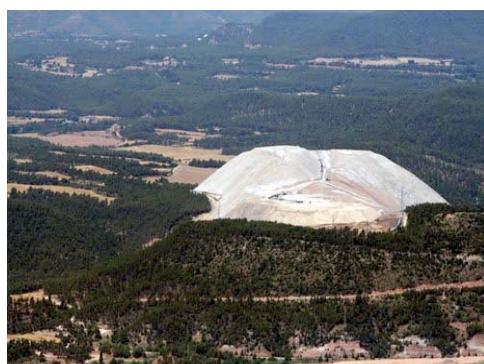


Master de Ecología, Gestión y Restauración del Medio Natural
Departamento de Ecología de la Universidad de Barcelona

Facultad de Biología

Curso 2012/2013

Evaluación de las respuestas de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos a la salinización a través del uso de mesocosmos



Gabriela Peixoto

Director: **Prof. Dr. Narcís Prat Fornells**
Catedrático del Departamento de Ecología
Universidad de Barcelona

Co-director: **Dr. Miguel Cañedo-Argüelles Iglesias**
Investigador postdoctoral del Departamento de Ecología
Universidad de Barcelona

Barcelona, septiembre de 2013.



Master de Ecología, Gestión y Restauración del Medio Natural
Departamento de Ecología de la Universidad de Barcelona
Facultad de Biología
Curso 2012/2013

Evaluación de las respuestas de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos a la salinización a través del uso de mesocosmos

Alumna: **Gabriela Peixoto**

Director: **Prof. Dr. Narcís Prat Fornells**

Co-director: **Dr. Miguel Cañedo-Argüelles Iglesias**

Barcelona, septiembre de 2013.

Agradecimientos

En este nuevo logro personal, pude contar con muchas personas que me han apoyado durante todo este período de concentración intensiva para comprender este nuevo mundo para mí de la gestión ambiental, que hasta entonces admiraba con la ilusión de un día poder participar.

Primeramente me gustaría agradecer a mi tutor Narcís Prat, con quien he tenido el honor de poder trabajar y de quien he aprendido acerca de los invertebrados de agua dulce, ampliando mis horizontes y consiguiendo despertar mi interés sobre la importancia de la preservación de los ríos. Lo mismo puedo decir de mi compañero del Departamento de Ecología, Miguel Cañedo, responsable por la elaboración del experimento y que ha depositado su confianza en mi trabajo, con una constante disponibilidad en para discutir los casos que iban surgiendo al paso de la elaboración de esta tesis. La ayuda de Pau Fortuño ha sido fundamental para mi aprendizaje en la identificación de los animales, por lo que le estaré siempre agradecida. Me gustaría destacar la importancia del espacio cedido por el EDAR de Balsareny para la realización de este experimento, así como de los anteriores y futuros, ya que son de gran relevancia tanto para el conocimiento científico como para la conservación de los ecosistemas.

El apoyo de mis familiares y amigos ha sido fundamental para poder realizar este trabajo. Al final, es con ellos quienes compartimos todo este proceso de aprendizaje, miedo y conquista al que nos enfrentamos cuando nos establecemos nuevas metas en nuestra vida. Así que agradezco enormemente el soporte que me ha dado mi madre Janine, mi padre José Luiz, mi hermano Rafael, mi pareja Pere y su familia, así como a todos mis amigos, siempre dispuestos a escucharme con paciencia y atención, y sobretodo creyendo que lo que yo hacía era importante, lo que me ha dado fuerzas para seguir en el camino.

Muchas gracias a todas las personas que han participado directa o indirectamente en la realización de mi estudio.

Abstract

Salinization is considered one of the main causes of stress in freshwater ecosystems and its impact on aquatic invertebrate community has received increasing attention during recent years. Salt mines are one of the main sources of salinization in European rivers and, especially, in Catalonia. During short and intense precipitation events there is a runoff of salt waste from the mines into the rivers, which potential impact on the aquatic communities has been poorly studied. This thesis presents a mesocosms approach to simulate the effects of a 5mS cm^{-1} salt treatment for a period of 24 hours on the stream invertebrate community. Additionally, we explored the substratum preference within the experimental channels and the potential use of a specific substrate as refuge. The treatment did not affect the overall abundance and richness of the community, but there was a significant response of certain taxa such as Baetidae and Simuliidae. The gravel was the preferred substrate and there was no significant interaction between substrate and salt treatment. The short-term reported tolerance of the community to the salt treatment contradicts field studies, where conductivities between 3 and 5 mS cm^{-1} had been registered to cause changes in the invertebrate communities but with longer exposure times. This confirms the importance of mesocosms as complementary tool for future studies on the effects of secondary salinization on stream ecosystems.

Keywords: mesocosms, macroinvertebrates, salinization.

Resumen

La salinización es considerada como uno de los mayores factores de estrés en los ecosistemas de agua dulce y sus consecuencias para la comunidad de invertebrados acuáticos ha sido ampliamente discutida en los últimos años. Las minas de sal son una de las principales causas de salinización en los ríos de Europa, especialmente en Cataluña. Durante eventos cortos e intensos de precipitación los residuos salinos son lavados hacia los ríos, y su posible impacto en las comunidades acuáticas ha sido poco estudiado. En el presente trabajo se utilizó un mesocosmos para estudiar la respuesta de las comunidades de invertebrados acuáticos a un tratamiento de 5mS cm^{-1} durante un período de 24 horas. Adicionalmente se evaluaron las preferencias al tipo de sustrato en los canales experimentales y el posible uso de alguno de los sustratos como refugio. El tratamiento no modificó de manera significativa a la abundancia y la riqueza de la comunidad, aunque determinados taxones, como Baetidae y Simuliidae, si respondieron de manera significativa. Las gravas fueron el sustrato preferencial para la comunidad de invertebrados y no hubo una interacción significativa entre el sustrato y el tratamiento. La tolerancia mostrada a corto plazo por la comunidad al tratamiento contradice resultados anteriores obtenidos en estudios de campo, en los que se habían registrado cambios significativos para conductividades entre 3 y 5 mS cm^{-1} , pero con tiempos de exposición a la sal más prolongados. Esto confirma la utilidad de los mesocosmos como herramienta complementaria en futuros estudios sobre el efecto de la salinización en los ríos.

Palabras clave: mesocosmos, macroinvertebrados, salinización.

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
2. Objetivo General.....	4
3. Zona de estudio.....	4
4. Metodología.....	5
4.1. Diseño experimental.....	5
4.2. Toma de muestras y identificación.....	7
4.3. Análisis estadístico.....	8
5. Resultados.....	9
5.1. Posición de las muestras en los canales.....	9
5.2. Tratamiento con sal.....	10
5.3. Tipos de sustrato.....	13
5.4. Interacción tratamiento-sustrato.....	15
6. Discusión.....	16
7. Conclusiones.....	19
8. Recomendaciones para experimentos futuros.....	20
9. Bibliografia.....	21

ANEXOS

1. INTRODUCCIÓN

La salinización es una amenaza importante y creciente para las comunidades de organismos que viven en los ecosistemas de agua dulce (Cañedo-Argüelles et al., 2012), y ha sido calificada como uno de los factores de estrés de mayor importancia en estos ecosistemas según el informe de las Naciones Unidas “Millennium Ecosystem Assessment” (2005).

Las principales causas de la salinización secundaria (es decir que no proviene de fuentes naturales) en el mundo son: el desbroce de la vegetación natural (Williams, 2001; Kefford et al., 2006; Mushal, 2006), la irrigación para la agricultura (Létolle, & Chesterikoff, 1999; Crosa et al., 2006; Smedema, & Shiati, 2002), los residuos procedentes de la extracción de sal (Ziemann et al., 2001; Bäthe, & Coring, 2011) y de las minas de carbón (Pond et al., 2008; Fritz et al., 2010; Palmer et al., 2010), los residuos salinos de las aguas residuales y los efluentes industriales (Williams et al., 2003; Lerotholi et al., 2004; Piscart et al., 2005a,b; Dikio, 2010) y por último el uso de sal para el deshielo de carreteras (Kaushal et al., 2005).

La actividad minera es una fuente importante de introducción de sales que entran en los ríos. La extracción de sal de las minas realizada por las industrias de potasio y de sodio es una de las causas más importantes de la salinización de los ríos en Europa (Braukman, & Böhme, 2011). Grandes cantidades de sales de potasio se extraen cada año para la fabricación de fertilizantes agrícolas (Rios, 2011), y los residuos salinos resultantes se disuelven durante eventos de precipitación y pueden entrar en las aguas superficiales (Cañedo-Argüelles et al., 2013).

En Cataluña, la minería de potasa establecida el año 1923 se localiza básicamente en su depresión central, más precisamente en la comarca del Bages (Caus, & Prat, 2010). Con el incremento de las actividades de extracción de potasa en las últimas décadas, los estériles, compuestos básicamente por cloruro sódico o sal común, pasaron a ser vertidos al exterior en formas de escombreras. Entre los municipios de Sallent y Balsareny se pueden observar tres escombreras (Vilafruns, Botjosa y Cogulló) y en el municipio de Súria dos escombreras (Cabassanes y Fusteret). En la actualidad, de todas ellas apenas dos siguen en aumento debido a la explotación (Cogulló y Fusteret) y generan respectivamente de entre 9000 y 5000 toneladas al día de residuos salinos (Franco, 2012; Rovira, 2008). El colector de salmueras construido para transportar las aguas salinas de escorrentía e infiltración

hasta el mar Mediterráneo, sólo es capaz de transportar el 77% de las escorrentías, el 23% restante es transportado por el río Llobregat, por lo que estas montañas de sal próximas a las minas ocasionan un incremento de la salinidad del Llobregat, mayormente en los eventos de precipitación (Rovira, 2008), hecho que puede ser crítico para los organismos acuáticos (Caus, & Prat, 2010).

La concentración de sales en el agua produce un estrés osmótico a los organismos acuáticos, que puede devenir en la desaparición de muchos de ellos que no pueden compensar este estrés, por ello puede tener un papel fundamental en la distribución de las especies de macroinvertebrados, actuando directamente en la estructuración de las comunidades (Williams, 2001; Pinder et al., 2005; Velasco et al., 2006). El incremento de la salinidad simplifica sensiblemente la composición de las comunidades, eliminando progresivamente las especies según la capacidad homeostática de sus mecanismos de regulación fisiológica (Montes, & Martino, 1987).

Se conoce que los invertebrados de agua dulce, sobre todo los insectos, tienen una gran sensibilidad a los niveles elevados de sal (Hart et al., 1991). El efecto de la salinización en su abundancia y riqueza se observó en distintos estudios (Velasco et al. 2006; Carver et al., 2009) y existen familias que son más o menos tolerantes a concentraciones elevadas de sal (Berenzina, 2003; Horrigan, 2005; Velasco et al. 2006; Carver et al., 2009; Cañedo-Argüelles et al., 2012). Por lo tanto la lista de taxones es un indicativo de la tolerancia a la salinidad de la comunidad biológica de un ecosistema acuático.

La mayoría de los estudios sobre el efecto de la salinización en los invertebrados se han llevado a cabo bajo condiciones de laboratorio. Estos estudios, a pesar de ser válidos a nivel de población, no tienen en cuenta la interacción entre los taxones o el efecto de otros contaminantes, dificultando una visión realista de la influencia del entorno en la respuesta a la salinización (Cañedo-Argüelles et al., 2013). Para solucionar este problema, se han realizado experimentos en condiciones controladas, donde la comunidad era similar a la original del ecosistema a estudiar y donde los únicos cambios en la calidad del agua fueron los relacionados con la perturbación que se pretendió estudiar. Una manera de realizar esta aproximación es mediante el uso de los mesocosmos (Cañedo-Argüelles et al. 2012; Cañedo-Argüelles et al., en revisión).

Los mesocosmos son ecosistemas artificiales, en nuestro caso, ecosistemas fluviales, que recrean las condiciones naturales permitiendo llevar a cabo experimentos bajo condiciones controladas. El uso de los mesocosmos ofrece una alternativa al muestreo de campo y permite examinar posibles factores de estrés en comunidades acuáticas bajo condiciones experimentales controladas (Odum, 1984; Petersen, & Englund, 2005). Los mesocosmos son ampliamente utilizados en estudios sobre los ecosistemas acuáticos con el objetivo de facilitar la interpretación de los factores y procesos que regulan las comunidades de invertebrados bentónicos (Lamberti, & Steinman, 1993; Pearson, & Connolly, 2000; Bond, & Downes, 2003; Ledger et al., 2006; Grantham et al., 2012). Los mesocosmos permiten aislar los efectos de tratamientos de factores individuales, así como testar las posibles relaciones entre los tratamientos y las respuestas biológicas (Grantham et al., 2012), pudiendo ser considerado como un diseño experimental ideal para el estudio de los ríos mediterráneos, ya que estos están sujetos a múltiples factores de estrés, tanto físicos como químicos (Ormerod et al., 2010; Ricart et al., 2010). En este tipo de condiciones, el uso de mesocosmos puede ofrecer respuestas más concretas en cuanto a los efectos específicos de un contaminante sobre la comunidad de invertebrados acuáticos, que podrían ser infravalorados en los estudios de campo.

Anteriores experimentos realizados con el mesocosmos donde hemos realizado nuestro estudio, registraron una disminución de la abundancia y riqueza de la comunidad de macroinvertebrados a concentraciones de sal superiores a 5mS cm^{-1} , identificándose taxones sensibles a este factor de estrés (Cañedo-Argüelles et al., 2012) para un experimento de duración media (varios días). En el referido experimento no se consideró la heterogeneidad del sustrato en los mesocosmos, por lo tanto no se reportó información sobre la distribución de la comunidad de macroinvertebrados en distintos tipos de sustrato. Además, no se estudió si había una posible relación entre la abundancia y riqueza respecto a la interacción entre la presencia de la sal y el tipo de sustrato. La importancia de la heterogeneidad del hábitat en la composición de la comunidad de invertebrados acuáticos ha sido referida por distintos autores (Beisel et al., 1998; Jowett, 2003), por este motivo ha sido considerada como un factor relevante en el presente estudio. La interacción entre tratamiento y tipo de sustrato debería ser significativa ya que los espacios intersticiales presentes en las gravas podrían actuar como refugio de la comunidad de macroinvertebrados, mientras que los individuos que colonizan las piedras estarían más expuestos a los efectos de la sal.

2. OBJETIVO GENERAL

El objetivo principal de este trabajo es interpretar las respuestas de la comunidad de macroinvertebrados a los eventos de exposición puntual (24 horas) de una salinidad elevada una vez que ya conocemos que con varios días de exposición el efecto es importante (Cañedo-Argüelles et al., 2012).

Con este objetivo principal partimos de las siguientes hipótesis:

1. La abundancia y riqueza de invertebrados será mayor en el control que en el tratamiento con sal.
2. Algunas familias presentarán una mayor sensibilidad a la salinidad que otras, y por ello serán indicadoras de este aspecto.
3. La riqueza y la abundancia de los macroinvertebrados variará en función del tipo de sustrato.
4. La interacción entre tratamiento y tipo de sustrato será significativa.

3. ZONA DE ESTUDIO

El experimento se realizó dentro del recinto de una planta depuradora que se encuentra aguas arriba de las minas de extracción de sal, cerca de la localidad de Balsareny (41°50'54"N, 1°52'49"E), localizado a unos 60km al norte de Barcelona, España (Fig. 1).

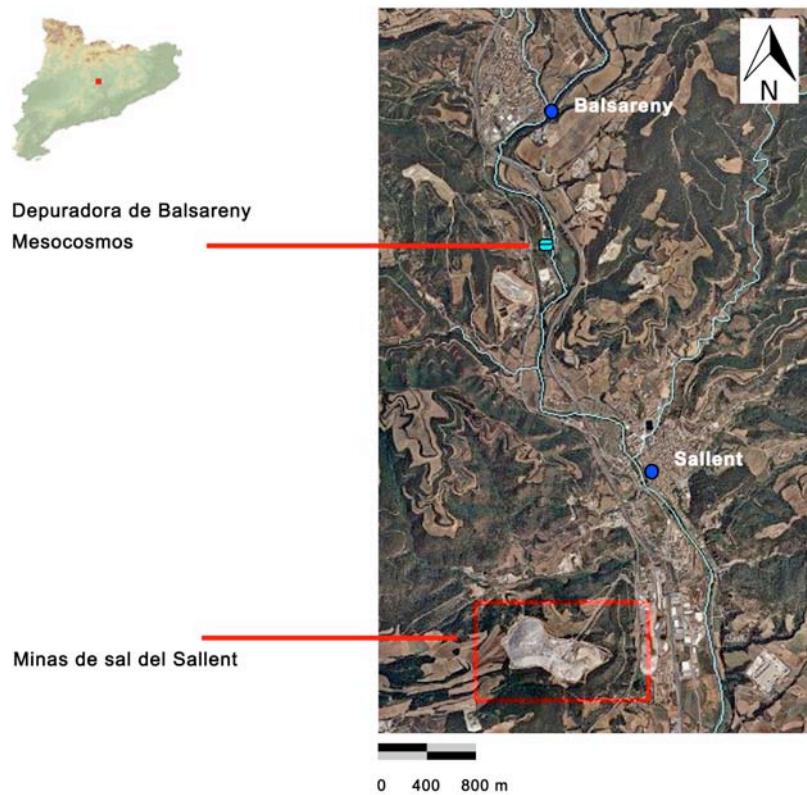


Figura 1. Mapa con la localización del mesocosmos (situado en la depuradora de Balsareny), aguas arriba de las minas de sal del Sallent.

4. METODOLOGÍA

4.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para realizar el experimento del mesocosmos se ha utilizado un total de 6 canales artificiales, 3 canales para el control y 3 canales para el tratamiento con sal. Los canales utilizados son de PVC (Policloruro de vinilo) y miden 2 metros de largo, 12 centímetros de ancho y 8 centímetros de profundidad (Anexo 1). Los canales recibieron el aporte de agua desde un tanque de 4000L, alimentado por una canalización del río Llobregat. Los canales estuvieron recibiendo el aporte de agua bombeada de este tanque desde el día 25/05/2012 hasta el 11/06/2012 para facilitar la colonización de los canales por algas e invertebrados y permitir que la comunidad de macroinvertebrados se estabilizara tal como se hizo en experimentos anteriores (Cañedo-Argüelles et al., 2012). Para añadir la sal, se ha utilizado un tanque de 2000L en el cual se ha mezclado agua del río con sal para generar un agua salina saturada

(Fig. 2). Durante el día de exposición al evento de salinidad, el agua proveniente de este tanque saturado fue subministrado por goteos al depósito de mezcla, lo que permitió mantener una conductividad media cercana a $6790 \mu\text{S cm}^{-1}$ en los canales tratados con sal, mientras que en los canales de control la conductividad media fue de aproximadamente $456 \mu\text{S cm}^{-1}$ (Tab. 1). Todo el sistema tenía un flujo abierto, sin recirculación de agua.

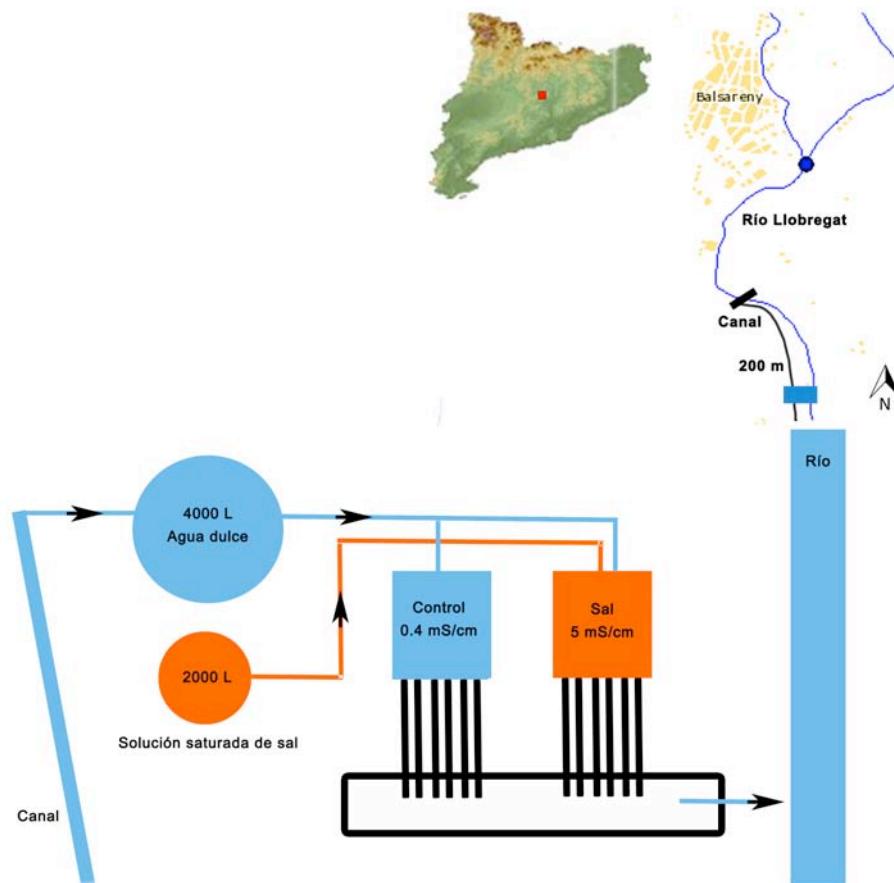


Figura 2. Diseño experimental del mesocosmos, adaptado de Cañedo-Arquelles et al. (2012).

Tabla 1. Valores de conductividad en los tres canales de control y de sal y conductividad media en el día del experimento.

Canal	Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)				\bar{x}
	1	2	3		
Control	458	468	442	456	
Sal	6900	6590	6880	6790	

Para reproducir el ambiente fluvial natural se utilizaron dos tipos de sustrato, piedras y gravas. A lo largo de los canales se podían diferenciar tres secciones: superior, media e inferior. En cada sección había tres piedras, mientras que las gravas fueron dispuestas de forma que cubrieran toda la superficie de los canales. Para garantizar una fuente de alimento y refugio, en los canales se introdujeron 10gr del alga *Cladophora*, que fueron recolectadas directamente del río y que posiblemente contenían algunos organismos, esencialmente quironómidos, aunque estos no han sido contabilizados previamente para el experimento.

4.2. TOMA DE MUESTRAS E IDENTIFICACIÓN

Pasado el periodo de estabilización de los canales, el día 12/06/2012 se inició el experimento que consistía en reproducir un evento de salinización elevada durante un período de 24 horas (como si fuera el resultado de una lluvia intensa caída sobre los desechos salinos existentes en la cuenca). Una vez realizado este experimento, el día 13/06/2006, se realizó el muestreo de los macroinvertebrados filtrando por separado las piedras y las gravas de cada sección con una malla de 250 μ m.

Las muestras de las piedras y de las gravas de cada sección por separado, fueron preservadas en botes con solución de formaldehído a 10% y catalogadas por su pertenencia al: control (C) o a los canales con sal (S); por el número del canal (1, 2, 3); por el tipo de sustrato, grava (G) y piedra (P); y por su posición en el canal, inferior (I), media (M) y superior (S).

Con el objetivo de inferir la densidad de individuos por metro cuadrado, la superficie de las piedras fue calculada utilizando el peso de las hojas de papel de plata necesarias para el recubrimiento de cada piedra (Berney, & Getty, 2006). Así, conociendo una medida concreta de papel de plata en cm⁻² y el peso correspondiente, fue posible calcular el área aproximado de cada piedra y deducir la densidad de individuos por metro cuadrado en las piedras. La densidad de los individuos en las gravas, se calculó usando la superficie del canal que estas recubrían.

La identificación de los individuos se basó en Tachet et al. (2000), y fue realizada a nivel de familia con excepción de la familia Chironomidae que se clasificó a nivel de subfamilia y tribu, así como de la subclase Oligochaeta que no pudo ser clasificada a un rango más detallado.

4.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para realizar los análisis estadísticos se construyeron dos matrices de abundancia y dos matrices de riqueza para observar independientemente las respuestas tanto al tipo de tratamiento como al tipo de sustrato. Se testaron tres tipos de factores: posición en cada canal (inferior, media y superior; total 18 observaciones), tratamiento (control y sal; total 18 observaciones) y tipo de sustrato (grava y piedra; total 36 observaciones). Para todos los análisis estadísticos se utilizó el software RStudio versión 2.15.2 (RStudio, 2012).

La distribución de los datos se visualizó a partir de diagramas de caja. Las diferencias entre grupos en términos de abundancia y riqueza se analizaron usando una análisis de la varianza (ANOVA), que evalúa las diferencias entre la media de grupos. Para posibilitar la normalización de los datos, el ANOVA fue realizado con la matriz de abundancia transformada en logaritmo de base 10. Para visualizar gráficamente la ordenación de la distribución de la comunidad entre los factores de tratamiento y sustrato, se realizó sobre el logaritmo ($x+1$) de la matriz de abundancia un Análisis de Redundancia (RDA), un método que permite estudiar la mayor correlación posible entre variables e interpretar cuales son las variables de mayor peso en la distribución de los organismos. Las diferencias en la abundancia de cada taxón respecto a los factores tratamiento y sustrato, así como la interacción entre ambos se analizó mediante PERMANOVA (Permutational Multivariate Analysis of Variance Using Distance Matrices), un análisis multivariante que tiene en cuenta la abundancia de cada taxón y no solo la abundancia total. Para este análisis se utilizó la función adonis en RStudio 2.15.2 sobre el logaritmo ($x+1$) de la matriz de abundancia. Para todos los análisis se estableció $p<0.05$ como límite para valores significativos.

Para identificar que taxones fueron sensibles al tratamiento (control vs. sal) y a los tipos de sustrato (gravas vs. piedras), se realizó un análisis INDVAL (Valor Indicador) sobre el logaritmo ($x+1$) de la matriz de abundancia. Este análisis combina la abundancia relativa de especies con su frecuencia relativa en grupos establecidos a *priori*, dando como resultado un valor indicador y un máximo grupo de pertenencia. El valor indicador es máximo cuando todos los individuos de una especie se encuentran en un único grupo de muestras, y cuando esa especie se encuentra en todas las muestras de ese grupo (Dufrêne, & Legendre, 1997). Para la interpretación de este índice se estableció $p<0.05$ como valor significativo y los taxones que no superaron un valor indicador ($indval>0.25$) no fueron considerados en los resultados. Para visualizar

gráficamente los taxones significativos al análisis INDVAL en un espacio de dimensión reducida, se realizó un MDS (Multidimensional Scaling) sobre el logaritmo (x+1) de la matriz de abundancia utilizando la distancia de Bray-Curtys.

5. RESULTADOS

La abundancia promedio fue de 6131 individuos por m^{-2} con una riqueza total de 26 taxones representantes de la clase Oligochaeta (1), Bivalvia (1), Gastropoda (3), orden Acari (1) e clase Insecta (20), esta última representada por los órdenes Coleoptera (1), Diptera (11), Ephemeroptera (2), Plecoptera (1), Trichoptera, (5). Entre paréntesis se indica el número de taxones, generalmente familias, excepto en el caso de los quironómidos que se incluyen las subfamilias Tanypodinae, Orthocladiinae y Chironominae y dentro de esta última las tribus Tanytarsinii y Chironomini. Algunos de los taxones identificados en el experimento se registraron en pocas muestras o en una única muestra (Anexo 2, 3 y 4). La lista de taxones es muy similar a la encontrada en los experimentos en los mismos canales anteriormente (Cañedo-Argüelles et al., 2012).

5.1. POSICIÓN DE LAS MUESTRAS EN LOS CANALES

Los análisis de la importancia de la posición del sustrato en los canales experimentales mostró que no había una diferencia significativa ni para la abundancia ni para la riqueza con el tramo de canal ($F=0.481$, $p=0.627$ y $F=1.117$, $p=0.353$) (Tab. 2; Fig. 3), aunque la posición inferior registró mayor abundancia y riqueza (abundancia media = 2583.45 ± 3.94 ; riqueza total = 21) (Tab. 3). Por lo tanto, la posición en los canales se consideró como réplica en el experimento.

Tabla 2. ANOVA de la abundancia y de la riqueza de macroinvertebrados para el factor posición.

Anova Posición	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Abundancia	2	0.0691	0.03456	0.481	0.627
Residuales	15	1.0779	0.07186		
Riqueza	2	9.33	4.667	1.117	0.353
Residuales	15	62.67	4.178		

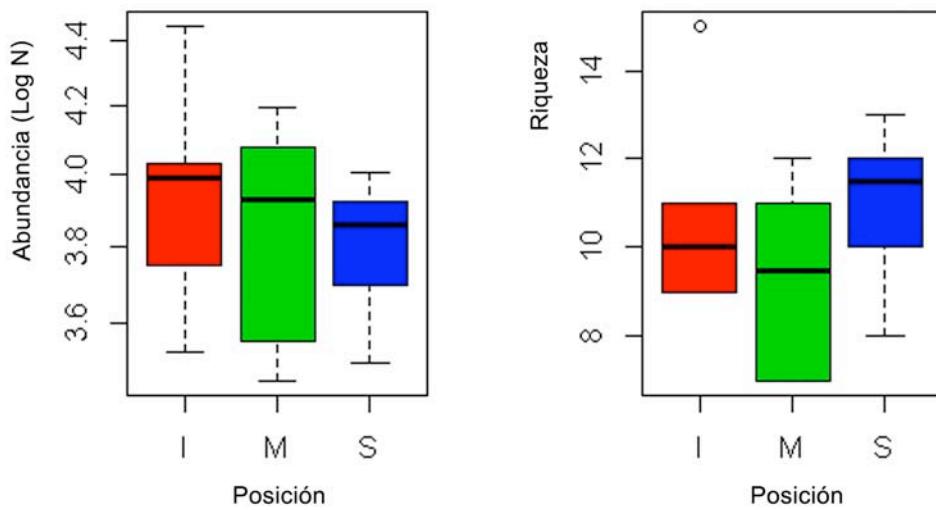


Figura 3. Diagrama de cajas de la abundancia y de la riqueza de macroinvertebrados para las posiciones inferior (I), media (M) y superior (S) de los canales.

Tabla 3. Desviación estándar, media y coeficiente de variación de la abundancia y riqueza de macroinvertebrados en cada una de las tres posiciones, inferior, media y superior de los canales.

Posición	Riqueza	Abundancia (Ind/m ²)			
		σ	\bar{x}	Cv	Total
Inferior	21	10184,63	2583,45	3,94	67169,7
Media	16	7790,06	1966,95	3,96	51140,62
Superior	19	5739,44	1581,38	3,63	4111,86

5.2. TRATAMIENTO CON SAL

Los taxones más abundantes tanto en los canales de control como en los de tratamiento con sal fueron la subfamilia de los quinonómidos, *Orthocladiinae*, seguido por *Oligochaeta* y los miembros de la tribu *Tanytarsinii* (3899.61 ± 4073.45 , 623.56 ± 697.65 y 383.25 ± 396.80 en los canales control y 2771.81 ± 1861.51 , 504.49 ± 443.19 y 359.31 ± 307.53 en los canales con sal) (Anexo 5).

Se observó una mayor abundancia en las muestras de control que en las con sal (abundancia media = 3544.46 ± 3.90 y 2587.32 ± 3.82 respectivamente), y la riqueza no presentó una diferencia evidente entre control y sal (riqueza total = 19 y 20 taxones, respectivamente) (Tab. 4). No se registraron diferencias significativas en términos de la abundancia global y riqueza entre las muestras de control y sal (ANOVA; $F= 0.108$, $p=0.7436$ y $F=0.2$, $p=0.661$, respectivamente) (Fig. 4; Tab. 5). Sin embargo, la diferencia de abundancia de los taxones analizada mediante PERMANOVA resultó significativa ($F=3.3914$, $p=0.010$) (Tab. 11).

Tabla 4. Desviación estándar, media y coeficiente de variación de la abundancia y riqueza de macroinvertebrados para el control y los canales con sal.

Tratamiento	Riqueza	Abundancia (Ind/m ²)			
		σ	\bar{x}	Cv	Total
Control	19	13823,17	3544,46	3,9	92155,88
Sal	20	9879	2587,32	3,82	67270,29

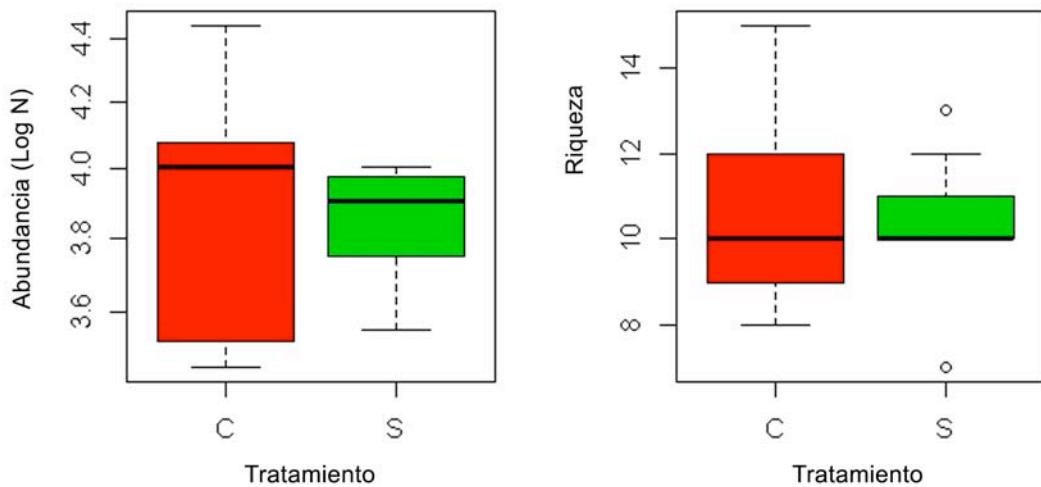


Figura 4. Diagrama de cajas de la abundancia y de la riqueza de macroinvertebrados para el tratamiento de control (C) y de sal (S).

Tabla 5. ANOVA de la abundancia y de la riqueza de macroinvertebrados para el factor tratamiento.

Anova Tratamiento	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Abundancia	1	0.0077	0.0077	0.108	0.7436
Residuales	16	1.1393	0.0712		
Riqueza	1	0.89	0.889	0.2	0.661
Residuales	16	71.11	4.444		

Los taxones que presentaron una sensibilidad significativa al tratamiento con sal según el análisis INDVAL fueron: Simuliidae (indval=0.6179, p=0.003), Hydracarina (indval=0.6311, p=0.02) y Baetidae (indval=0.5596, p=0.032). Para los demás taxones, el valor indicador superior a 0.25 proporcionó información sobre si prevalecen en las muestras de control (Orthocladiinae, Chironomini, Physidae, Rhyacophilidae y Hydropsychidae) o de sal (Tanytarsinii, Oligochaeta, Ceratopogonidae, Elmidae, Empididae, Hydrobiidae, Tanypodinae y Sphaeriidae), pero como en la mayoría de los casos tienen una abundancia muy reducida y están presentes en pocas muestras o en una única muestra, sus asociaciones al grupo de control o sal no fueron significativas (Tab. 6; Anexo 6).

Tabla 6. Valor indicador (INDVAL) de los taxones de macroinvertebrados para el factor tratamiento.

Taxón	Tratamiento		
	Cluster	Indval	p valor
Simuliidae	Control	0,6179	0,003
Hydracarina	Control	0,6311	0,02
Baetidae	Control	0,5596	0,032
Orthocladiinae	Control	0,5035	0,703
Tanytarsinii	Sal	0,5087	0,626
Chironomini	Control	0,5120	0,483
Oligochaeta	Sal	0,5043	0,783
Physidae	Control	0,3632	0,29
Ceratopogonidae	Sal	0,4673	0,097
Elmidae	Sal	0,2837	0,86
Rhyacophilidae	Control	0,3549	0,788
Empididae	Sal	0,3033	0,715
Hydropsychidae	Control	0,3333	0,213
Hydrobiidae	Sal	0,2524	0,729
Tanypodinae	Sal	0,2222	0,452
Sphaeriidae	Sal	0,2222	0,472

5.3. TIPOS DE SUSTRATO

Los taxones más abundantes tanto en gravas como en piedras fueron Orthocladinae, Oligochaeta y Tanytarsinii (4678.69 ± 3906.41 , 949.42 ± 588.02 y 591.49 ± 368.33 en las gravas y 1992.72 ± 1285.35 , 178.63 ± 174.22 y 151.08 ± 118.24 en las piedras) (Anexo 7).

Se observó una mayor abundancia y riqueza en las gravas (abundancia media = 4461.83 ± 3.75 ; riqueza total = 26) que en las piedras (abundancia media = 1669.95 ± 4.20 ; riqueza total = 12) (Tab. 7). Se registraron diferencias significativas en términos de abundancia y riqueza entre sustrato (ANOVA; $F=19.99$, $p=8.25e-05$ y $F=40.03$, $p=3.25e-07$, respectivamente) (Fig. 5; Tab. 8). La diferencia de abundancia por taxón analizada mediante el análisis PERMANOVA también resultó significativa ($F=9.7874$, $p=0.001$) (Tab. 11).

Tabla 7. Desviación estándar, media y coeficiente de variación de la abundancia y riqueza de macroinvertebrados según el tipo de sustrato.

Sustrato	Riqueza	Abundancia (Ind/m ²)			
		σ	\bar{x}	Cv	Total
Grava	26	16712,51	4461,83	3,75	116007,46
Piedra	12	7021,14	1669,95	4,2	43418,71

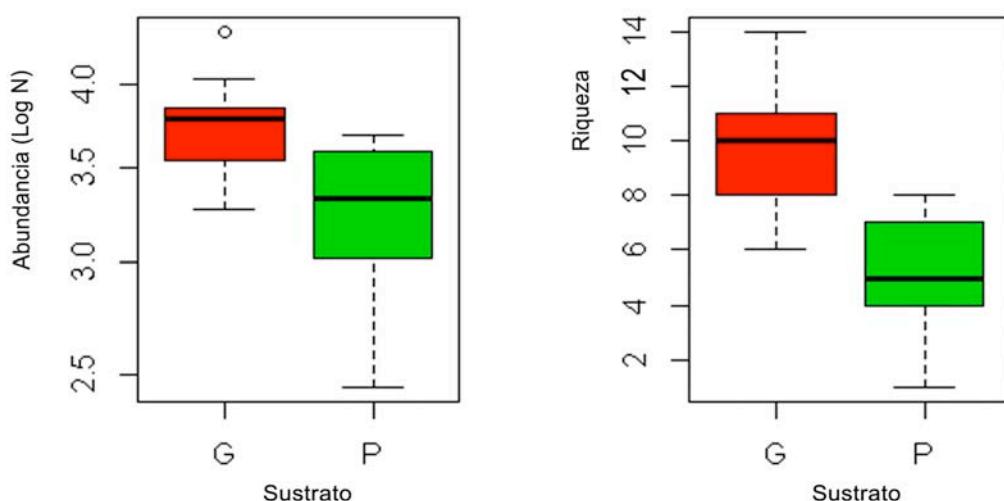


Figura 5. Diagrama de cajas de la abundancia y de la riqueza de macroinvertebrados para el sustrato grava (G) y piedra (P).

Tabla 8. ANOVA de la abundancia y de la riqueza de macroinvertebrados para el factor sustrato.

Anova Sustrato	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Abundancia	1	1.796	1.796	19.99	8.25e-05
Residuales	34	3.055	0.0899		
Riqueza	1	156.2	156.2	40.03	3.25e-07
Residuales	34	132.7	3.9		

Los taxones significativamente asociados a uno de los dos sustratos (todos a las gravas) según el análisis INDVAL fueron: Oligochaeta (indval=0.6055, p=0.001), Tanytarsinii (indval=0.5930, p=0.001), Empididae (indval=0.5555, p=0.001), Orthocladiinae (indval=0.5264, p=0.003), Baetidae (indval=0.6236, p=0.003), Hydracarina (indval=0.5000, p=0.002), Rhyacophilidae (indval=0.4055, p=0.019), Hydrobiidae (indval=0.3461, p=0.031), Chironomini (indval=0.5214, p=0.041). Todos los taxones con valor indicador (>0.25) estuvieron asociados a las gravas (Tab. 9; Anexo 8).

Tabla 9. Valor indicador (INDVAL) de los taxones de macroinvertebrados para el factor sustrato.

Taxón	Sustrato		
	Cluster	Indval	p valor
Oligochaeta	Grava	0,6055	0,001
Tanytarsinii	Grava	0,5930	0,001
Empididae	Grava	0,5555	0,001
Orthocladiinae	Grava	0,5264	0,003
Baetidae	Grava	0,6236	0,003
Hydracarina	Grava	0,5000	0,002
Rhyacophilidae	Grava	0,4055	0,019
Hydrobiidae	Grava	0,3461	0,031
Chironomini	Grava	0,5214	0,041
Simuliidae	Grava	0,4904	0,193
Physidae	Grava	0,1661	0,582
Ceratopogonidae	Grava	0,2583	0,25
Elmidae	Grava	0,2129	0,656
Hydropsychidae	Grava	0,1666	0,219
Tanypodinae	Grava	0,1111	0,51
Sphaeriidae	Grava	0,1111	0,479

5.4. INTERACCIÓN TRATAMIENTO-SUSTRATO

No se registró una interacción significativa entre tratamiento y sustrato para la abundancia y riqueza de invertebrados (ANOVA; $F=0.197$, $p=0.6597$ y $F=0.007$, $p=0.935$, respectivamente) (Tab. 10) y la interacción tampoco fue significativa para la abundancia por taxón (PERMANOVA; $F=1.5699$, $p=0.177$) (Tab. 11). Aun así, el Análisis de Redundancia presentó una correlación significativa entre las variables tratamiento y sustrato ($F= 5.3768$, $p= 0.005$) (Tab. 12) y reforzó la importancia de los diferentes factores ambientales. En este caso se ha podido observar que la mayoría de los taxones se benefician de la ausencia de la sal y de la presencia de las gravas (Anexo 9).

Tabla 10. ANOVA de la abundancia y de la riqueza de macroinvertebrados para la interacción entre el factor tratamiento y sustrato.

Anova Tratamiento: Sustrato	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Abundancia	1	0.0186	0.0186	0.197	0.659794
Residuales	32	3.0137	0.0942		
Riqueza	1	0.03	0.03	0.007	0.935
Residuales	32	131.33	4.10		

Tabla 11. PERMANOVA de la matriz de abundancia de macroinvertebrados para los factores tratamiento (control y sal), sustrato (grava y piedra) y la interacción de estos factores.

Permanova	Df	Sum Sq	Mean Sq	F model	R2	Pr(>F)
Tratamiento	1	0.16437	0.16437	3.3914	0.07255	0.010
Sustrato	1	0.47436	0.47436	9.7874	0.20936	0.001
Tratamiento: Sustrato	1	0.07609	0.07609	1.5699	0.03358	0.177
Residuales	32	1.55093	0.04847		0.68451	
Total	35	2.26575			1.00000	

Tabla 12. Análisis de Redundancia de la matriz de abundancia de macroinvertebrados para los factores tratamiento (control y sal) y sustrato (grava y piedra).

Análisis de Redundancia	Df	Var	F value	N. Perm	Pr(>F)
Modelo Tratamiento: Sustrato	2	8.1379	5.3768	199	0.005
Residuales	33	4.9733			

6. DISCUSIÓN

En el presente estudio no se observó una respuesta significativa de la comunidad de invertebrados en términos de abundancia y riqueza total a exposiciones de salinidad elevada (5mS cm^{-1}) con una duración de 24 horas (hipótesis 1). Sin embargo, se detectaron diferencias significativas en cuanto a la abundancia relativa de cada taxón y hubo taxones con mayor sensibilidad a la concentración de sal estudiada que otros (hipótesis 2). La abundancia y riqueza de invertebrados varió respecto al tipo de sustrato, siendo las gravas el sustrato de preferencia en términos de abundancia y riqueza (hipótesis 3). No se observó interacción entre el tratamiento con sal y el tipo de sustrato, no obstante, se observó que la comunidad establecida se benefició de la ausencia de la sal y de la presencia de las gravas (hipótesis 4).

En un experimento anterior utilizando el mismo mesocosmos (Cañedo-Argüelles et al., 2012), en el que los canales recibieron individuos directamente del río y estuvieron dos semanas para estabilizar la comunidad, se contabilizó una media de 12760 individuos m^{-2} y una riqueza de 26 taxones. Tanto en dicho experimento como en el presente, los taxones Oligochaeta y Chironomidae tuvieron gran peso en la abundancia global de la comunidad. Se puede concluir por tanto, que la comunidad presente en todos dos estudios realizados en el mesocosmos fue similar en términos de composición, facilitando la comparación de resultados. Las diferencias en la media de abundancia por m^{-2} (6131 individuos en el actual experimento y 12760 individuos en el anterior) fueron seguramente debidas al hecho de que Cañedo-Argüelles et al. (2012) traspasaron individuos directamente desde el río a los canales experimentales, mientras que en este caso la comunidad se organizó solo a partir de la deriva del agua que entraba en los canales a partir del canal de derivación de dónde provenía.

El hecho de que ni la abundancia total ni la riqueza, sean diferentes entre los canales control y los expuestos a conductividades superiores a los 5 mS cm^{-1} con duración de 24 horas, corrobora los resultados obtenidos en experimentos anteriores en el mismo mesocosmos por Cañedo-Argüelles et al. (2012), que usando un tratamiento de 5 mS cm^{-1} , sólo observaron diferencias significativas en composición y abundancia de macroinvertebrados en exposiciones de como mínimo 72 horas. De todas formas, al analizar la respuesta de los diferentes taxones a la sensibilidad a la sal en dicho estudio, algunos taxones (Physidae, Baetidae y Simuliidae) estuvieron asociados al control, indicando ser taxones con sensibilidad a la sal. En el presente experimento también se encontraron taxones indicativos de baja tolerancia a la

salinidad, como los Hydracarina, Simuliidae y Baetidae, lo que corrobora que estos taxones sean considerados indicadores de los eventos de salinidad elevada incluso a muy corto término (24 horas).

La sensibilidad de estos taxones ya había sido indicada en estudios previos, por ejemplo en los realizados en ríos mediterráneos (Velasco et al., 2006). Estos autores observaron una correlación negativa en la abundancia de los taxones Baetidae y Simuliidae con la salinización. Según Kefford et al. (2003), el taxón Baetidae presenta gran sensibilidad a la sal (con LC50 entre 5.5 y 6.2 mS cm⁻¹). Por otra parte, los resultados en cuanto al taxón Hydracarina de dicho estudio no coinciden con los obtenidos en este experimento, ya que en el citado estudio se define su tolerancia hasta valores de 39 mS cm⁻¹. Este hecho podría estar relacionado con las diferentes tolerancias a la salinidad entre especies dentro de este orden, ya que en ninguno de los dos estudios se llegó a un nivel de resolución taxonómica mayor. Con los resultados obtenidos se deduce que un pico de salinidad de 24 horas, aún que no afecte a la abundancia y a la riqueza global de la comunidad, puede derivar en la reducción de abundancia de ciertos taxones. En este sentido, los taxones Baetidae y Simuliidae podrían ser utilizados como indicadores de este efecto a corto plazo.

Investigaciones realizadas en el medio natural indican que en concentraciones de aproximadamente 3 y 5 mS cm⁻¹ ocurre la afectación de la comunidad, con disminución de la riqueza y de la diversidad de invertebrados acuáticos (Bunn, & Davies, 1992; Pinder et al. 2005). En el río Llobregat, estudios realizados para observar el impacto de las minas de sal en la comunidad de invertebrados acuáticos revelan que en determinados puntos de muestreo que presentan valores similares a estos, la comunidad es fuertemente afectada (Caus, & Prat, 2010). Esta diferencia entre el efecto de la sal en el medio natural y el observado en el presente experimento es seguramente debido a que la comunidad de macroinvertebrados del mesocosmos era menos compleja (con abundancias bajas de taxones sensibles a la sal, como los EPT). Además, en los estudios de campo, otros factores ambientales podrían estar afectando a la distribución de las comunidades, mientras que en el mesocosmos el único factor de estrés fue la concentración de sal.

Diferentes autores indican que los taxones de los órdenes Ephemeroptera, Trichoptera y Plecoptera (EPT) son buenos indicadores de la calidad del agua (Prat et al., 2008), pero en los canales fueron muy poco frecuentes y abundantes a excepción de los Baetidae. Su ausencia en los canales control, indica que el proceso de

colonización no consiguió reproducir totalmente la comunidad presente en el río, ya que en el punto de muestreo de Balsareny (L68), había, en las mismas fechas, un mayor número de taxones de estos órdenes de los que encontramos en los canales: Ephemeroptera (S=6), Plecoptera (S=1) y Trichoptera (S=7) (Prat, 2012). Según Kefford et al. (2011), estos taxones suelen presentar gran sensibilidad a la sal, siendo muchas veces taxones indicadores del exceso de sal en los ríos. Es probable que si en el actual experimento hubiera la misma comunidad de EPT presente en el río Llobregat, el efecto del tratamiento con la sal hubiera sido más llamativo. De todas formas para los Baetidae, que normalmente son tolerantes a una contaminación orgánica moderada, se cumplió que la salinidad tuvo un efecto importante sobre su abundancia.

En este experimento se ha detectado una diferencia significativa de abundancia y riqueza para el tipo de sustrato, siendo tanto una como la otra mayor para las gravas. Además, de acuerdo con el análisis INDVAL, se observó una preferencia de los taxones hacia las gravas. Esto parece indicar que en las condiciones artificiales del mesocosmos las gravas ofrecen mayores posibilidades de refugio y alimento. Hay que tener en cuenta que se observaron individuos en general muy pequeños, que son los que tienen una mayor posibilidad de vivir y de refugiarse entre los espacios intersticiales de las gravas (Hanson et al., 2010), y que los taxones de mayor abundancia (Oligochaeta, Orthocladiinae y Tanytarsinii), que tuvieron un gran peso en los resultados, tienen una preferencia alimentaria detritívora y que por ello suelen estar más presentes en sedimentos donde hay un acumulo de partículas orgánicas (Escudero, 2009) . Estudios anteriores revelan una preferencia de los invertebrados a colonizar las piedras pequeñas, ya que estas soportan mejor el estrés hídrico provocado por las crecidas que las gravas (Jowett, 2003; Korte, 2010), que pueden ser más fácilmente arrastradas (Colin, 1997). La ausencia de este estrés hídrico también puede haber favorecido la colonización de las gravas en los canales.

En principio cabría plantear que los individuos establecidos en las piedras estarían más expuestos al tratamiento de sal que aquellos refugiados en los espacios intersticiales de la grava. Sin embargo, no hubo diferencias en la interacción entre la sal y el sustrato a pesar de que la riqueza en las gravas fue mucho mayor que en las piedras. Por lo expuesto anteriormente, podemos afirmar que la sal afecta la comunidad de invertebrados independiente del hábitat y que a pesar de que diversos taxones tuvieron una mayor densidad en las gravas, éstas no garantizaron una protección en cuanto a la sal, y que los individuos fueron igual de afectados que en las

piedras. La mayor riqueza y abundancia en las gravas podría estar asociada a factores como la mayor disponibilidad de refugio y de alimento en un ambiente adverso pero no a la protección cuanto a la sal ya que esta interacción de factores no resultó significativa.

7. CONCLUSIONES

Se puede considerar que los picos de corta duración de salinidad no afectan de forma general a la comunidad de invertebrados acuáticos. La no diferencia de abundancia y riqueza a una exposición a la sal de corta duración, refuerza la tesis de que existe una tolerancia inicial de los taxones a este factor de estrés. No obstante, esto no es igual para todos los taxones, ya que algunos presentan una mayor sensibilidad y disminuyen significativamente en los picos de sal asociados a lluvias fuertes y de corta duración. Se puede afirmar, pues, que los taxones Baetidae y Simuliidae responden rápidamente a los picos de salinidad siendo indicadores de estos eventos.

La preferencia de los taxones por las gravas indica que los organismos tienden a refugiarse en ellas ante un ambiente adverso, poniendo en evidencia que la heterogeneidad del sustrato debería ser siempre considerada en futuros experimentos en los mesocosmos, ya que si solo exponemos sustratos duros los resultados pueden ser algo diferentes. Sin embargo, aunque las gravas puedan haber actuado como refugio en un ambiente adverso, no han ofrecido protección contra los efectos de la sal, evidenciando que la sal afecta la comunidad de macroinvertebrados en los diferentes hábitats.

En el clima mediterráneo, el régimen de precipitaciones se caracteriza por eventos cortos e intensos, lo que provoca un rápido aumento de la conductividad y una lenta disolución. Nuestro experimento demuestra que los episodios cortos de pico de sal que multiplican por 10 la conductividad, son tolerados por la mayoría de los taxones presentes en los canales donde se ha realizado el experimento, con lo cual complementamos los resultados obtenidos anteriormente, verificando que estos eventos cortos a pesar de disminuir la abundancia de algunos taxones no afectan la comunidad.

8. RECOMENDACIONES PARA EXPERIMENTOS FUTUROS

La utilización de mesocosmos nos permite identificar las respuestas de la comunidad de macroinvertebrados a un determinado factor y extrapolarla al ambiente natural, disminuyendo el riesgo de la interferencia de otras variables ecológicas, garantizando así una complementación de datos experimentales y de campo. Los resultados obtenidos pueden propiciar bases para futuros experimentos, en los cuales se podrían recomendar algunos estudios:

- 1) El efecto de repetidas exposiciones de corta duración que permitan perfilar mucho más como es la recuperación de la comunidad de macroinvertebrados.
- 2) Exposiciones a distintas concentraciones de sal durante una larga duración y observar si se produce la recuperación de la comunidad una vez restablecido un equilibrio en el medio.
- 3) Efecto de la sal en las interacciones tróficas y en diferentes procesos del ecosistema (por ejemplo la descomposición de hojarasca).
- 4) Proporcionar flujos hídricos variables y turbulentos para observar las posibles preferencias de la comunidad al tipo de sustrato.

9. BIBLIOGRAFIA

Bäthe, J. & Coring, E. (2011). Biological effects of anthropogenic salt-load on the aquatic fauna: a synthesis of 17 years of biological survey on the rivers Werra and Weser. *Limnologica* 41 (2): 125-133.

Beisel, J.N.; Usseglio-Polatera, P.; Thomas, S. & Moreteau, J.C. (1998). Stream community structure in relation to spatial variation: the influence of mesohabitat characteristics. *Hydrobiologia* 389: 73-88.

Berezina, N.A. (2003). Tolerance of Freshwater Invertebrates to Changes in Water Salinity. *Russian Journal of Ecology* 34(4):261-266.

Bergey, E. & Getty, G. (2006). A Review of Methods for Measuring the Surface Area of Stream Substrates. *Hydrobiologia* 556: 7-16.

Bond, N.R. & Downes, B.J. (2003). The independent and interactive effects of fine sediment and flow on benthic invertebrate communities characteristic of small upland streams. *Freshwater Biology* 48: 455-465.

Braukmann, U. & Böhme, D. (2011). Salt pollution of the middle and lower sections of the river Werra (Germany) and its impact on the benthic macroinvertebrates. *Limnologica* 41 (2): 113-124.

Bunn, S. E. & Davies, P. M. (1992). Community structure of the macroinvertebrate fauna and water quality of a saline river system in south-western Australia. *Hydrobiologia* 248: 143-160.

Cañedo-Argüelles, M.; Bundschuh, M.; Gutiérrez-Cánovas, C.; Kefford, B.J.; Prat, N.; Trobajo, R. & Schäfer, R.B. in press. Effects of repeated salt pulses on ecosystem structure and functions in a stream mesocosm. *Environmental Pollution*. (en revisión).

Cañedo-Argüelles, M.; Grantham, T.E.; Perrée, I.; Rieradevall; M., Céspedes-Sánchez, R. & Prat, N. (2012). Response of stream invertebrates to short-term salinization: A mesocosm approach. *Environmental Pollution* 166: 144-151.

Cañedo-Argüelles, M.; Kefford, B.J.; Pscart, C.; Prat, N.; Schäfer, R.B. & Schulz, C.J. (2013). Salinization of rivers: an urgent ecological issue. *Environmental Pollution* 173: 157-167.

Carver, S.; Storey, A.; Spafford, H.; Lynas, J.; Chandler, L. & Weinstein, P. (2009). Salinity as a driver of aquatic invertebrate colonisation behaviour and distribution in the wheatbelt of Western Australia. *Hydrobiologia* 617: 75-90.

Caus, M. & Prat, N. (2010). Estudi de la qualitat de l'aigua del riu Llobregat i afluents pròxims als runams salins del Bages. University of Barcelona, 33 pp.

Colin, R.T. & Scarsbrook, M.R. (1997). The intermediate disturbance hypothesis, refugia, and biodiversity in streams. *American Society of Limnology and Oceanography* 42(5): 938-949.

Crosa, G.; Froebrich, J.; Nikolayenko, V.; Stefani, F.; Galli, P. & Calamari, D. (2006). Spatial and seasonal variations in the water quality of the Amu Darya River (Central Asia). *Water Research* 40 (11): 2237-2245.

Dikio, E.D. (2010). Water quality evaluation of Vall river, Sharpeville and Bedworth lakes in the Vaal region of south Africa. *Research Journal of Applied Sciences, engineering and Technology* 2 (6): 574-579.

Dufrêne, M. & Legendre, P. (1997). Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecological Monographs* 67: 354-366.

Escudero, J.O. (2009). Guia de campo – Macro-invertebrados de la cuenca del Ebro. Confederación Hidrográfica del Ebro. 126pp.

Franco, N.M. (2012). Salinització dels rius per la indústria minera. Estudi de la comunitat de algas. Treball de recerca 2n batxillerat. Disponible en: http://www.ub.edu/fem/docs/treballs/Natalia_Franco_treball_salinitat_2012.pdf

Fritz, K.M.; Fulton, S.; Johnson, B.R.; Barton, C.D.; Jack, J.D.; Word, D.A. & Burke, R.A. (2010). Structural and functional characteristics of natural and constructed channels draining a reclaimed mountaintop removal and valley fill coal mine. *Journal of the North American Benthological Society* 29 (2): 673-689.

Grantham, T.E.; Cañedo-Argüelles, M.; Perrée, I.; Rieradevall, M. & Prat, N. (2012). A mesocosm approach for detecting stream invertebrate community responses to treated wastewater effluent. *Environmental Pollution* 160: 95-102.

Hanson, P.; Springe, M. & Ramirez, A. (2010). Introducción a los grupos de macroinvertebrados acuáticos. *Revista de Biología Tropical* 58(4): 3-37.

Hart, B.T.; Bailey, P.; Edwards, R.; Horte, K.; James, K.; McMahon, A.; Meredith, C. & Swadling, K. (1991). A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota. *Hydrobiologia* 210: 105-144.

Horrigan, N., Choy, S., Marshall, J. & Recknagel, F. (2005). Response of stream macroinvertebrates to changes in salinity and the development of a salinity index. *Marine and Freshwater Research* 56(6): 825-833.

Jowett, I.G. (2003). Hydraulic constraints on habitat suitability for benthic invertebrates in gravel-bed rivers. *River Research and Applications* 19: 495-507.

Kaushal, S.S.; Groffman, P.M.; Likens, G.E.; Belt, K.T.; Stack, W.P.; Kelly, V.R.; Band, L.E. & Fisher, G.T. (2005). Increased salinization of fresh water in the northeastern United States. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (38): 13517-13520.

Kefford, B.J.; Papas, P.J. & Nugegoda, D. (2003). Relative salinity tolerance of macroinvertebrates from the Barwon River, Victoria, Australia. *Marine and Freshwater Research* 54(6): 755 -765 .

Kefford, B.J.; Nugegoda, D.; Metzeling, L. & Fields, E.J. (2006) Validating species sensitivity distributions using salinity tolerance of riverine macroinvertebrates in the southern Murray-Darlin Basin (Victoria, Australia). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 63: 1865-1877.

Kefford, B.J.; Marchant, R.; Schäfer, R.B.; Metzelingd, L.; Dunlop, J.E.; Choy, S.C. & Goonan, P. (2011). The definition of species richness used by species sensitivity distributions approximates observed effects of salinity on stream macroinvertebrates. *Environmental Pollution* 159: 302-310.

Korte, T. (2010). Current and substrate preferences of benthic invertebrates in the rivers of the Hindu Kush-Himalayan region as indicators of hydromorphological degradation. *Hydrobiologia* 651:77-91.

Lamberti, G.A. & Steinman, A.D. (1993). Research in artificial streams – applications, uses, and abuses. *Journal of the North American Benthological Society* 12: 313-384.

Ledger, M.E.; Harris, R.M.L.; Milner, A.M.M. & Armitage, P.D. (2006). Disturbance, biological legacies and community development in stream mesocosms. *Oecologia* 148: 682-691.

Lerotholi, S.; Palmer, C.G. & Rowntree, K. (2004). Bioassessment of a River in a Semi-arid, Agricultural Catchment, Eastern Cape. In: Proceedings of the 2004 Water Institute of Southern Africa (WISA) Biennial Conference, Cape Town, South Africa. 388-344.

Létolle, R. & Chesterikoff, A. (1999). Salinity of surface waters in the Aral sea region. *International Journal of Salt Lake Research* 8 (4): 293-306.

Millennium Ecosystem Assessment (2005). Ecosystems and Human Well-being: Synthesis. Island Press, Washington, DC. 155pp.

Montes, C. & Martino, P. (1987). Las lagunas Salinas españolas. En: Bases científicas para la protección de los humedales españoles. Real Academia de Ciencias exactas, Físicas y Naturales de Madrid, Madrid, España. 95-145pp.

Mushal, M. (2006). Assessment of risk to aquatic biota from elevated salinity – a case study from the Hunter River, Australia. *Journal of Environmental Management* 79 (3): 266-278.

Odum, E.P. (1984). The mesocosm. *BioScience* 34: 558-562.

Ormerod, S.J.; Dobson, M.; Hildrew, A.G. & Townsend, C.R. (2010). Multiple stressors in freshwater ecosystems. *Freshwater Biology* 55: 1-4.

Palmer, M.A.; Bernhardt, E.S.; Schlesinger, W.H.; Eshleman, K.N.; Foufoula-Georgiu, E.; Hendryx, M.S.; Lemly, A.D.; Likens, G.E.; Loucks, O.L.; Power, M.E.; With, P.S. & Wilcock, P.R. (2010). Mountaintop mining consequences. *Science* 327 (5962): 148-149.

Pearson, R.G. & Connolly, N.M. (2000). Nutrient enhancement, food quality and community dynamics in a tropical rainforest stream. *Freshwater Biology* 43: 31-42.

Petersen, J.E. & Englund, G. (2005). Dimensional approaches to designing better experimental ecosystems: a practitioners guide with examples. *Oecologia* 145: 216-224.

Pinder, A.M.; Halse, S.A.; McRae, J.M. & Shiel, R.J. (2005). Occurrence of aquatic invertebrates of the wheatbelt region of Western Australia in relation to salinity. *Hydrobiologia* 543:1-24.

Piscart, C.; Lecerf, A.; Usseglio-Polatera, P.; Moreteau, J.C. & Beisel, J.N. (2005a). Biodiversity patterns along a salinity gradient: the case of net-spinning cad-disflies. *Biodiversity and Conservation* 14 (9): 2235-2249.

Piscart, C.; Moreteau, J.C. & Beisel, J.N. (2005b). Biodiversity and structure of macroinvertebrate communities along a small permanent salinity gradient (Meurthe river, France). *Hydrobiologia* 551 (1): 227-236.

Pond, G.J.; Passmore, M.E.; Borsuk, F.A.; Reynolds, L. & Rose, C.J. (2008). Downstream effects of mountaintop coal mining: comparing biological conditions using family- and genus-level macroinvertebrate bioassessment tools. *Journal of the North American Benthological Society* 27 (3): 717-737.

Prat, N.; Acosta, R. & Rieradevall, M. (2008). Los macroinvertebrados como bioindicadores de la calidad de las aguas. Pàgs. 631-654. In: Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Dominguez, E. & Fernandez, H.R. (Eds). Publicación especial. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.

Prat, N. (2012). Diagnosi Ambiental de les conques dels rius de la província de Barcelona. Informe 2012. FEM (Freshwater Ecology and Management). Departament d'Ecologia, Universitat de Barcelona. 50pp.

Ricart, M.; Guasch, H.; Barceló, D.; Brix, R.; Conceição, M.H.; Geiszinger, A.; Alda, M.J.L.D., López-Doval, J.C.; Muñoz, I.; Postigo, C.; Romaní, A.M.; Villagrassa, M. & Sabater, M. (2010). Primary and complex stressors in polluted Mediterranean rivers: Pesticide effects on biological communities. *Journal of Hydrology* 383: 52-61.

Rios, L.R. (2011). Salinització: El riu Llobregat i la meneria de la Potassa al Bages: una activitat econòmica i alhora, una irresponsabilitat ambiental. *Papers de Sostenibilitat* 29: 1-20.

Rovira, M.F. (2008). La conca salina del Bages i la qualitat de l'aigua del Llobregat. Escola Politècnica superior d'Enginyeria de Manresa. Departament d'Enginyeria Minera i Recursos Naturals. Universitat Politecnica de Catalunya. 235pp.

RStudio (2012). RStudio: Integrated development environment for R (Version 2.15.2) [Computer software]. Boston, MA. Retrieved May 20, 2012. Available from <http://www.rstudio.org/>.

Smedema, L.K. & Shiati, K. (2002). Irrigation and salinity: a perspective review of the salinity hazards of irrigation development in the arid zone. *Irrigation and Drainage Systems* 16 (2): 161-174.

Tachet, H.; Richoux, P.; Ournaud, M. & Usseglio-Polatera, P. (2000). Invertebrés d'Eau Douce. Systematique, Biologie, Ecologie (Freshwater Invertebrates. Taxonomy, Biology, Ecology). CNRS Editions: Paris. 588 pp.

Velasco, J.; Millán, A.; Hernández, J.; Gutiérrez, C.; Abellán, P.; Sanchez, D. & Ruiz, M. (2006). Response of biotic communities to salinity changes in a Mediterranean hypersaline stream. *Saline Systems* 2: 12.

Williams, W.D. (2001). Anthropogenic salinization of inland waters. *Hydrobiologia* 446 (1): 329-337.

Williams, M.L.; Palmer, C.G. & Gordon, A.K. (2003). Riverine macroinvertebrate responses to chlorine and chlorinated sewage effluents – acute chlorine tolerances of *Baetis harrisoni* (Ephemeroptera) from two rivers in KwaZulu-Natal, South Africa. *Water SA* 29 (4): 483-487.

Ziemann, H.; Kies, L. & Schulz, C.J. (2001). Desalination of running waters III. Changes in the structure of diatom assemblages caused by a decreasing salt load and changing ion spectra in the river Wipper (Thuringia, Germany). *Limnologica* 31: 257-280.

ANEXOS

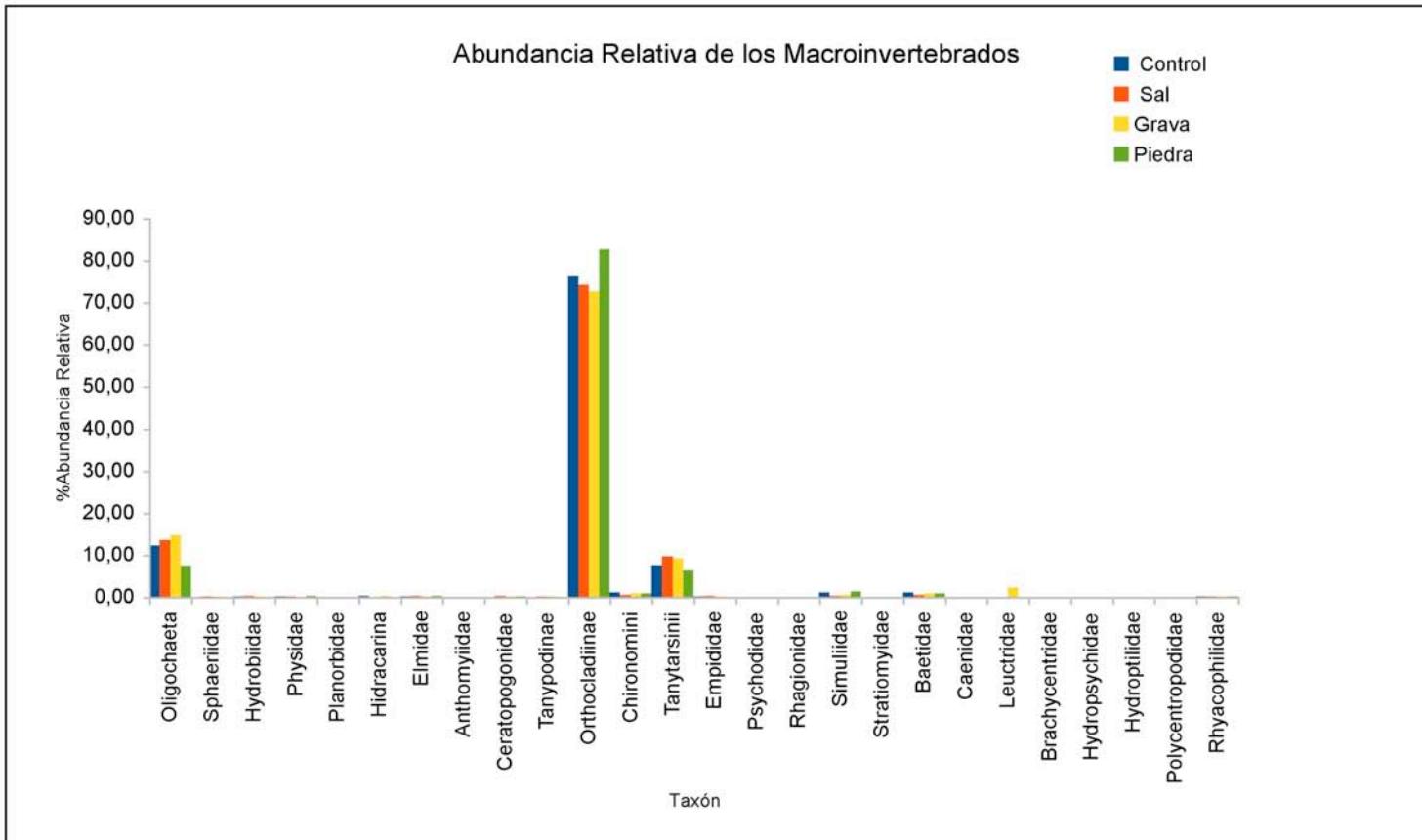


Anexo 1. Mesocosmos con los canales dispuestos en grupos de tres.

Anexo 2. Abundancia de macroinvertebrados por metro cuadrado de las muestras del control (C), para cada uno de los tres canales (C1, C2, y C3). Se indica también si es una muestra con gravas (G) o piedras (P) y la posición que ocupaba en cada canal, inferior (I), media (M) y superior (S).

Tratamiento	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Canal	C1	C1	C1	C1	C1	C1	C2	C2	C2	C2	C2	C3	C3	C3	C3	C3	C3	C3
Sustrato	G	P	G	P	G	P	G	P	G	P	G	P	G	P	G	P	G	P
Posición	I	I	M	M	S	S	I	I	M	M	S	I	I	M	M	S	S	S
Oligochaeta	783,58	544,79	833,33	326,52	1666,67	488,26	2699,00	159,78	1430,35	426,44	820,90	172,36	186,57	0,00	136,82	0,00	497,51	51,27
Sphaeriidae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hydrobiidae	0,00	0,00	12,44	0,00	62,19	0,00	12,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Physidae	0,00	64,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	19,97	0,00	0,00	12,44	0,00	0,00	0,00	37,31	0,00	12,44	0,00
Planorbidae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	19,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hidracarina	12,44	0,00	12,44	0,00	12,44	0,00	62,19	0,00	24,88	0,00	24,88	0,00	49,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Elmidae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	14,80	12,44	19,97	12,44	0,00	24,88	19,15	24,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Anthomyiidae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ceratopogonidae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,44	0,00	0,00	12,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,44	0,00
Tanypodinae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Orthocladiinae	5124,38	2739,98	5348,26	4201,19	1405,47	1568,36	18022,39	4314,13	8333,33	4070,56	4079,60	3600,37	2500,00	284,31	1579,60	875,94	1529,85	615,19
Chironomini	74,63	32,05	124,38	0,00	74,63	44,39	286,07	19,97	74,63	38,77	37,31	57,45	0,00	0,00	0,00	78,21	62,19	17,09
Tanytarsinii	820,90	464,68	621,89	174,14	696,52	147,96	1517,41	279,62	820,90	116,30	534,83	268,11	236,32	0,00	49,75	0,00	149,25	0,00
Empididae	12,44	0,00	0,00	0,00	12,44	0,00	12,44	0,00	12,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,44	0,00	0,00	0,00
Psychodidae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rhagionidae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Simuliidae	24,88	64,09	111,94	21,77	37,31	88,77	49,75	119,84	99,50	58,15	87,06	76,60	12,44	0,00	24,88	15,64	37,31	51,27
Stratiomyidae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Baetidae	12,44	16,02	111,94	0,00	49,75	14,80	136,82	0,00	62,19	116,30	186,57	76,60	24,88	0,00	0,00	31,28	99,50	17,09
Caenidae	0,00	0,00	0,00	0,00	12,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Leuctridae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Brachycentridae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hydropsychidae	0,00	0,00	12,44	0,00	0,00	0,00	12,44	0,00	12,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hydroptilidae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Polycentropodidae	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,44	0,00	0,00	0,00	0,00
Rhyacophilidae	0,00	0,00	12,44	0,00	0,00	14,80	49,75	0,00	12,44	0,00	12,44	0,00	0,00	12,44	0,00	0,00	0,00	0,00

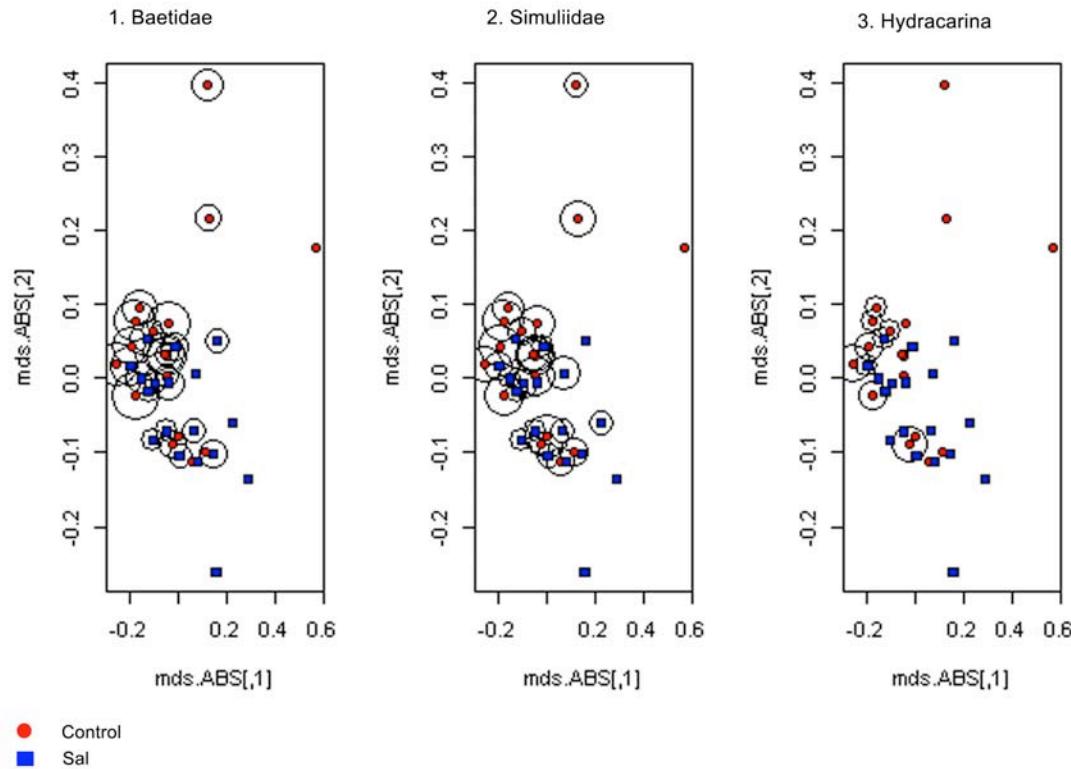
Anexo 3. Abundancia de macroinvertebrados por metro cuadrado de las muestras del tratamiento con sal (S), para cada uno de los tres canales (C1, C2, y C3). Se indica también si es una muestra con gravas (G) o piedras (P) y la posición que ocupaba en cada canal, inferior (I), media (M) y superior (S).



Anexo 4. Grafico del porcentaje de la abundancia relativa observada para cada taxón de macroinvertebrados considerando el tratamiento (control y sal) y el tipo de sustrato (grava y piedra).

Anexo 5. Media y desviación estándar de la abundancia de cada taxón de macroinvertebrados para el control y para el tratamiento con sal.

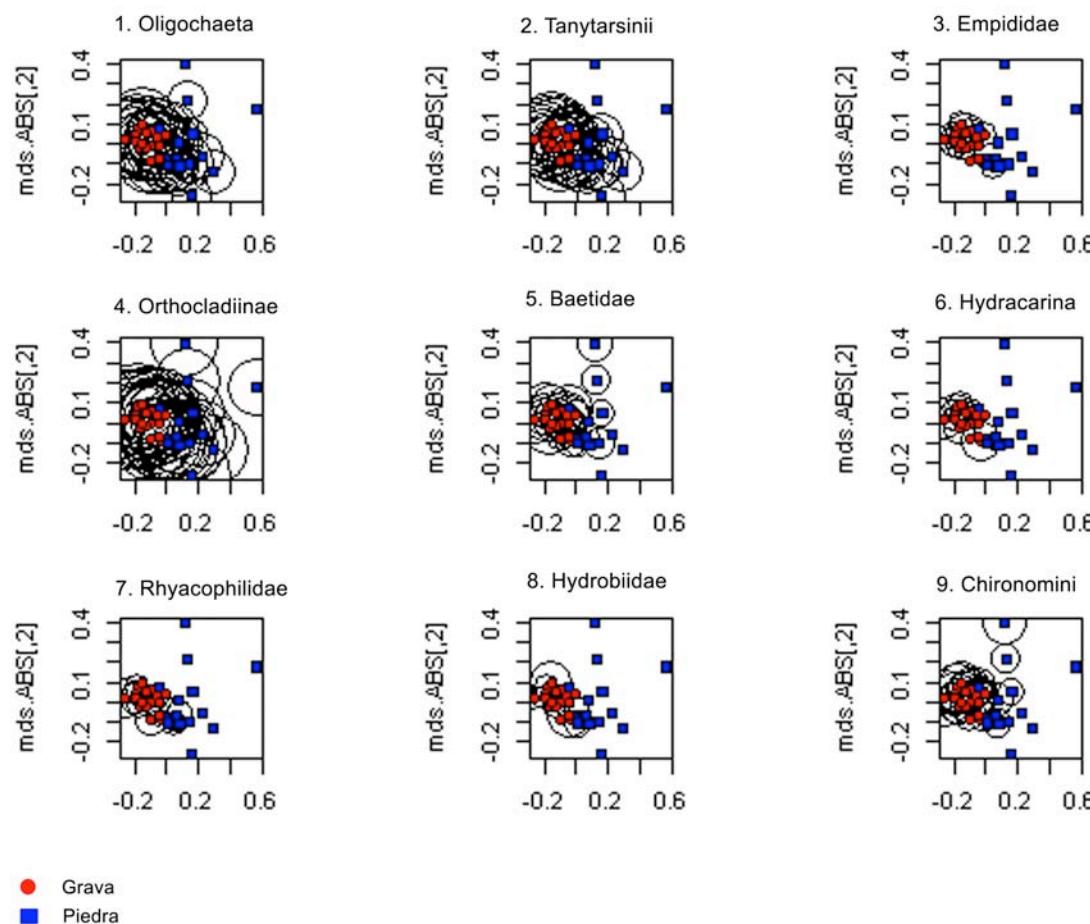
Tratamiento	Control			Sal		
	$\bar{x} \pm \sigma$			$\bar{x} \pm \sigma$		
Orthocladiinae	3899,61	±	4073,45	2771,81	±	1861,51
Oligochaeta	623,56	±	697,65	504,49	±	443,19
Tanytarsinii	383,25	±	396,80	359,31	±	307,53
Chironomini	56,76	±	66,81	17,76	±	24,59
Simuliidae	54,51	±	36,07	10,82	±	11,51
Baetidae	53,12	±	56,06	18,66	±	20,05
Hydracarina	11,06	±	18,54	1,38	±	4,02
Physidae	8,13	±	17,18	2,81	±	6,89
Elmidae	7,14	±	9,74	7,97	±	13,69
Rhyacophilidae	6,35	±	12,34	5,59	±	9,89
Hydrobiidae	4,84	±	14,86	6,95	±	17,72
Empididae	3,45	±	5,73	6,91	±	13,64
Ceratopogonidae	2,07	±	4,77	7,57	±	11,16
Hydropsychidae	2,07	±	4,77	0,00	±	0,00
Planorbidae	1,08	±	4,57	0,00	±	0,00
Anthomyiidae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Caenidae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Rhagionidae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Polycentropodidae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Tanypodinae	0,00	±	0,00	6,22	±	23,46
Sphaeriidae	0,00	±	0,00	5,53	±	18,21
Hydroptilidae	0,00	±	0,00	0,69	±	2,93
Leuctridae	0,00	±	0,00	0,69	±	2,93
Psychodidae	0,00	±	0,00	0,69	±	2,93
Stratiomyidae	0,00	±	0,00	0,69	±	2,93
Brachycentridae	0,00	±	0,00	0,69	±	2,93



Anexo 6. Gráfico MDS (Multidimensional Scaling) de los taxones indicadores en INDVAL (control vs. sal). Baetidae (indval=0.5596, p=0.032), Simuliidae (indval=0.6179, p=0.003) y Hidracarina (indval=0.6311, p=0.02).

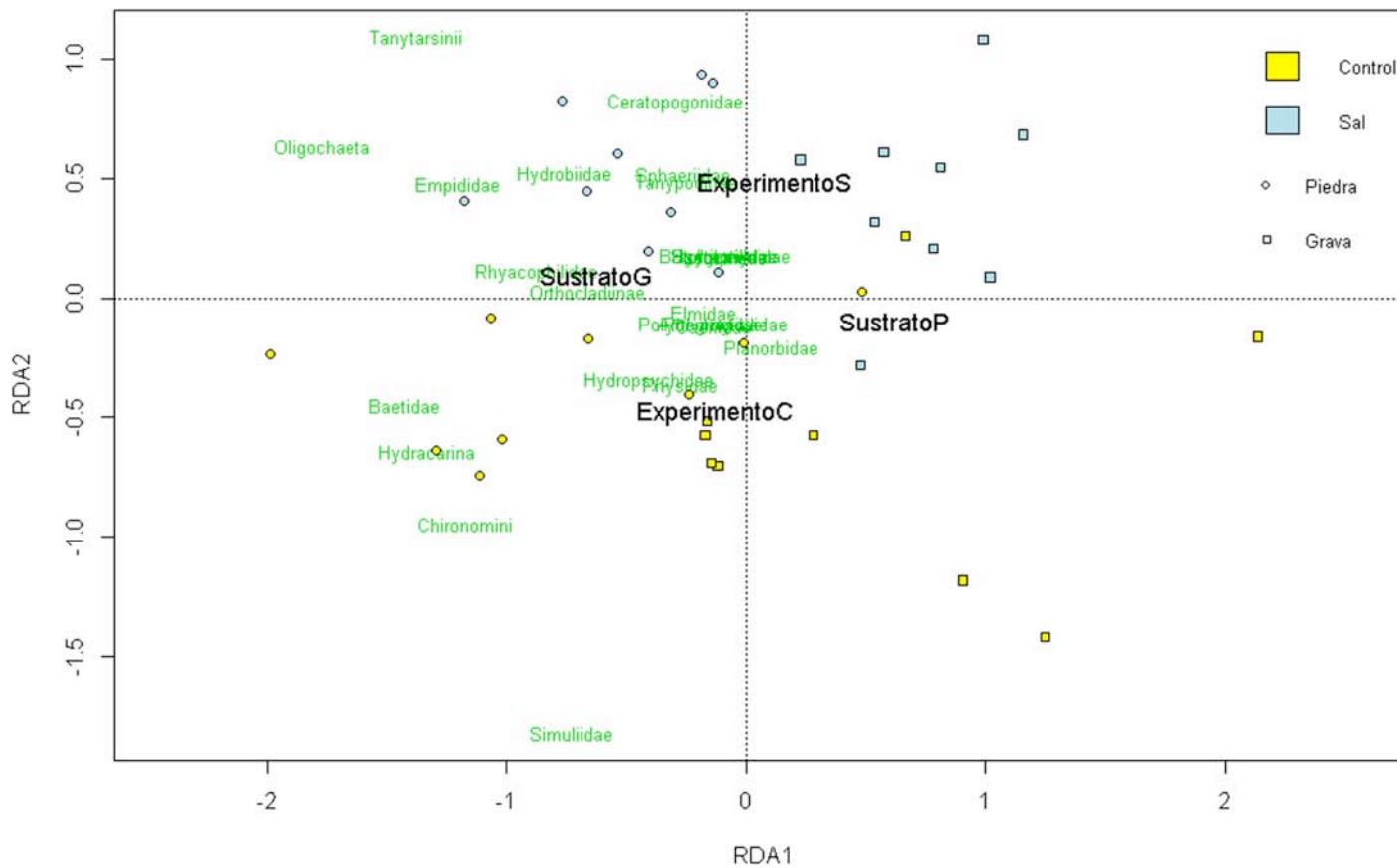
Anexo 7. Media y desviación estándar de la abundancia de cada taxón de macroinvertebrados según el tipo de sustrato.

Sustrato	Grava			Piedra		
	$\bar{x} \pm \sigma$			$\bar{x} \pm \sigma$		
Orthocladiinae	4678,69	±	3906,41	1992,72	±	1285,35
Oligochaeta	949,42	±	588,02	178,63	±	174,22
Tanytarsinii	591,49	±	368,33	151,08	±	118,24
Chironomini	55,28	±	68,15	19,25	±	23,27
Baetidae	53,21	±	50,98	18,58	±	30,64
Simuliidae	33,17	±	33,32	32,16	±	36,52
Hydracarina	12,44	±	18,10	0,00	±	0,00
Hydrobiidae	11,06	±	21,71	0,73	±	3,11
Empididae	10,36	±	12,97	0,00	±	0,00
Rhyacophilidae	9,67	±	13,19	2,27	±	6,88
Elmidae	8,98	±	14,02	6,13	±	9,04
Tanypodinae	6,22	±	23,46	0,00	±	0,00
Physidae	5,53	±	10,64	5,40	±	15,63
Sphaeriidae	5,53	±	18,21	0,00	±	0,00
Ceratopogonidae	5,53	±	7,66	4,11	±	10,18
Hydropsychidae	2,07	±	4,77	0,00	±	0,00
Anthomyiidae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Caenidae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Rhagionidae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Polycentropodidae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Hydroptilidae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Leuctridae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Psychodidae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Stratiomyidae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Brachycentridae	0,69	±	2,93	0,00	±	0,00
Planorbidae	0,00	±	0,00	1,08	±	4,57



Anexo 8. Gráfico MDS (Multidimensional Scaling) de los taxones indicadores en INDVAL del sustrato (grava vs. piedra).

Oligochaeta (indval=0.6055, p=0.001), Tanytarsinii (indval=0.5930, p=0.001), Empididae (indval=0.5555, p=0.001), Orthocladiinae (indval=0.5264, p=0.003), Baetidae (indval=0.6236, p=0.003), Hydracarina (indval=0.5000, p=0.002), Rhyacophilidae (indval=0.4055, p=0.019), Hydrobiidae (indval=0.3461, p=0.031), Chironomini (indval=0.5214, p=0.041)



Anexo 9. Gráfico del análisis RDA (Redundancy Analysis). Existe una correlación significativa ($F=5.3768$, $p=0.005$) de los factores tratamiento (Control vs. Sal) y sustrato (Grava vs. Piedra) para la distribución de los taxones de macroinvertebrados.