Las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) a las que se les tomó muestras de aguas y que participan en este estudio son gestionadas por la empresa Aigües i Sanejament d'Elx, empresa municipal participada por el grupo Hidraqua. Ha sido fundamental contar con la colaboración de la empresa municipal y del grupo para la realización de este estudio. Han sido los encargados de facilitar la muestra compuesta procedente de las EDAR que se ha analizado. De los datos facilitados por la empresa y la EPSAR podemos indicar algunas de las características de estas plantas de depuración.

La EDAR de Algorós es la planta de mayores dimensiones, trata las aguas del núcleo principal del municipio ilicitano, dando servicio casco urbano de Elche, las partidas Matola, La Galia y Bonavista, y los futuros desarrollos urbanos de la ciudad. Da servicio a unos 190.000 habitantes equivalentes. Dispone de pre-tratamiento, tratamiento primario, secundario y terciario, así como de un sistema de desinfección.

La EDAR de Arenales del Sol, abarca un territorio muy amplio del término municipal de Elche que comprende desde la Urbanización Buenos Aires, pasando por el Parque Empresarial (E.P.E.), Torrellano, Perleta, Valverde, El Altet y Arenales. Es la planta más moderna, cuanta con el mismo sistema de tratamientos que la anterior, pero con tecnología más moderna y da servicio a unos 12.000 habitantes equivalentes.

La EDAR de Carrizales, recoge las aguas procedentes de los colectores de residuales de los núcleos de La Hoya, Las Bayas y La Marina, además de las procedentes del parque agroalimentario de La Alcuña. Esta planta da servicio para algo más de 4.000 habitantes equivalentes.

En la siguiente figura se muestra la localización de las plantas en el término municipal de Elche.



Figura 4. Situación de las estaciones depuradoras de aguas residuales en el término municipal de Elche.

4.3. Evolución de la pandemia en Elche.

Los datos del número de casos de COVID-19 diagnosticados por PCR en los últimos catorce días en el municipio ilicitano se muestran en la figura 5 y son los utilizados para comparar en este estudio con las detecciones de virus en las aguas. Estos datos están facilitados por la Conselleria de Sanitat Universal i Salut Pública por medio del Portal de Dades Obertes de la Generalitat Valenciana. Con estos datos, queremos establecer una asociación entre detección del virus en aguas y casos clínicos por PCR, correspondientes al número de casos de COVID-19 diagnosticados por PCR en los últimos 14 días en el municipio de Elche. Este dato permite conocer el riesgo de transmisión de la enfermedad.



Figura 5. Número de casos de COVID-19 diagnosticados por PCR+14 en el municipio de Elche.

5. Resultados de la acción 2.

Las aguas residuales brutas y tratadas (regeneradas), fueron recogidas todos los miércoles, desde el 13 de mayo de 2020 hasta finales de octubre (28/10/2020), tomando cuatro alícuotas entre las 8 y las 11 de la mañana y formando una única muestra compuesta.

A partir de aquí se siguieron dos actuaciones paralelas llevadas a cabo en dos centros distintos de la Universidad Miguel Hernández de Elche. La caracterización básica de la matriz al igual que se hizo con las aguas muestreadas en los azarbes, se realizó en el Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente. La detección de material genético del SARS-CoV-2 en todas las aguas, se desarrolló fundamentalmente en el Instituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche, con colaboraciones del resto de centros.

5.1. Características de las aguas residuales y regeneradas.

En la primera de las actuaciones realizadas, se caracterizaron las aguas residuales y regeneradas. Se determinaron los siguientes parámetros siguiendo la metodología estándar y contrastada (APHA, AWWA, WEF, 2012):

- pH a 20°C
- Conductividad eléctrica (CE) a 25°C
- Demanda química de oxígeno (DQO)
- Nitrógeno total (N_T)
- Fósforo total (P_T)
- Sólidos en suspensión (SS)

La empresa municipal de aguas facilitó los valores de los caudales (Q) de entrada (aguas brutas) y salida (aguas tratadas, regeneradas) de las tres depuradoras estudiadas.

En este informe, se recogen los resultados obtenidos en el análisis de las aguas entre el 13 de mayo de 2020 y el 28 de octubre de 2020, prácticamente seis meses de muestreos y seguimiento analítico. Durante estas semanas, como ha quedado reflejado en la figura 5, se produjeron variaciones en el número de casos clínicos detectados en los habitantes del municipio de Elche, incrementándose hacia el final del periodo, en los meses de septiembre y octubre.

Los valores promedio de los parámetros analizados y la desviación estándar se muestran en la tabla 11. De estos resultados, que hacen referencia a la muestra compuesta de agua residual y regenerada tomada en la franja horaria situada aproximadamente entre las 8:00 y las 11:00, con toma de alícuotas de 500 ml cada media hora, destaca lo siguiente.

La depuradora de Algorós es la que mayor caudal de agua residual recibe y trata. Observando las características de las aguas brutas que le llegan, podemos indicar que pH, sólidos en suspensión (SS) y la carga orgánica (DQO), son superiores a las que afectan a las otras dos depuradoras. Este último hecho se refleja también en el contenido de nitrógeno y fósforo totales detectados, cuya carga de entrada es mayor que en las otras dos EDAR.

En el caso de la salinidad, por su situación en el término municipal y el medio físico y actividades que rodean a la EDAR, la depuradora de Carrizales recibe las aguas con el mayor contenido en sales, con una conductividad eléctrica (CE) elevada en comparación con las otras plantas ilicitanas.

En líneas generales, las tres depuradoras reducen notablemente estos parámetros a la salida de las plantas (aguas tratadas), destacando positivamente en este sentido a la depuradora de Arenales del Sol.

Tabla 11. Características medias de las aguas residuales analizadas.

AGUAS	Q	(m ³ /h)	pH	Uds pH	CE	(mS/cm)	DQO	(mg/l)
BRUTAS	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD
ALGOROS	1308	±257	8,1	±0,3	2,48	±0,23	885	±268
ARENALES	174	±83	7,5	±0,2	2,06	±0,26	809	±575
CARRIZALES	107	±19	7,8	±0,2	4,75	±0,53	355	±126
TRATADAS	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD
ALGOROS	1036	±177	7,4	±0,2	1,81	±0,17	50	±13
ARENALES	139	±63	7,3	±0,1	1,67	±0,19	16	±3
CARRIZALES	84	±15	7,8	±0,1	3,52	±0,36	25	±4
AGUAS	N_T	(mg/l)	P_T	(mg/l)	SS	(mg/l)		
BRUTAS	Media	SD	Media	SD	Media	SD		
ALGOROS	118,0	±17,0	15,4	±3,3	405	±99		
ARENALES	82,3	±18,0	11,6	±2,5	322	±336		
CARRIZALES	57,1	±11,9	15,8	±4,4	160	±60		
TRATADAS	Media	SD	Media	SD	Media	SD		
ALGOROS	11,0	±5,4	3,8	±0,7	12	±7		
ARENALES	4,1	±0,3	0,4	±0,3	-	-		
CARRIZALES	7,8	±2,3	2,5	±0,5	-	-		

Estos datos, nos pueden llevar a inducir que las cualidades en las aguas residuales de Algorós pueden ser las más desfavorables a la persistencia de RNA del virus SARS-CoV-2 en dicha matriz, frente a las aguas que reciben las otras dos EDAR. Sin embargo, conviene recordar que para que haya virus en las aguas, además de persistencia tras la interacción del material genético con las sustancias contenidas en la matriz, se debe considerar la cantidad excretada en origen por la población afectada que debe ser de una magnitud tal que pueda ser detectada técnicamente.

5.2. Procesado de las muestras para PCR

Se ha reseñado en apartados anteriores la importancia que tiene en la metodología el pretratamiento y preparación de las muestras antes de proceder al análisis mediante PCR. Dada la novedad de este tema (SARAS-CoV-2 en aguas residuales), los datos disponibles sobre el tratamiento de las muestras previamente a su determinación son limitados y muy recientes, como por ejemplo el trabajo publicado de Rusiñol et al. (2020), entre otros. En general, el porcentaje de recuperación del RNA del virus es variable según el método de preparación y probablemente la efectividad depende mucho de la adaptación del método a las aguas residuales concretas, a su tipología.

El procedimiento que se ha seguido en los laboratorios del Instituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche (IDiBE – UMH) implica los siguientes pasos:

- Primero se inactivan las muestras por tratamiento térmico para asegurar la no presencia de virus activo, a 60°C durante 90 minutos.
- Después, para poder establecer una comparación asociada al comportamiento del material genético y su recuperación, las muestras se dopan con una cantidad de un virus

de pez (VHSV). Esto nos ha permitido hacer un seguimiento en cuanto a recuperación de RNA viral, de la metodología empleada.

- Las muestras se sometieron a un proceso de clarificado, para eliminar las sustancias de mayor tamaño, especialmente presentes en el caso de las aguas brutas.
- Posteriormente se realizó la concentración del material, mediante floculación y filtración. Se realizó tanto por floculación (método AlCl3) como por centrifugación en filtros de 30-50K. Durante estos procesos, se pudo comprobar que los resultados en cuanto a recuperación de VHSV son similares, dependiendo de las sustancias (suciedad) de la muestra original en alguna medida.

Tras la preparación de las muestras, se procedió a la extracción de RNA y su análisis mediante PCR en tiempo real, dando lugar a resultados como los que se muestran posteriormente. Esta técnica, conviene indicar de forma muy breve que se basa en la acción de una enzima, la polimerasa, que va amplificando durante una serie de etapas (ciclos) el material genético (figura 6).

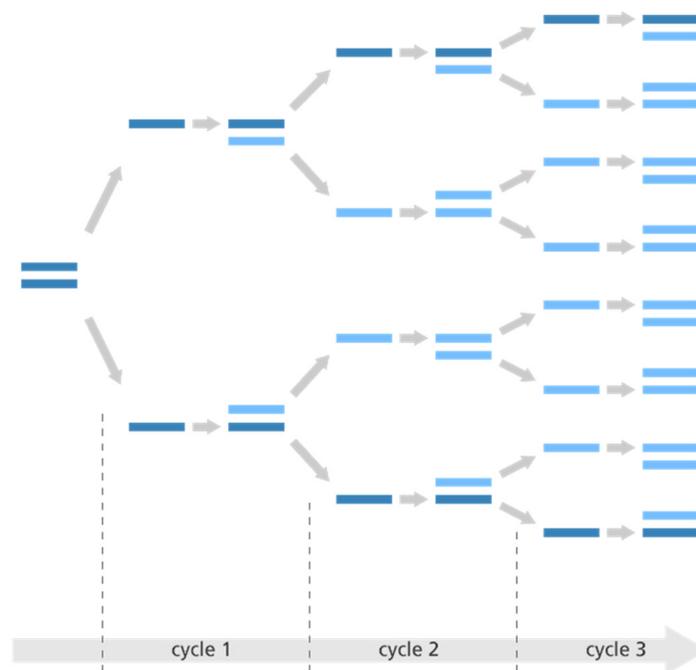


Figura 6. Ilustración que muestra cómo actúa la polimerasa para producir copias de material genético. Imagen de Genome Research Limited.

A este material concreto, se unen unas moléculas que interaccionan con su secuencia genómica, que dependerán del kit de determinación que se use, en nuestro caso hemos probado dos kits comerciales, y que producen luminiscencia. Cuando se alcanza una concentración en la muestra significativa, se puede detectar esta luminiscencia.

Estas técnicas se realizan incorporando patrones de RNA de SRAS-CoV-2, así como un control interno para ver si se inhibe la PCR, y permiten, en alguna medida, establecer si hay detección y en muchos casos, cuantificar. El problema adicional es que existen limitaciones en cuanto al número de ciclos (Ct) en los que se va amplificando (copiando) el material porque puede llegar a un punto en que los resultados obtenidos, especialmente si se parte de muy baja concentración de RNA, no sean fiables y puedan originar falsos positivos.

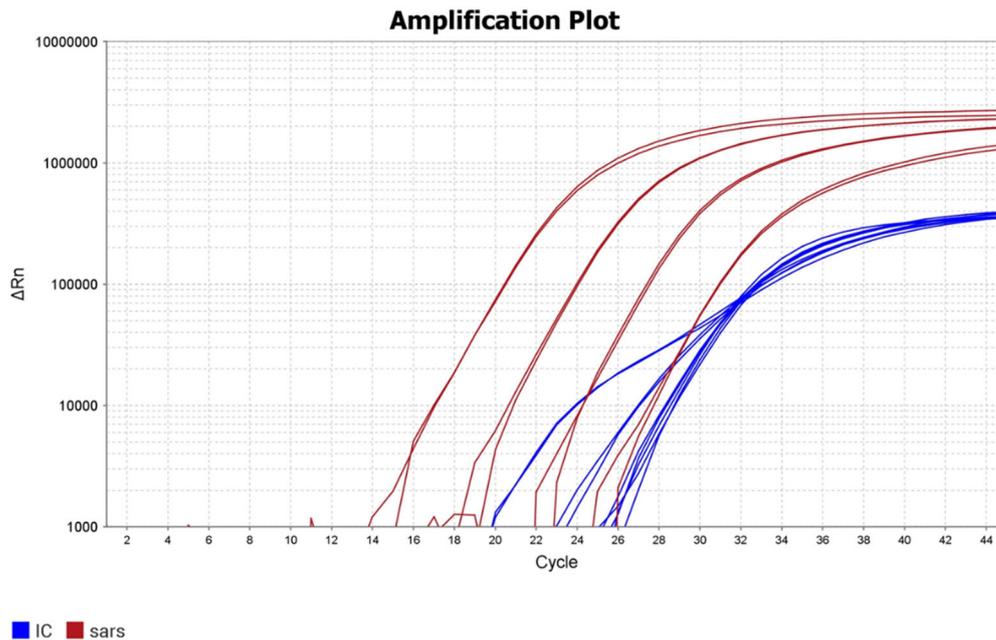


Figura 7. Ejemplo de los resultados que se obtienen mediante PCR en tiempo real usando los patrones del kit de GPS (Genetic PCR Solutions, Martínez-Murcia et al., 2020).

5.3. Resultados obtenidos

En los análisis realizados para detectar RNA del SARS-CoV-2, se ha conseguido obtener resultados con “positivos” que se pueden comparar con los datos clínicos de casos de PCR+14 del municipio de Elche.

Pero conviene indicar que, no hemos detectado hasta el momento la presencia del virus en las aguas regeneradas de las tres depuradoras y en las aguas de los azarbes. Esto no quiere decir que no pueda haber algún resto biológico (genético) y puede no haber sido detectado por varias razones, entre otras la necesidad de mejorar la sensibilidad del método. Sin embargo, como algunos de los estudios reseñados con anterioridad corroboran, estos resultados de no detección (presencia) en las aguas residuales tratadas son los esperables.

Por tanto, los datos que ofrecemos se centran en las aguas brutas que llegan a las depuradoras. De nuevo, hay que reseñar que no se ha detectado en las aguas brutas de la EDAR de Carrizales, y solamente nos constan dos positivos a finales de septiembre en la EDAR de Arenales. Por tanto, se obtuvo el mayor número de veces con detección positiva en las aguas brutas que recibía la depuradora de Algorós.

Tiene cierto sentido si consideramos que esta EDAR, la de Algorós, es la que atiende a la mayor parte de la población del municipio. El comportamiento de esta enfermedad, o mejor dicho, el de los grupos humanos y su transmisión, está muy asociada a las zonas urbanas, especialmente a las densamente habitadas. En líneas generales, se considera más fácil el contagio en zonas urbanas que en las zonas periurbanas o rurales, aunque siempre hay excepciones y no se debe considerar como regla general. Lo que sí parece probado es que haya transmisión social y para ello, deben concurrir circunstancias favorables como la concentración de personas y el desplazamiento hacia otros lugares (Wilder-Smith y Freedman, 2020).

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 12.

Tabla 12. Detección de virus en las EDAR de Algorós y Arenales.

Fecha de muestreo de aguas	EDAR Algorós		EDAR Arenales	
	Ct	Detección	Ct	Detección
13/05/2020		Negativo		Negativo
20/05/2020		Negativo		Negativo
27/05/2020		Negativo		Negativo
03/06/2020		Negativo		Negativo
10/06/2020		Negativo		Negativo
17/06/2020		Negativo		Negativo
24/06/2020		Negativo		Negativo
01/07/2020		Negativo		Negativo
08/07/2020		negativo		Negativo
15/07/2020	36	Dudoso		Negativo
22/07/2020		Negativo		Negativo
29/07/2020	33,4	Positivo		Negativo
05/08/2020	35,1	Positivo		Negativo
12/08/2020	35	Positivo		Negativo
19/08/2020		Negativo		Negativo
26/08/2020		Negativo		Negativo
02/09/2020	37,1	Positivo		Negativo
09/09/2020	35,8	Positivo		Negativo
16/09/2020		Negativo		Negativo
23/09/2020	33,3	Positivo	36,1	Positivo
30/09/2020	33,9	Positivo	37,4	Positivo
07/10/2020	33,6	Positivo		Negativo
14/10/2020	32,7	Positivo		Negativo
21/10/2020	33,5	Positivo		Negativo
28/10/2020	37,6	Dudoso		Negativo

Si combinamos estos datos con los obtenidos de las pruebas clínicas PCR positivas realizadas en los últimos 14 días asociadas al municipio ilicitano, con los datos disponibles a partir del 27 de mayo de 2020 (cambio en la metodología y en el registro de casos producido en mayo), obtenemos el gráfico que se ofrece en la figura 8 para el caso de las aguas residuales (brutas) que van a parar a la EDAR de Algorós.

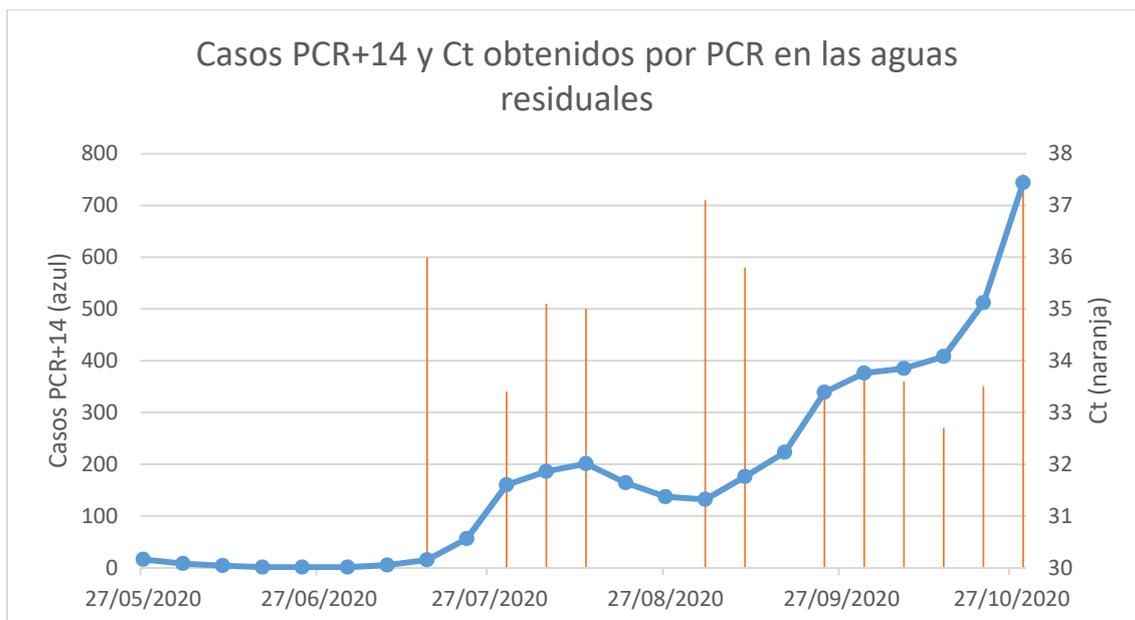


Figura 8. Representación de la evolución de los casos PCR+14 días en Elche y la detección de restos biológicos del virus en las aguas residuales que llegan a la planta de Algorós.

Conviene ser extremadamente cauto en la interpretación de los datos como se indica a continuación.

5.4. Interpretación de los resultados de las PCR.

En primer lugar debemos entender que en la figura 8, los valores que se representan para los resultados analíticos de las pruebas PCR en agua se dan en ciclos (Ct). Es importante saber que a mayor valor de Ct, significa que la concentración de partida era menor, es decir, menos presencia de RNA viral en las aguas y por tanto menor concentración de virus (ha sido necesario realizar más ciclos de amplificación del material genético). Por tanto, una barra de color naranja en el gráfico anterior de mayor longitud significa, probablemente, menos contenido de material genético inicial. Es decir, es inversamente proporcional a la concentración de RNA de partida.

Con el uso de PCR, que los Ct hayan sido de 33 o superior, indica que nos encontramos próximos al límite de detección del método. Esta es la misma situación que también se ha dado en el análisis de aguas en Valencia (Randazzo et al., 2020) y estudios previos con virus del tipo SARS (Casanova et al., 2009).

No obstante, sí que podemos deducir que se aprecia una relación entre el virus en aguas y el incremento de casos de los meses de agosto (primera quincena) y en los de septiembre y octubre (denominada como segunda ola de la pandemia). Teniendo en cuenta que la población de referencia es toda la del municipio de Elche, quizás se pueda tratar de ver alguna relación cuantitativa entre estos parámetros, aunque no se dispone de muchos datos para poder llegar a conclusiones.

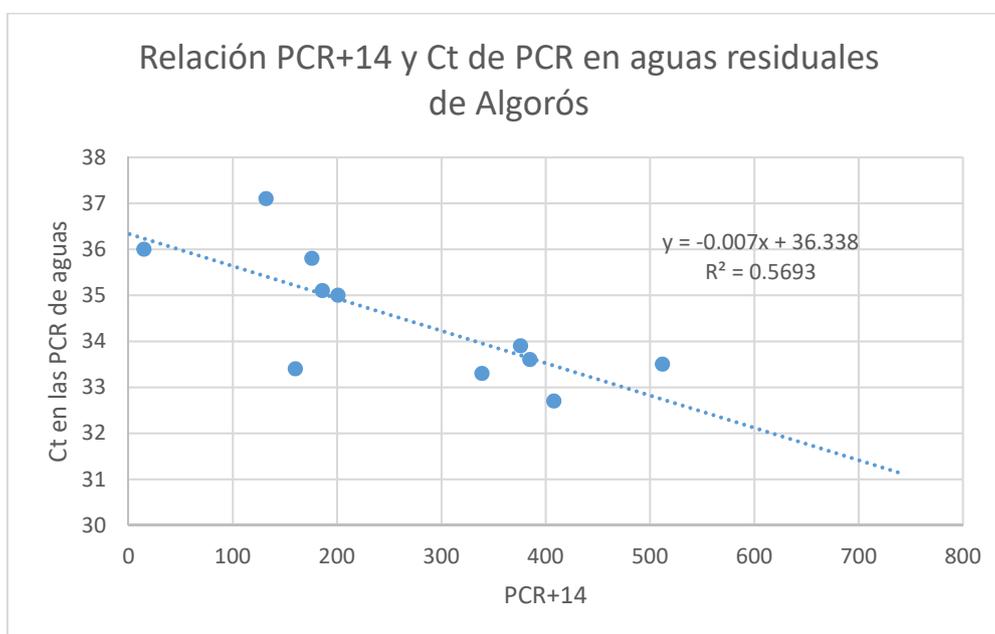
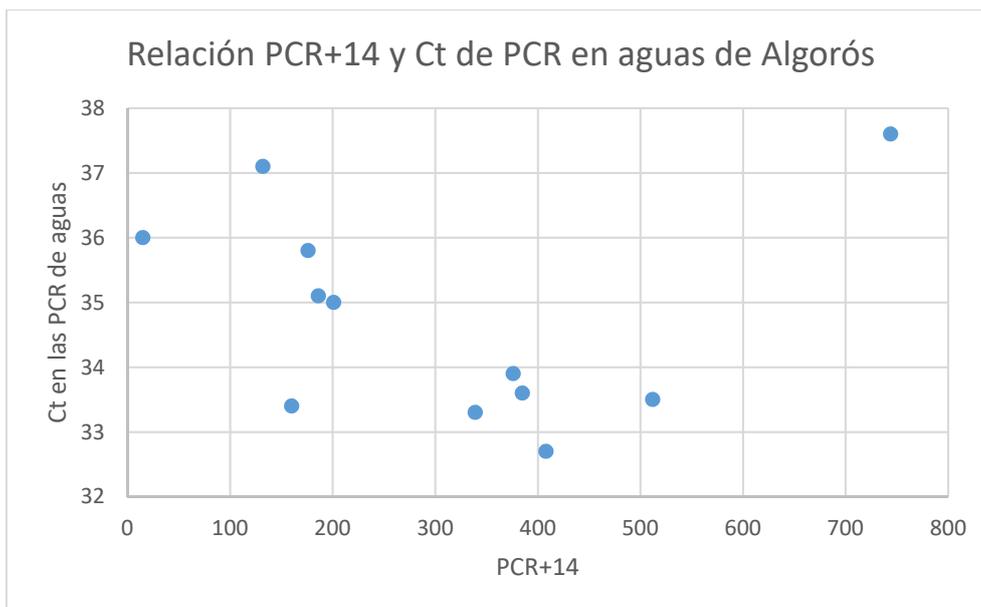


Figura 9. Comparación entre resultados de PCR en tiempo real realizadas para las aguas residuales de Algorós y los datos de PCR+14 días de Elche. En la parte superior la nube de puntos y en la inferior, la línea de tendencia eliminando el dato final, de PCR en aguas a finales de octubre.

Los datos disponibles, como se ha indicado, no son suficientes para establecer una proporcionalidad entre ambos parámetros, PCR+14 y la cuantificación de la prueba PCR de las aguas residuales de Algorós (expresada en Ct). En cualquier caso, en el segundo gráfico, eliminando el último dato obtenido (28 de octubre de 2020), se puede apreciar una cierta tendencia que relaciona menor número de Ct con mayor número de casos PCR+14, lo que equivaldría a mayor presencia de restos de virus excretados a las aguas residuales.

Sin embargo, debemos considerar que estos datos son los obtenidos en las condiciones de las aguas que llegan a la depuradora de Algorós, para la población urbana de Elche y que las PCR+14

son las correspondientes a todo el municipio (podrían incluir población fuera del núcleo urbano principal).

Además, se añaden los problemas asociados a la variabilidad en las características del agua como pueden ser el tiempo de residencia en las aguas y la labilidad del RNA, la cantidad variable de virus excretado por la población, el periodo de tiempo de toma de muestras, y otra serie de factores que influyen en el contenido de RNA del SARS-CoV-2 en las aguas residuales.

Por ello, se debe ser muy cauto a la hora de interpretar estos resultados. Sin embargo, es muy positivo poder asociar detección en aguas y el aumento de casos en el sentido dado a esta herramienta, de apoyo a los análisis clínicos y al control epidemiológico de la infección.

6. Conclusiones.

Los aspectos más relevantes derivados de este estudio, en cada una de las acciones son los siguientes.

Con relación a la **acción primera**, se pone de manifiesto una cierta resiliencia del sistema de drenaje del sur de la Comunidad Valenciana, considerando las fuertes lluvias e inundaciones de septiembre de 2019, que afectaron al mismo, y aunque los parámetros analizados en el año 2020 no son del todo coincidentes con los valores promedio del periodo 2016-18, se aproximan. Se aprecian cambios en algunos como es el caso de la salinidad (conductividad eléctrica). Este grupo de investigación ha demostrado la influencia de la orla de suelos salinos que rodean las masas de agua (Juan et al., 2011; Bas et al., 2017), especialmente las de El Hondo y que afectan a la zona de Carrizales, entre estos embalses y la Sierra del Molar.

Los dos pesticidas analizados se encuentran en muy baja concentración, pero muestran su presencia en las aguas, con lo que es interesante poder ir valorando esta presencia y los efectos a largo plazo. Es complejo el caso de la contaminación difusa asociada al insecticida DDT y al herbicida Glifosato, ya que la calidad de las aguas de los azarbes está influenciada por la gran diversidad de actividades que se desarrollan en cada una de sus cuencas de influencia. Especialmente en el caso del último compuesto, su uso tanto en espacios urbanos como agrarios ha sido muy intenso en los últimos años, siendo el herbicida más usado en España. Se espera su prohibición para el año 2022 en toda Europa.

Con relación a la **acción segunda**, debemos de considerar que la detección en matrices complejas de la presencia de SARS-CoV-2 y su cuantificación, como pueden ser las aguas residuales brutas, es una tarea que está muy condicionada por las características de las aguas que se analizan.

Sí es posible utilizar esta estrategia para detectar la presencia del virus, como así se pone de manifiesto en este estudio, así como la posibilidad de usarla como herramienta auxiliar para estudios epidemiológicos. Puede ser un buen complemento a los análisis de las muestras clínicas e incluso, una herramienta de seguimiento de la presencia en una población de personas afectadas por el virus o no, al no depender de la sintomatología. Las aguas de las EDAR recogen material de todo aquel que excreta virus y por tanto, no necesariamente tienen que aparecer personas sintomáticas en una población para detectar el virus.

Sin embargo, queda mucho camino para poder utilizar esta herramienta para cuantificar, incluso de forma aproximada, el número de habitantes que pueden estar afectados a partir de la detección en las aguas. Son muchas las variables que pueden afectar, incluidas las estacionales que pueden variar la temperatura del agua o cambiar los aportes debidos a las precipitaciones. De cara al futuro, sería deseable unificar criterios metodológicos, aún siendo diferentes las características de las aguas residuales, como marco de referencia para el estudio en la Comunitat Valenciana.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Agencia Europea de Medio Ambiente (2017). Diffusive sources. <https://www.eea.europa.eu/themes/water/water-pollution/diffuse-sources>
- Agencia para Sustancias Tóxicas y registro de Enfermedades (2017). https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts35.html
- Ahmed W., Bertsch P.M., Bibby K., Haramoto E., Hewitt J., Huygens F., Gyawali P., Korajkic A., Riddell S., Sherchan S.P., Simpson S.L., Sirikanchana K., Symonds E.M., Verhagen R., Vasan S.S., Kitajima M., Bivins A. (2020). Decay of SARS-CoV-2 and surrogate murine hepatitis virus RNA in untreated wastewater to inform application in wastewater-based epidemiology. *Environmental Research* 191: 110092.
- Alfaro P. et al. (23 autores) (2015). Historia natural de la huerta de Orihuela. Excmo. Ayuntamiento de Orihuela.
- APHA, AWWA, WEF (2012). Standard Methods for the examination of water and wastewater. Ed. American Public Health Association, Wasington.
- Avigliano L., Alvarez N., Loughlin C.M., Rodríguez E.M. (2014). Effects of glyphosate on egg incubation, larvae hatching, and ovarian rematuration in the estuarine crab, *Neohelice granulata*. *Environ Toxicol Chem* 33(8):1879-84.
- Ayers R.S., Westcot D.W. (1985). Water quality for agriculture. FAO irrigation and drainage paper nº 29.
- Ayers R.S., Westcot D.W. (1994). Water quality for agriculture. FAO irrigation and drainage paper nº 29.
- Bas Niñerola V., Navarro-Pedreño J., Gómez Lucas I., Meléndez Pastor I., Jordán Vidal M.M. (2017) Geostatistical assessment of soil salinity and cropping systems used as soil phytoremediation strategy. *J Geochemi Explo* 174:53–58.
- Casanova L., Rutala W.A., Weber D.J., Sobsey M.D. (2009). Survival of surrogate coronavirus in water. *Water Research* 43(7):1893-1898.
- Confederación Hidrográfica del Júcar. <http://www.chj.es/>.
- Confederación Hidrográfica del Segura. <https://www.chsegura.es/>.
- EPA (2001). Nutrient Criteria Technical Guidance Manual Estuarine and Coastal Marine Waters. EPA-822-B-01-003.
- EPA (2017). Coastal trophic. https://cfpub.epa.gov/roe/indicator_pdf.cfm?i=43
- EPA (1990). Long Island Sound Study, Status Report and Interim Actions for Hypoxia Management. New York: U.S. Environmental Protection Agency.

- Eurofins-Abraxis (2020). <https://abraxis.eurofins-technologies.com/home/products/rapid-test-kits/>
- Foladori P., Cutrupi F., Segata N., Manara S., Pinto F., Malpei F., Bruni L., La Rosa G. (2020). SARS-CoV-2 from faeces to wastewater treatment: What do we know? A review. *Science of the Total Environment* 743: 140444.
- Gautam S., Hens L. (2020). COVID-19: impact by and on the environment, health and economy. *Environment, Development and Sustainability* 22:4953-4954.
- Juan P., Mateu J., Jordán M.M., Mataix-Solera J., Meléndez-Pastor I., Navarro-Pedreño J. (2011). Geostatistical methods to identify and map spatial variations of soil salinity. *J Geochem Explo* 108:62–72.
- Junta de Andalucía (2017). Efectos de los nitratos en la salud. http://www.juntadeandalucia.es/salud/export/sites/cs salud/galerias/documentos/c_3_c_2_medio_ambiente_y_salud/aguas_consumo_publico/contaminacion_nitratos5.pdf
- Kennish M.J. (1989). *Practical Handbook of Marine Science*. CRC Press.
- Kumar M., Kuroda K., Kumar Patel A., Patel N., Bhattacharya P., Joshi M., Joshi C.G. (2020). Decay of SARS-CoV-2 RNA along the wastewater treatment outfitted with Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) system evaluated through two sample concentration techniques. *Science of the Total Environment* 754: 142329.
- Liu D., Thompson J.R., Carducci A., Bi X. (2020). Potential secondary transmission of SARS-CoV-2 via wastewater. *Science of the Total Environment* 749: 142358.
- Lu D., Huang Z., Luo J., Zhang X., Sha S. (2020). Primary concentration – The critical step in implementing the wastewater based epidemiology for the COVID-19 pandemic: A mini-review. *Science of the Total Environment* 747: 141245.
- Martínez J.L., de la Fuente M.M., Muñoz E. (1999). El boro en los vertidos industriales. *Ingeniería Química* 9:163-169.
- Martínez-Cuenca M.R., Martínez-Alcántara B., Quiñones A., Ruiz M., Iglesias D.J., Primo-Millo E., Forner-Giner M.A. (2015). Correction: Physiological and Molecular Responses to Excess Boron in *Citrus macrophylla* W. *PLOS ONE* 10(9): e0137941.
- Martínez-Murcia A., Bru G., Navarro A., Ros-Tárraga P., García-Sirera A., Pérez L. (2020). Comparative in silico design and validation of GPSTM CoVID-19 dtec-RT-qPCR test. *Journal of Applied Microbiology*, doi:10.1111/jam.14781.
- Meléndez I., Navarro-Pedreño J., Koch M., Gómez I. (2010). Applying imaging spectroscopy
 OMS (2016). Métodos básicos de lucha antivectorial. http://www.who.int/malaria/areas/vector_control/core_methods/es/

- OMS (2020). Cronología de la respuesta de la OMS a la COVID-19. <https://www.who.int/es/news/item/29-06-2020-covidtimeline>
- PAN Europe (2017). Summary on the toxicity of Glyphosate. <http://www.pan-europe.info/sites/pan-europe.info/files/public/resources/press-releases/Summary%20on%20glyphosate%20toxicity.pdf>
- Randazzo W., Truchado P., Cuevas-Ferrando E., Simón P., Allende A., Sánchez G. (2020). SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. *Water Research* 181:115942.
- Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.
- Real Decreto 60/2011, de 21 de enero, sobre las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas.
- Real Decreto 817/2015, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental.
- Real Decreto 902/2018, de 20 de julio, por el que se modifican el Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano, y las especificaciones de los métodos de análisis del Real Decreto 1798/2010, de 30 de diciembre, por el que se regula la explotación y comercialización de aguas minerales naturales y aguas de manantial envasadas para consumo humano, y del Real Decreto 1799/2010, de 30 de diciembre, por el que se regula el proceso de elaboración y comercialización de aguas preparadas envasadas para el consumo humano.
- Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas.
- Real Decreto 314/2016, de 29 de julio, por el que se modifican el Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano, el Real Decreto 1798/2010, de 30 de diciembre, por el que se regula la explotación y comercialización de aguas minerales naturales y aguas de manantial envasadas para consumo humano, y el Real Decreto 1799/2010, de 30 de diciembre, por el que se regula el proceso de elaboración y comercialización de aguas preparadas envasadas para el consumo humano.
- Rimoldi S.G., Stefani F., Gigantiello A., Polesello S., Comandatore F., Mileto D., Maresca M., Longobardi C., Mancona A., Romeri F., Pagani C., Cappelli F., Roscioli C., Moja F, Gismondo M.R., Salernob F. (2020). Presence and infectivity of SARS-CoV-2 virus in wastewaters and rivers. *Science of the Total Environment* 744: 140911.

- Rusiñol M., Martínez-Puchol S., Forés E., Itarte M., Girones R., Bofill-Mas S. (2020). Concentration methods for the quantification of coronavirus and other potentially pandemic enveloped virus from wastewater. *Current Opinion in Environmental Science & Health* 17: 21-28.
- Smith J.D., Longmore A.R. (1980). Behaviour of phosphate in estuarine water. *Nature* 287:532-534.
- Shreedhar G., Mourato S. (2020). Linking Human Destruction of Nature to COVID-19 Increases Support for Wildlife Conservation Policies. *Environmental and Resource Economics* 76:963–999
- Texas Agricultural Extensión Service (1996). *Irrigation Water Quality Standards and Salinity Management Strategies*. Ed. The Texas A&M University System.
- Thompson J.R., Nancharaiah Y.V., Gu X., Lee W.L., Rajal V.B., Haines M.B., Girones R., Ching L., Alm E.J., Wuertz S. (2020). Making waves: Wastewater surveillance of SARS-CoV-2 for population-based health management. *Water Research* 184:116181.
- Torretta V., Katsoyiannis I.A., Viotti P., Rada E.C. (2018). Critical review of the effects of glyphosate exposure to the environment and humans through the food supply chain. *Sustainability* 2018, 10, 950.
- Torrijos P. (2015). *Calidad de las aguas del curso fluvial del río Vinalopó: Salinidad*. TFG de Ciencias Ambientales. Director: J. Navarro Pedreño.
- Wilder-Smith A., Freedman D.O. (2020). Isolation, quarantine, social distancing and community containment: pivotal role for old-style public health measures in the novel coronavirus (2019-nCoV) outbreak. *Journal of Travel Medicine* 27(2): 1-4.