

## **TÍTULO**

## **META-ANÁLISIS**

DIATOMEAS COMO BIOINDICADORES DE LA CALIDAD DEL AGUA EN AMBIENTES AFECTADOS POR DRENAJE ÁCIDO DE MINA DE LA FAJA PIRÍTICA IBÉRICA

## AUTORA

## Paola Beatriz Tron Escobosa

Esta edición electrónica ha sido realizada en 2021			
Director	Dr. D. Francisco Córdoba García		
Instituciones	Universidad Internacional de Andalucía ; Universidad de Huelva		
Curso	Máster Oficial Interuniversitario en Tecnología Ambiental (2020/21)		
©	Paola Beatriz Tron Escobosa		
©	De esta edición: Universidad Internacional de Andalucía		
Fecha documento	2021		





Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0)

Para más información: https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.en

Universidad Internacional de Andalucía, 2022



# META-ANÁLISIS: DIATOMEAS COMO BIOINDICADORES DE LA CALIDAD DEL AGUA EN AMBIENTES AFECTADOS POR DRENAJE ÁCIDO DE MINA DE LA FAJA PIRÍTICA IBÉRICA

Paola Beatriz Tron Escobosa

Trabajo entregado para la obtención del grado de

## MÁSTER EN TECNOLOGÍA AMBIENTAL

Modalidad: Profesional

15 de diciembre del 2021

Curso: 2020/2021

Director:

Dr. Francisco Córdoba García

El D. Francisco Córdoba García, Catedrático de Universidad, Departamento de Ciencias Integradas

### **INFORMA**:

"Meta-análisis: Que el trabajo titulado Diatomeas como bioindicadores de la calidad del agua en ambientes afectados por Drenaje Ácido de Mina de la Faja Pirítica Ibérica" presentado por la Paola Beatriz Tron Escobosa, DNI: , ha sido realizado en bajo mi dirección, y AUTORIZO su presentación y defensa como Trabajo Fin Máster (Modalidad: "profesional"), de para el Máster Universitario en Tecnología Ambiental de la Universidad de Huelva.

En Huelva, a 18 de noviembre de 2021

Fdo.: Dr. Francisco Córdoba García.

### RESUMEN

El creciente incremento de la presión humana sobre los recursos hídricos, combinado a los efectos introducidos por el cambio climático que afecta el estado hidrológico y geomorfológico de los sistemas fluviales, conducen de manera alarmante a la escasez de agua potable y genera la necesidad de tomar medidas para proteger estos recursos tanto en términos cuantitativos como cualitativos. Así, la Directiva Marco del Agua exige la utilización del monitoreo biológico como herramienta para caracterizar el estado ecológico de un ecosistema acuático y propone a las diatomeas como organismos indicadores de los cambios ambientales en estos ecosistemas.

Dentro de las actividades industriales, la minería es la industria con mayor grado de manipulación y contaminación de agua. En la Faja Pirítica Ibérica, la actividad minera asociada a explotaciones de sulfuros complejos ha generado la presencia de agua ácida junto a un conjunto de elementos químicos (metales, metaloides y no metales) solubles que contaminan gran parte de su red fluvial, tanto si la mina se encuentra en la etapa operativa como posterior al cese de su actividad extractiva. A este problema ambiental se lo conoce como Drenaje Acido de Mina.

La gran cantidad de minas inactivas de sulfuros existentes en la Faja Pirítica Ibérica, sumado a la necesidad de proteger los recursos hídricos, establece un punto de partida para diseñar e implementar un índice de diatomeas que no se base en parámetros de contaminación orgánica y que resulte adecuado a la hora de evaluar ambientes acuáticos donde la carga orgánica es prácticamente nula. El diseño e implementación de un índice requiere someter la zona a donde va a aplicarse a una evaluación previa, considerando la información de taxones, incluidos los dominantes, y las condiciones físico-químicas de la región geográfica.

El principal objetivo de este trabajo es realizar una caracterización físico-química de los ambientes acuáticos afectados por el drenaje acido de minas de la Faja Pirítica Ibérica y determinar las especies de diatomeas bioindicadores asociadas, mediante una revisión bibliográfica y un metaanálisis de la información publicada hasta el presente.

Palabras claves: Diatomeas, bioindicadores, Faja Pirítica Ibérica, drenaje ácido de mina, calidad del agua, índices.

### ABSTRACT

The increasing human pressure on water resources, combined with the hydrological and geomorphological impacts of climate change on the fluvial system, lead to water scarcity and generate the need to take measures to protect these resources in both quantitative and qualitative terms. Thus, the Water Framework Directive requires the use of biological monitoring as a tool to characterize the ecological status of an aquatic ecosystem and proposes diatoms as indicator organisms of environmental changes in these ecosystems.

Within industrial activities, mining is the industry with the highest degree of water handling and contamination. In the Iberian Pyrite Belt, active and abandoned mines associated with complex sulphide exploitations have produced acidic water and polluted a large part of the region's fluvial network with soluble chemical elements (metals, metalloids and nonmetals). This problem is known as Acid Mine Drainage.

The large number of inactive sulfide mines in the Iberian Pyrite Belt added to the need to protect water resources, calls for the design and implement of a diatom index that is not based on parameters of organic contamination and that results suitable for evaluating aquatic environments where the organic load is practically zero. The design and implementation of an index requires a prior evaluation of the area of interest that considers information about the taxa, including the dominant ones, and the physical-chemical conditions of the geographic region.

The main objective of this work is to carry out a physical-chemical characterization of the aquatic environments affected by the acid drainage of mines in the Iberian Pyrite Belt and to determine the associated bioindicator diatom species, through a bibliographic review and a meta-analysis of the information published up to the present.

Keywords: Diatoms, bioindicators, Iberian Pyrite Belt, acid mine drainage, water quality, index.

### AGRADECIMIENTOS

### "Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo no en el resultado, un esfuerzo total es una victoria completa".

### Mahatma Gandi

Este trabajo está dedicado a todas aquellas personas que de alguna manera formaron parte y lo hicieron posible, no solo desde lo intelectual sino también desde lo personal y afectivo. Mi círculo se cierra a kilómetros de distancia y a pesar de todo se siente cerca.

En primera instancia quiero agradecer a todos mis docentes por la difícil tarea de educar en el arduo contexto de la pandemia. En especial a mi director de TFM, el Dr. Francisco Córdoba García, quien me ha guiado y aconsejado durante todo el desarrollo de este trabajo, gracias por su tiempo, conocimiento y enseñanza, paciencia y buen humor; ama lo que hace y se nota.

También quiero agradecer a la Universidad Internacional de Andalucía y a la Universidad de Huelva, por haberme abierto sus puertas, brindándome la posibilidad de obtener esta nueva herramienta, necesaria para un futuro competitivo.

Finalmente, quiero a gradecer a mis compañeros de máster, a mis amigos de la vida y a mi familia, por acompañarme con actitud positiva durante todo el proceso. Con especial mención a mis padres y mi hermano, los tres mosqueteros de mi núcleo más cercano, por creer en mí y siempre estar ahí para alentarme y renovar mis energías a punta de abrazos, los amo.

Y una cosa más, gracias a la vida que me ha dado tanto.

Gracias. Gracias. Gracias.

## ÍNDICE

	Resu	umen	iii		
	Abst	ract	iv		
	Agra	decimientos	v		
1.	1. INTRODUCCIÓN				
	1.1.	La Calidad del Agua	1		
	1.2.	El Drenaje Ácido de Mina (AMD)	2		
	1.3.	La Faja Pirítica Ibérica (FPI)	5		
	1.4.	Biología y microbiología de las aguas ácidas de minas de la FPI	10		
	1.5.	Las Diatomeas: biología	12		
	1.6.	Las diatomeas como bioindicadores de la calidad de aguas	14		
2.	Obje	tivos	17		
3.	3. Metodología				
	3.1.	Fuentes de Información	18		
	3.2.	Extracción de Datos	18		
	3.3.	Análisis de la Información	21		
4. Resultados y Discusión		ultados y Discusión	26		
	4.1.	Localización de las unidades de análisis	26		
	4.2.	Características físico-químicas de las aguas afectadas por AMD	27		
	4.3.	Diatomeas indicadoras del grado de afección por AMD	39		
5.	Cond	clusiones	61		
6.	Refe	rencia Bibliográfica	62		
7. Anexos					
	7.1.	Anexo I: Localización y parámetros ambientales (N=217)	75		
	7.2.	Anexo II: Localización, diatomeas y parámetros ambientales (N=69)	89		
	7.3.	Anexo III: Diatomeas y parámetros ambientales (N=22)	104		
	7.4.	Anexo IV: Tabla Pruebas NMDS y ANOSIM (N=21)	105		

### 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. La Calidad del Agua

El agua, como integrante natural de los ecosistemas, es fundamental para el surgimiento y desarrollo de la vida, por lo que la disponibilidad de agua limpia es un requisito esencial para cualquier organismo (Pinstrup-Andersen et al., 2015; Kiran-Marella et al., 2020). Los procesos biológicos, geoquímicos y físicos que tienen lugar en la naturaleza y que producen servicios beneficiosos para la actividad del hombre se están viendo afectados debido a que el agua de los caudales de retorno presenta una calidad inferior al agua obtenida de las fuentes naturales (Pinstrup-Andersen et al., 2015). Las actividades antropogénicas como las prácticas agrícolas y ganaderas, el desarrollo industrial, el incremento en la demanda de energía, el crecimiento poblacional y los cambios en los estilos de vida, están ejerciendo una enorme presión sobre los ecosistemas acuáticos (Licursi y Gómez, 2003; Kiran-Marella et al., 2020), por lo que el agua potable es cada vez más escasa.

Como consecuencia, surge la necesidad de implementar políticas de gestión eficientes de los recursos hídricos donde la prevención, control y resolución de problemas derivados de la contaminación de las aguas resulten objetivos fundamentales a cumplir para asegurar su disponibilidad a largo plazo. En el caso de Estados miembros de la Unión Europea, como España y Portugal, la Directiva Marco del Agua (DMA) o Directiva 2000/60/CE es la que establece el marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas (Blanco et al., 2007). Los procedimientos propuestos por esta directiva para la determinación del estado ecológico de un ecosistema acuático requieren de la tipificación de la masa de agua, así como del establecimiento de las condiciones de referencia para cada tipología, mediante el empleo de indicadores físico-químicos, hidromorfológicos y biológicos del propio ecosistema (Toro et al., 2009).

Los elementos biológicos son factores esenciales para establecer la calidad de la estructura y funcionamiento del medio acuático, dado que acumulan información que los análisis físico-químicos por sí solos no desvelan (Ospina-Álvarez y Peña, 2004). La presencia de contaminantes induce a cambios en las estructuras de las comunidades bióticas, la función biológica de los sistemas acuáticos y en los propios organismos, afectando ciclos de vida, crecimiento y condiciones reproductivas (Bartram y Ballance, 1996; Vázquez-Silva et al, 2006). Cuando los parámetros del entorno se tornan críticos sólo los organismos tolerantes logran sobrevivir, por lo que las modificaciones en las estructuras y composiciones comunitarias puede ser utilizada para identificar y evaluar el grado de contaminación de un ecosistema acuático (Rocha-Gil et al, 2015). En general, para establecer el grado de deterioro asociado a un contaminante específico es necesaria la selección de una comunidad u organismos como bioindicadores que reflejen la situación en la que se encuentra el sitio en donde se recopilan, además del conocimiento previo de la biota que caracteriza la zona de estudio (Bartram y Ballance, 1996; Rocha-

Gil et al., 2015). Los bioindicadores son, por lo tanto, organismos (o partes de organismos), poblaciones o comunidades cuya existencia se adapta a las condiciones ambientales y son especialmente útiles para monitorear, caracterizar y definir la calidad de una masa de agua (Aguilar-Ibarra, 2005).

En este sentido, la evaluación del estado ecológico se determina mediante el uso de índices o métricas, cuyos resultados permiten asignar a cada masa de agua una clase de estado ecológico (Toro et al., 2009). Entre los bioindicadores propuestos por la Directiva Marco del Agua se encuentran las algas fitobentónicas, grupo al que pertenecen las diatomeas (Blanco et al., 2007). La implementación de esta directiva establece como requerimiento que los métodos utilizados procedan de metodologías estandarizadas, que pueden ser ISO, CEN, o de organismos nacionales de estandarización. Además, requiere que los laboratorios dispongan de programas de aseguramiento de la calidad, bajo la norma EN ISO 17025, y participen regularmente en ejercicios de intercalibración.

### 1.2. El Drenaje Ácido de Mina (AMD)

El drenaje ácido se produce cuando, por causas naturales o antrópicas, los sulfuros pasan de las condiciones reductoras del subsuelo en las que son estables (insolubles) a condiciones oxidantes, donde experimentan reacciones de oxidación por exposición al oxígeno y al agua o humedad atmosférica además de la actividad de diversas bacterias (Olías-Álvarez et al., 2010; Olías y Nieto, 2012; Blowes et al., 2014). Los sulfuros se oxidan a sulfatos generando ácido sulfúrico que acidifica el medio a la vez que produce la lixiviación de los metales asociados a la roca madre. Como consecuencia se obtiene una marcada diminución del pH, un incremento en la concentración de sulfatos y una composición variada de metales solubles que contaminan la red fluvial. Si bien las reacciones de oxidación ocurren de forma natural, y la cantidad y calidad del drenaje ácido dependen de las características fisicoquímicas de los materiales que entran en contacto con los flujos de agua (Aduvire, 2006), los ritmos de producción provocados por la minería permiten distinguir claramente entre el proceso natural geoquímico y el proceso antrópico (Grande-Gil, 2016). El proceso natural, conocido como Drenaje Ácido de Roca (o ARD del inglés de Acid Rock Drainage), tiene lugar cuando los sulfuros afloran a la superficie desde el vacimiento sin intervención humana (Fernández et al., 2018). Por el contrario, la actividad minera asociada a las explotaciones de sulfuros complejos, y de depósitos de oro y carbón con altos contenidos en pirita (FeS<sub>2</sub>) (Aduvire, 2006; Blowes et al., 2014) da lugar al proceso de contaminación antrópica con graves consecuencias ecológicas conocido como Drenaje Ácido de Mina (AMD del inglés Acid Mine Drainage).

La formación de AMD implica una secuencia compleja de reacciones químicas, biológicas y electroquímicas (Blowes et al., 2014; Dold, 2014); cuya cinética se ve afectada por el pH, el potencial redox, la cantidad y tamaño de los granos del mineral, la temperatura, el contenido de oxígeno, la composición y mineralogía del medio, el contenido de nutrientes, y la presencia y abundancia de ciertos microorganismos

acidófilos quimiolitótrofos como el Acidithiobacillus ferrooxidans, Leptospirillum ferrooxidans y Acidithiobacillus thiooxidans que obtienen energía a partir del proceso y cuyo desarrollo se ve favorecido por las condiciones ácidas (Aduvire, 2006; Olías-Álvarez et al., 2010). Las bacterias actúan como catalizadores biológicos desencadenando un proceso prácticamente imparable y a una velocidad mucho mayor que la que se obtendría sólo por procesos físico-químicos. La Figura 1 resume las etapas de generación de AMD, generalmente explicado a partir de la oxidación de la pirita por tratarse de uno de los sulfuros minerales más comunes que acompañan a las menas de interés económico (Nordstrom y Alpers 1998; Skousen et al. 1998; EPA, 2000; citado por Aduvire, 2006). La pirita es oxidada por el oxígeno con la formación de Fe<sup>2+</sup> que a su vez es oxidado a Fe<sup>3+</sup> catalizado por bacterias (vía directa) (Sarmiento, 2007), aunque a pH inferior a 4 el oxígeno es sustituido por el Fe<sup>3+</sup> como agente oxidante, por lo que el papel de las bacterias resulta esencial. El ion férrico puede precipitar formando complejos férricos y minerales (Dold, 2014) o bien estar disponible para oxidar más pirita (Sarmiento, 2007) actuando como agente oxidante (vía indirecta). La acidez generada en las reacciones da como resultado un pH significativamente bajo en el agua cuando se excede la alcalinidad disponible en el sistema (Banks et al., 1997). A pH <3 los minerales oxidados son altamente solubles en agua.



Figura 1 Diagrama de producción de AMD (Sarmiento, 2007)

El AMD genera graves problemas de degradación ambiental que no solo afecta a la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos, sino que, además produce la contaminación del suelo, inhibe el desarrollo de comunidades vegetales y animales y pone en riesgo la salud humana. Si bien los sulfatos y el pH bajo tienen consecuencias negativas sobre el medio ambiente, el factor más crítico es la elevada concentración de metales disueltos debido a que (Grande, 2011; Grande-Gil, 2016): no son biodegradables; pueden bioacumularse en tejidos orgánicos y biomagnificarse al ser transmitidos de una especie a otra de la cadena trófica, y si bien para ciertas especies algunos metales pueden ser micronutrientes, por encima de ciertos niveles pueden volverse tóxicos o letales.



Figura 2 Yellow boy (Córdoba-García, 2017)



Figura 3 Estromatolitos de sales de azufre - Sabina (Córdoba-García, 2019)



Figura 4 óxido rico en Cobre – Sotiel (Córdoba-García, 2017)



Figura 5 Ribera de Agustín (Córdoba-García, 2017)

### 1.3. La Faja Pirítica Ibérica (FPI)

La Faja Pirítica Ibérica es una de las tres zonas en las que se divide la Zona Sud Portuguesa, el terreno más meridional del Cinturón Varisco Europeo (Tornos-Arrollo, 2008). Geográficamente se encuentra ubicada al sur de la península Ibérica, entre España y Portugal, extendiéndose desde el noroeste de Sevilla hasta el sur de Lisboa (Ruiz et al., 2012). Con una anchura media de 60 Km y una longitud de 230 Km (Grande-Gil, 2016), se considera la provincia metalogénica que alberga la mayor concentración de sulfuros masivos volcanogénicos a nivel mundial. Los cuerpos masivos de sulfuros consisten principalmente en pirita (FeS<sub>2</sub>) y en menor proporción pirrotita (Fe<sub>(1-X)</sub>S), con esfalerita (ZnS) subordinada, galena (PbS) y calcopirita (FeCuS<sub>2</sub>) y muchas otras fases menores, aunque ocurren diferencias sustanciales entre depósitos individuales, tanto en abundancia mineral como en distribución espacial (Sáez et al., 1999). Por otra parte, posee una secuencia geológica de entre 1000-5000 m de roca de paleozoico superior donde se diferencian tres unidades principales con rasgos geológicos diferentes (Donaire et al., 2009; Tornos-Arroyo, 2008), que de muro a techo son el Grupo PQ, ubicado en la parte inferior del registro estratigráfico y alberga las rocas más antiguas; seguido por el Complejo Vulcano-Sedimentario (CVS), que a su vez se encuentra cubierto por el Grupo Culm. La Figura 6 muestra el mapa geológico de la FPI, donde se observan algunos de los depósitos de sulfuros masivos más importantes, siendo estos Tharsis, La Zarza, Riotinto, Aznalcóllar, Los Frailes, Masa Valverde y Sotiel-Migollas en España, o Aljustrel y Neves Corvo en Portugal.



Figura 6 Mapa geológico de la FPI (Carvalho et al. 1976; citado por Sáez et al., 1999)

El fin de la explotación de la pirita como fuente de ácido sulfúrico hizo que solo sobrevivieran aquellas minas con leyes importantes en metales base (Cu-Zn-Pb) y oro o depósitos con un enriquecimiento supergénico sustancial en cobre (Tornos-Arroyo, 2008). En la actualidad, existen explotaciones activas: Neves Corvo y Aljustrel en

Portugal; y Aguas Teñidas y Aguas Teñidas Este; Magdalena, Sotiel, Cerro Colorado y Las Cruces en España, cuyos intereses se orientan en general al Cu, Zn, Pb, Ag y Au (Locutura-Rupérez et al., 2020).



Figura 7 Cerro Colorado - Riotinto (Córdoba-García, 2018)

La Faja Pirítica Ibérica es atravesada por varias cuencas hidrográficas entre las que se encuentran la del río Odiel, Tinto, Chanza, Guadiamar, Guadiana y Sado; las cuatro primeras corresponden a su parte española mientras que la última a la portuguesa. El río Guadiana por su parte, discurre entre España y Portugal, y posee como afluente al río Chanza (o Chança en portugués) el cual determina una larga sección de la frontera entre ambos países. La cuenca del Odiel, a su vez se divide en cuatro subcuencas que son la del Olivargas, Meca, Oraque y la del mismo Odiel. Cada cuenca posee a su vez un gran número de afluentes tributarios que en su totalidad conforman una compleja red hidrográfica. En la Figura 8 puede observarse las principales cuencas que atraviesan la zona española de la FPI, además de algunas de las instalaciones mineras presentes. La Figura 9 muestra la cuenca de los Río Sado y Guadiana.



Figura 8 Mapa FPI zona española (Grande et al., 2014)



**Figura 9** Cuencas hidrográficas: Imagen A. Cuenca hidrográfica del Sado y Guadiana al sur de Portugal (modificada de Matono et al., 2018). Imagen B. Cuenca del río Guadiana - territorio español y portugués (Timmerman y Doze, 2005).

La intensa actividad extractiva, tanto en superficie como subterránea, a la que ha estado sometida la Faja Pirítica Ibérica durante siglos ha traído como consecuencia un gran número de cuencas afectadas por AMD. A lo largo de la Faja, existen cerca de 200 explotaciones antiguas, kilómetros de galerías, multitud de pozos y más de 5000 escombreras construidas sobre un material geológico permeable, sin medidas preventivas ni correctoras orientadas a la preservación del medio acuático, conformando un entramado de efluentes difusos que, a merced de las precipitaciones y escorrentías, continúan emitiendo lixiviados ácidos, sulfatos y metales disueltos incluso después del abandono de la actividad extractiva (Olías-Álvarez et al., 2010; Grande-Gil, 2016). Las principales explotaciones que contaminan la cuenca del río Sado en Portugal corresponden a las minas de Lousal y Aljustrel. En el caso del Guadiana/Chanza, se tiene a Arroyo Trimpacho, Herrerías, Cabeza de Pasto y Lagunazo, en España; y Neves Corvos y São Domingos, en la zona portuguesa. Por su parte, las explotaciones mineras más relevante que producen la contaminación de la cuenca del río Tinto son Peña de Hierro y Riotinto; mientras en el Guadiamar se tiene a Aznalcóllar, Cobre Las Cruces y Castillo de las Guardas. Finalmente, las explotaciones más emblemáticas que afectan la cuenca del Odiel son Tharsis, Cueva de la Mora, Aguas Teñidas, Sotiel-Coronada, Almagrera, Concepción, Confesionarios, Tinto Santa Rosa y San Telmo, entre otras (Delgado et al., 2007; Grande et al., 2014; Grande-Gil, 2016).



Figura 10 Corta San Telmo (Córdoba-García, Figura 11 Corta La Zarza (Córdoba-García, 2019) 2017)

La principal fuente de contaminación por AMD, tanto en la FPI como a nivel mundial, recae en las escombreras mineras correspondientes a minas de sulfuro y carbón, en su mayoría inactivas, cuando son abandonadas o no aisladas adecuadamente (Grande et al., 2014; Loredo y Pend, 2005; citado por Grande et al., 2018). Estas estructuras generadas durante el proceso de laboreo, ocupan varios kilómetros de superficie y consisten en grandes volúmenes de roca estéril que no puede procesarse económicamente (Blowes et al., 2014). Una escombrera posee un régimen variable de emisión de contaminantes que depende de sus características morfométricas (tamaño de

grano: fino como la arena y grava hasta bloques de varios metros de diámetro), hidrológicas (porosidad, permeabilidad, etc.; donde el transporte a través de ella puede describirse de la misma manera que el flujo de agua a través del suelo insaturado), estructurales (sucesivas elevaciones o bancos) y mineralógicas (composición de la roca madre) (Blowes et al., 2014, Grande-Gil, 2016). Los millones de toneladas de residuos que aún delimitan las cuencas de los ríos de la FPI, constituyen una fuente de contaminación permanente que aporta acidez y su carga metálica, afectando no solo sus aguas y sedimentos sino también a los estuarios, la zona litoral de influencia y los embalses localizados en las cuencas vertientes (Grande-Gil, 2016).



**Figura 12** Restos industriales y escombreras, minas Riotinto (Córdoba-García, 2021)

**Figura 13** Escombreras - Río Tinto, Zarandas (Córdoba-García, 2017)

Otra fuente de contaminación de importancia corresponde a las presas de relaves mineros, que son el resultado del proceso de flotación de los minerales sulfurados. Estas no solo requieren grandes extensiones de tierra, causando problemas ambientales, socioeconómicos y de estabilidad geotécnica, sino que tienen un gran potencial para producir contaminación de las aguas superficiales y subterráneas debido a la disolución de minerales en la etapa operatoria y postoperatoria de la mina (Dold, 2014). En general, independientemente de la estructura minera contaminante, cuando el agua ácida llega a los embalses localizados en las cuencas vertientes, o entran en contacto con cursos de agua no afectados por AMD, el problema de contaminación se torna más grave porque reduce o inutiliza el uso del recurso hídrico. El incremento de pH del agua como consecuencia de la mezcla, provoca la precipitación de la mayor parte de la carga metálica (Grande, 2011), que se acumula en el fondo como sedimentos quedando sujetos a que las variaciones de pH del medioambiente influyan en su biodisponibilidad (Grande et al., 2005; citado por Grande, 2011). Al final, la biota fluvial no es solo influenciada por la concentración de metales sino también por las características químicas del agua que modifica la biodisponibilidad de éstos (Fernández et al., 2018). Las imágenes a continuación muestran otras estructuras mineras que son fuentes de AMD.





Figura 14 Galerías de La Zarza (Córdoba-García, 2016) Figura (Córdob

Figura 15 Tharsis-Filón Norte-Instalaciones (Córdoba-García, 2016)



Figura 16 Tharsis-Filón Norte (Córdoba-García, 2016)

### 1.4. Biología y microbiología de las aguas ácidas de minas de la FPI

Una alta riqueza de especies en un ecosistema indica una buena integridad biótica que tiende a disminuir con el incremento de la contaminación. Los ecosistemas acuáticos contaminados por drenaje ácido de mina ofrecen condiciones extremas que afectan su biodiversidad. La elevada concentración de metales y sulfatos, así como el pH bajo de estos ambientes, son una consecuencia directa de la presencia de microorganismos acidófilos quimiolitotróficos tales como *Leptospirillum ferrooxidans*, *Acidothiobacillus ferrooxidans* y *Acidiphilium sp.*, que aceleran las reacciones de oxidación y disolución de los sulfuros metálicos (Amils et al., 2002; Aguilera et al., 2007; Amils, 2012; González-Toril et al., 2011). Así, se tiene que las formas de vida capaces de desarrollarse en estas condiciones son los microorganismos acidófilos y eucariotas acidotolerantes como algas, amebas, ciliados, heliozoos y rotíferos, además de levaduras y hongos filamentosos (López-Archilla et al., 2001; Aguilera et al., 2007; Amils, 2012; Aguilera, 2013).

La mayor parte de la biomasa tiende a localizarse en el lecho del río formando biopelículas densas y compactas, también conocidas como biofilms, compuestas por organismos que, según su función ecológica, se clasifican como productores primarios (algas fotosintéticas y bacterias quimiolitotróficas), descomponedores (bacterias heterotróficas y hongos) y consumidores (protistas heterótrofos) (Amils et al., 2002; López-Archilla et al., 2001; Aguilera et al., 2007), algunos de los cuales pueden observarse en la Figura 17.



Figura 17 Microoganismos presentes en el biofilm (Córdoba-García, 2019): (a) Chlamydomonas; (b) Rotífero; (c) Heliozoo; (d) Algas; (e) Ameba; (f) Protozoo ciliado.

Las comunidades eucariotas no se encuentran uniformemente distribuidas a lo largo de todo el lecho, sino que se observan variaciones en la composición de la biopelícula dependiendo de la distancia a la fuente generadora de agua ácida, observándose una menor diversidad en aquellas localizaciones con valores extremos de pH y concentración de metales. En consecuencia, la forma macroscópica de la biopelícula queda determinada por las especies dominantes, pudiendo adoptar, por ejemplo, morfologías filamentosas en el agua que fluye o formar parches gruesos y coloridos firmemente adheridos a los sustratos minerales (Aguilera et al., 2007; Aguilera et al., 2008) (Figura 18).



Figura 18 Biofilm fotosintético (Córdoba-García, 2019): (a) Klebsormidium; (b) Euglena mutabilis.

Otro factor que afecta la composición de las biopelículas son las variaciones estacionales, que producen cambios en las características hidroquímicas como el flujo de agua, su temperatura y la composición de elementos disueltos. En invierno la biomasa

eucariota suele ser menor que en verano (López-Archilla et al., 2001; Aguilera et al., 2007). Finalmente, la existencia de una matriz extracelular en las biopelículas protege a las comunidades microbianas de las condiciones del agua, en especial de los metales pesados, que activan la síntesis de moléculas bioprotectoras cuando sus concentraciones se tornan tóxicas (Aguilera et al., 2007). Esta matriz, formada por sustancia poliméricas extracelulares (SPE), consiste en una mezcla compleja de polisacáridos ácidos, proteínas, lípidos, sustancias de ácido húmico y ADN; sin embargo, su composición varía según el ambiente en el que se encuentra la biopelícula (Aguilera et al., 2008). Los polisacáridos son generalmente el componente más abundante, representando entre el 40 y el 95% de las SPE (Flemming y Wingender, 2001; citado por Aguilera et al., 2008).

### 1.5. Las Diatomeas: biología

Las diatomeas son protistas unicelulares eucarióticos pertenecientes a la división Heterokontophyta y a la clase Bacillariophyceae, que habitan en ambientes acuáticos y húmedos; pudiendo vivir solas o formando colonias (Canizal-Silahua, 2009). Son capaces de realizar fotosíntesis por lo que son considerados productores primarios; poseen pigmentos fotosintéticos como la clorofila a y c, además de otros accesorios como la βcaroteno, fucoxantina, diatoxantina y diadinoxantina; como productos derivados de la fotosíntesis se tiene glucosa, crisolaminarina y aceites (Drebes, 1977; Round et al., 1990; Hasle y Syvertsen, 1996).

Estas microalgas unicelulares poseen en su estructura una cubierta silícea impregnada de pectina y una capa orgánica, que encapsula a la célula denominado frústulo/a (Canizal-Silahua, 2009), cuya sección transversal se muestra en la Figura 19.



**Figura 19** Sección transversal del frústulo de una diatomea (imagen de Hasle y Syvertsen, 1996; tomada de Pinto-Torres et al., 2014)

El frústulo consiste en dos mitades que encajan perfectamente de manera similar a una caja de petri: la mitad superior o epiteca, es mayor y se sitúa exteriormente sobre la mitad inferior o hipoteca. Tanto la epiteca como la hipoteca, constan de regiones bien diferenciadas. La parte superior de la epiteca, así como la inferior de la hipoteca, reciben el nombre de valva y se denominan epivalva e hipovalva, respectivamente. A su vez, cada valva posee sus propios elementos de unión, dispuestos en forma de bandas, que constituyen las denominadas bandas de unión o cinturones. Estas son el epicíngulo o epipleura para la epivalva y el hipocíngulo o hipopleura para la hipovalva (Pinto-Torres et al., 2014). La cubierta de sílice se forma por biosilicificación (Colín-García et al., 2013). Las diatomeas sintetizan sílice hidratada amorfa u ópalo para generar el frústulo y conferir protección a la célula. La forma en que se deposita la biosílice durante la formación de la cubierta genera ornamentaciones específicas y marcas intrincadas que son importantes para la taxonomía de las diatomeas y la identificación de cada especie (Ojeda-Rodríguez, 2011). La Figura 20 y la Figura 21 muestran alguno de los rasgos más característicos del frústulo de una diatomea.





Figura 20 Diatomea Pennada: *Navicula Mutica*. (Alcober-Bosch, 2016). Modificada- Vista Superior.

Figura 21 Diatomea Pennada: *Navicula Mutica*. (Alcober-Bosch, 2016). Modificada- Vista lateral.

A su vez, la simetría de la valva y la estructura del frústulo, dividen a estas microalgas en dos líneas evolutivas dentro de la clase Bacillariophyceae, que son: las Centrales (simetría radial) y las Pennadas (simetría bilateral) (Drebes, 1977; Round et al., 1990; Hasle y Syvertsen, 1996; Pinto-Torres et al., 2014).



**Figura 22** Diatomea central. *Actinoptychus splendens*. Microscopio electrónico de emisión de campo (Alcober-Bosch, 2016). Modificada.



**Figura 23** Diatomea Pennada. *Navicula neoventricosa*. Microscopio electrónico de emisión de campo (Alcober- Bosch, 2016). Modificada.

Durante su ciclo de vida, las diatomeas alternan entre la reproducción asexual o vegetativa y la reproducción sexual (Hasle y Syvertsen, 1996). Debido a que la cubierta de silicio no puede crecer, la reproducción asexual conlleva una disminución progresiva del tamaño de la descendencia hasta que el tamaño de la célula pone en riesgo la continuidad de la población (Round et al., 1990). Entonces se activa el mecanismo de reproducción sexual, que además de la recombinación genética, involucra la restauración del tamaño celular (Drebes, 1977; Round et al., 1990).

Las diatomeas tienen una distribución cosmopolita; pueden encontrarse en casi cualquier tipo de ambiente acuoso (marinos, salobres o dulceacuícolas) así como paredes de cuevas o cortezas de árboles y adaptarse a diferentes condiciones ambientales; incluso pueden vivir bajo condiciones extremas. Según donde se encuentren en una columna de agua, pueden ser planctónicas o bentónicas; es decir, si permanecen suspendidas a la deriva y a expensas de la corriente o bien si se encuentran fijas a un substrato (rocas, arena, sedimentos, etc.), respectivamente. Actualmente, se estima que existen entre 30000 y 100000 especies diferentes (Mann y Vanormelingen 2013; citado por Caballero y Maidana, 2017). Sin embargo, el número existente de especies y géneros diferentes de diatomeas es muy variado y aún desconocido.

### 1.6. Las diatomeas como bioindicadores de la calidad de aguas

Existen numerosos estudios realizados sobre diatomeas que se orientan a evaluar su capacidad de respuesta frente al estrés producido por diversos factores ambientales, entre los que se encuentran el pH y la elevada concentración de metales; así como su utilidad para determinar el estado ecológico de un curso de agua independientemente el tipo de contaminante. La versatilidad de estas microalgas a la hora de interactuar con su entorno hace que su acción como organismos bioindicadores no se restrinja a un único problema ambiental (Masouras et al., 2021).

Las diatomeas, al igual que cualquier microorganismo, durante la fase de crecimiento realizan réplicas de sí mismas y requieren de los elementos que se encuentran en su composición química (Junco-Días y Rodríguez-Pérez, 2001), y que son aportados por el entorno donde habitan. En este sentido, su crecimiento está sujeto a factores ambientales, es decir que depende de factores tanto nutricionales (C, N, S, P, vitaminas y elementos traza) como físicos (pH, temperatura, oxígeno, presión osmótica, humedad, radiación, etc.) propios del ecosistema donde viven. Cuando las actividades antrópicas alteran esos factores, las diatomeas responden a las nuevas condiciones del entorno de cuatro formas diferentes, que pueden ser (Maidana, 2017): desapareciendo, disminuyendo o aumentando su tasa de reproducción o formando células teratológicas cuyo patrón morfológico se aparta del normal de la especie. En general, las diatomeas responden a las variaciones ambientales no solo con cambios a nivel individual con la

aparición de formas teratológicas. Evaluando los mecanismos de respuesta de las diatomeas frente a cada uno de estos factores, se pueden identificar especies indicadoras asociadas a diferentes procesos de contaminación (Ospina-Álvarez y Peña, 2004).

En la actualidad, las diatomeas principalmente se usan en métodos ecológicos que se basan en la estructura comunitaria, sin embargo, las deformaciones a nivel individual también están siendo utilizadas como métricas para valorar la calidad del agua (Mora et al., 2015). Las formas teratológicas aparecen cuando las células están sometidas a un estrés ambiental, tanto químico como físico, durante la etapa de reproducción (Falasco et al., 2009). Las alteraciones bioquímicas que se generan tienen efectos que se traducen en desviaciones con respecto a las células normales (Mora et al., 2015) por ejemplo, cambio en los patrones de estrías y del arreglo de poros, deformación del contorno de la valva, entre otros (Falasco et al., 2009).

La Directiva Marco del Agua (Directiva 2000/60/EC) propone a las diatomeas como organismo indicador del estado ecológico del medio ambiente (Blanco et al., 2007) debido a que poseen características ecológicas y fisiológicas idóneas a la hora de ser utilizadas como bioindicadores, dado que: (a) constituyen un grupo de organismos con ocurrencia universal en los ecosistemas acuáticos, es decir, son cosmopolitas; (b) presentan gran abundancia en las corrientes de agua, tanto por el número de especies como por el número de individuos, facilitando estudios estadísticos y otorgándoles fiabilidad; (c) presentan gran variación específica en cuanto a su sensibilidad frente a los cambios en los parámetros físicos y químicos del agua, por lo que reflejan con gran precisión las condiciones ambientales del entorno donde se desarrollan; (d) sus ciclos de vida son rápidos siendo capaces de colonizar sustratos rápidamente y reaccionar con celeridad a las perturbaciones ambientales (Licursi y Gómez, 2003); (e) la recogida, la preparación y la preservación de las muestras son relativamente simples permitiendo la obtención de resultados comparables y reproducibles a largo plazo (Blanco et al., 2007); (f) sus técnicas de recuento son rápidas (Licursi y Gómez, 2003) y (g) existe mucha información disponible.

La implementación de la directiva involucra la utilización de índices de diatomeas o diatomológicos para determinar el estado ecológico de un ecosistema acuático, siendo el Índice de Poluosensibilidad Específica (IPS) el índice oficial más utilizado por los países europeos. A modo de ejemplo, este índice considera todos los taxones presentes en la muestra y se calcula sobre la base de las medias ponderadas de los valores de sensibilidad a la contaminación (Sj), tolerancia a la contaminación (Vj) y abundancia relativa de cada especie (Aj); según lo establecido en el protocolo IPS-2013 del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente:

$$IPS = 4,75 \cdot \frac{\sum A_j \cdot S_j \cdot V_j}{\sum A_j \cdot V_j} - 3,75$$

Eq 1

15

Con el valor de IPS obtenido se procede a determinar el estado ecológico, teniendo en cuenta las condiciones de referencia y los valores frontera establecidos legalmente para el indicador IPS en el tipo de masa de agua que corresponda. Posteriormente, se clasifica el estado ecológico de la masa de agua a partir del cálculo del Ratio de Calidad Ecológica (REC= Valor observado/Valor de referencia).

La mayoría de los índices de diatomeas que se utilizan en la actualidad se centran en parámetros relacionados a la contaminación por materia orgánica por lo que no resultan óptimos a la hora de evaluar ambientes acuáticos contaminados por AMD, donde los contaminantes asociados son inorgánicos. El diseño de un nuevo índice o la adaptación de uno preexistente, no solo involucra la caracterización físico-química de la región geográfica donde va a aplicarse sino también identificar aquellas especies que la habitan. Una base florística confiable de diatomeas ofrece un punto de referencia efectivo para la correcta determinación de los índices y, en consecuencia, la detección de contingencias ambientales (Siqueiros-Beltrones et al., 2013).

### 2. OBJETIVOS

Un meta-análisis es el resultado de realizar una investigación sistemática y exhaustiva sobre un tema o pregunta a responder muy concreta, aunando y valorando en conjunto los resultados obtenidos por una gran cantidad de estudios sobre dicho aspecto o temática. Se trata de una revisión profunda que permite ver con gran claridad la manera en que se han seleccionado y valorado los estudios que revisa, además de analizar sus resultados y valorando cuantitativamente mediante diversos procedimientos estadísticos, entre los que destaca la valoración del tamaño del efecto y el control del posible sesgo de publicación.

Se realizará una revisión sistemática de bibliografía y un meta-análisis a partir de artículos publicados, con el objetivo de:

- 1. Actualizar y ordenar la información (State of the Art) sobre el AMD en la Faja Pirítica Ibérica.
- 2. Recopilar y ordenar los datos sobre diatomeas en aguas continentales afectadas por AMD en la FPI.
- 3. Tratar de establecer un índice o modelo de afección por AMD en función de las diatomeas observadas y de una diversidad de parámetros físico-químicos.

### 3. METODOLOGÍA

### 3.1. Fuentes de Información

Se realizó una revisión bibliográfica de publicaciones científicas que: (a) efectuaban una caracterización del Drenaje Ácido de Mina, con énfasis en la Faja Pirítica Ibérica (FPI); (b) trataban sobre diatomeas de aguas continentales y/o expuestas a elevadas concentraciones de metales y (c) que especificaban comunidades de diatomeas encontradas en la FPI. Se consultaron bases de datos electrónicas como ProQuest, Science Direct, Scopus, Springer Link y WOS; el último acceso a las bases de datos de realizó en julio del 2021. La búsqueda se efectuó a partir de palabras claves como por ejemplo "diatomeas", "drenaje ácido de mina", "bioindicadores", "Faja Pirítica Ibérica", "metales pesados", y combinaciones de ellas, tanto en español como en inglés. También se realizaron búsquedas utilizando Google Scholar como motor siguiendo la misma metodología. Tras la búsqueda, se hizo una pre-selección del material a partir de la lectura de títulos y resúmenes, que permitió determinar si el contenido se ajustaba a lo requerido. Los estudios pre-seleccionados se analizaron a texto completo, para decidir si eran o no incluidos como parte de análisis cuantitativo. Además, se trabajó con una tesis doctoral y dos trabajos finales de máster dirigidos por el tutor de este trabajo.

### 3.2. Extracción de Datos

Las variables fisicoquímicas, especies de diatomeas o cualquier otra información relevante aportada por las publicaciones científicas se obtuvieron a partir de la lectura del texto y el análisis de mapas, tablas, figuras y gráficos, siendo estos diagramas x-y, de barras, circulares. Los mapas se analizaron para conocer la ubicación de los puntos de muestreo e identificar la cuenca hidrográfica a la cual estaban relacionados. Para la obtención de datos a partir de diagramas de barras o gráficas en el plano x-y, se utilizó el software de digitalización GetData Graph Digitizer versión 2.26.0.20 que permitió extraer valores numéricos luego de definir el sistema de coordenadas cartesianas sobre la imagen de la gráfica. En el caso de los gráficos circulares o de porción, se procedió a la medición de los ángulos correspondientes a cada fracción, posteriormente se multiplicaron por un factor de conversión igual a 0,28 para obtener las proporciones correspondientes. El factor se obtiene mediante:

$$X\% = \frac{\hat{\alpha}_{medido} \cdot 100\%}{360^{\circ}} \rightarrow X\% = 0.28 \cdot \hat{\alpha}_{medido}$$
 Eq 2

#### Datos físico-químicos

Se recopilaron de las publicaciones datos correspondientes a pH, conductividad eléctrica (EC) y potencial redox (Eh o ORP), además de las concentraciones de SO<sub>4</sub><sup>=</sup> y

de metales Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Pb y Zn. Estos parámetros provenían del análisis físicoquímico de muestras de agua de ríos, arroyos, estanques, embalses u otras fuentes según los objetivos de cada investigación. La toma de muestra, su preservación y preparación se realizó de igual manera o equivalente en los estudios incluidos. En todos los casos, el pH, la conductividad eléctrica y el potencial redox fueron determinados in situ mediante la utilización de un multímetro portátil. Las muestras de agua fueron recogidas lo más cerca posible de la parte central de la masa de agua en botellas de polietileno de 1 L previamente enjuagadas con ácido. Su transporte y posterior almacenamiento en el laboratorio se efectuó a 4°C para evitar alteraciones.

Para la determinación de metales disueltos, normalmente un volumen de 250 ml de agua obtenido a partir de la muestra recogida en el campo se filtró al vacío utilizando un filtro de membrana Millipore de 0,45 µm inmediatamente después de su llegada al laboratorio. Al filtrado se lo dividió en 2 partes: una para la determinación de elementos/compuestos trazas y cationes mayoritarios, donde se acidificaron con ácido nítrico de calidad analítica para evitar la precipitación de los metales y el crecimiento microbiológico; mientras que la parte destinada a la determinación de aniones se mantuvo sin acidificar. En general, los elementos Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn; se determinaron por espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (IPC-AES) o espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Los sulfatos se determinaron mediante cromatografía iónica o fotometría. Se descartó la determinación de parámetros fisicoquímicos sobre sedimentos dado que solo se trabajó con datos obtenidos a partir de muestras de agua y sólidos disueltos. En todos los casos los datos recopilados corresponden a valores medios publicados.

Las unidades de las variables fisicoquímicas se homogenizaron a: mg/L para concentraciones; mV para el potencial Redox (Eh o ORP) y  $\mu$ S/cm para la conductividad eléctrica (EC). En el caso que el estudio aportase la concentración de S en lugar de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, estas se multiplicaron por un factor de conversión de 3 (pm S = 32 – pm SO<sub>4</sub><sup>=</sup>= 96), dado que en agua ácidas el azufre siempre está en forma de sulfato.

Se recopilaron 217 conjuntos de datos a partir de 24 textos científicos que realizaban una caracterización físico-química del AMD en la FPI para un rango de pH entre 1 y 5. La información se agrupó en una tabla de Excel (Tabla A1-Anexo I), donde cada fila representa un conjunto de datos, denotados por la letra C y un número (ej. C1); y cada columna una variable de análisis siendo estas: pH, EC, Eh, Fe (total), SO<sub>4</sub><sup>=</sup>; y los metales Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Zn necesarios para el cálculo del sumatorio de Ficklin como parámetro representativo de las aguas afectadas por AMD (Flicklin et al., 1992), para representar los metales disueltos en función del pH. El sumatorio se calcula:

$$\Sigma$$
Ficklin (mg/L) = [Cd] + [Co] + [Cu] + [Ni] + [Pb] + [Zn] Eq 3

Finalmente, cuando correspondiese, los datos de ORP (potencial redox referido al oxígeno) se convirtieron a Eh (potencial redox referido al hidrógeno) mediante la siguiente ecuación (Wolkersdorfer, 2008):

$$E_{\rm h}({\rm mV}) = E_{\rm t} - 0.198 \,({\rm T} - 25) + \sqrt{({\rm a} - {\rm b} \cdot {\rm T})}$$
 Eq 4

Donde Et corresponde al valor de medido de ORP en mV; T es la temperatura del agua en °C; a y b son constantes que dependen del electrodo utilizado. En este caso a y b corresponden a un electrodo de Ag/AgCl en solución saturada de KCl, y son 49655 y 401, respectivamente. En caso de que el estudio no aportase dato de temperatura, se utilizó 20 °C.

#### Datos biológicos: Diatomeas

Se trabajó con muestras de diatomeas bénticas, pudiendo ser epilíticas (guijarros, rocas), epifíticas (plantas) o epipsámmicas (sedimentos) según el sustrato al cual estaban fijadas. En la mayoría de las investigaciones, las campañas de muestreo se llevaron cabo principalmente en primavera debido a la estabilidad en las condiciones ambientales; sin embargo, en algunos casos se efectuaron en otras épocas del año. Dependiendo del sustrato, para diatomeas epipsámmicas el muestreo se efectuó retirando la parte superior de la superficie del sedimento con una jeringa; las epilíticas fueron muestreadas raspando la superficie de piedras u otros sustratos con un cuchillo o cepillo de dientes. Las muestras epifíticas se tomaron exprimiendo las plantas de los márgenes del curso de agua. En todos los casos se evitaron charcos de agua estancada y zonas de sombra.

En general, las muestras se dividieron en dos, una se mantuvo viva (sin preservación) mientras que a la otra se fijó en el campo con formaldehído entre 4-5% (o etanol al 70%) de concentración final; y se transportaron refrigeradas al laboratorio en botellas protegidas de la luz. En el laboratorio, se eliminó la materia orgánica mediante una digestión de 24 horas con ácido nítrico al 65% (que puede sustituirse por ácido sulfúrico y permanganato potásico), o con peróxido de hidrógeno al 30% (en baño de agua a 90-95°C durante al menos 1,5-3 h). Todos estos métodos de digestión están normalizados (ej. Norma UNE-EN 14407:2005). Tras la digestión, los reactivos de oxidación se eliminaron mediante centrifugación y lavado con agua destilada. Finalmente se montaron portaobjetos para el recuento de células utilizando una resina de alta refracción Naphrax® o similares. Las diatomeas fueron observadas, identificadas y cuantificadas (mínimo 400 valvas por muestra) mediante la utilización de microscopio óptico con objetivos de 100X.

Para facilitar el análisis y evitar que una misma especie fuese tratada como otra diferente, se homogenizó la nomenclatura identificándolas por su nombre científico y su acrónimo de cuatro letras (código OMNIDIA). Para ello se recurrió al catálogo ID-TAX, donde figuran las claves de identificación de organismos utilizados como elementos de calidad en las redes de control del estado ecológico de la Dirección General del Agua de la Secretaría de Estado de Medio Ambiente del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente; y al sitio Web de la Administración Nacional de Datos y Repositorios del Agua de Agua Francia (SANDRE, en francés Service d'administration nationale des données et référentiels sur l'eau).

Se trabajó con abundancia de especies en términos de porcentaje. En caso de que la abundancia total reportada no fuese 100 para un mismo muestreo, se completó el faltante identificándolo bajo la denominación "*otras especies*". Por otra parte, si el estudio aportaba datos de abundancia bajo una categorización cualitativa, los resultados se convirtieron a una escala cuantitativa según lo especificado en la publicación. Así mismo, se trabajó con promedios de los parámetros ambientales cuando las especies de diatomeas se citaban como un promedio de las zonas muestreadas mientras que las características físico-químicas se daban por punto de muestreo. Se obtuvieron 69 conjuntos de datos a partir de 15 investigaciones que aportaban especies de diatomeas conjuntamente con una caracterización físico-química del AMD en la FPI para un rango de pH entre 1 y 5. La información se agrupó tablas de Excel (Anexo II), donde se alistaron las especies y su abundancia (Tabla A2) vinculadas a los parámetros físicos y químicos del agua donde fueron muestreadas (Tabla A3). Los conjuntos de datos o unidades de análisis se denotaron con la letra M acompañada por un número (ej. M1) y los datos fueron ordenados de menor a mayor pH.

### 3.3. Análisis de la Información

No se realizó un tratamiento de datos basado época/período de muestreo, y se consideró como diferentes aquellos resultados, correspondientes a un mismo punto de muestreo, obtenidos en diferentes campañas. Los valores por debajo del límite de detección se consideraron cero para no afectar la estadística. Los métodos utilizados se describen brevemente a continuación:

### Análisis estadístico descriptivo

Se realiza para conocer la estructura y naturaleza de las distribuciones, así como la existencia de valores atípicos (outliers). Se determinan como medidas de posición, la media aritmética, la mediana y los percentiles 25 y 75; como medidas de dispersión, la desviación estándar, la varianza, el rango o recorrido, el rango intercuartílico (RIC) y el coeficiente de variación; finalmente como medidas de forma, la asimetría y la curtosis. Se utilizan diagramas de cajas para representar los parámetros estadísticos básicos y simplificar la interpretación de los resultados numéricos agrupados en tablas. Para el análisis estadístico descriptivo se utiliza Excel y su complemento, XRealStats.

#### Prueba de normalidad de Anderson-Darling

Esta prueba compara la función de distribución acumulativa de los datos de la muestra con los de la distribución esperada en caso de que los datos correspondiesen a una distribución normal. Si la diferencia observada es grande, no hay normalidad en la distribución. Se considera distribución normal cuando el coeficiente A<sup>2</sup> de Anderson Darling es igual a cero con p-valor mayor o igual a 0,05. La prueba se realiza en Minitab 17.

#### Prueba de correlación de Spearman

Se trata de una prueba no paramétrica que permite medir la relación entre dos variables cuando no se cumple el supuesto de normalidad. El coeficiente correlación de Spearman se calcula a partir de la siguiente fórmula (Eq 5):

$$r_s = 1 - \frac{6\sum d_i^2}{n(n^2 - 1)}$$
 Eq 5

Donde:

- n= número de observaciones o tamaño de la muestra.
- $d_i = x_i y_i$ ; diferencia entre los rangos de las variables x e y, respectivamente.

El coeficiente puede variar entre -1 y +1; cuya interpretación es: valores próximos a 1, en valor absoluto, indican una fuerte asociación entre las variables. Cuando el valor de  $r_s$  es 0, no hay correlación. El signo positivo determina que a medida que aumenta el rango de una variable el otro también aumenta; mientras que el signo negativo indica que, al aumentar un rango, el otro disminuye. Se considera que la correlación es estadísticamente significativa cuando el valor p que acompaña al coeficiente es menor a 0,05 para un nivel de confianza del 95%. El cálculo del coeficiente de correlación, así como su valor p se efectúan en Past4.03.

#### Prueba de correlación de Pearson

Se trata de una prueba que permite medir la fuerza o grado de asociación lineal entre dos variables aleatorias continuas, y se calcula a partir de la siguiente fórmula (Eq 6):

$$r_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^{n} (y_i - \bar{y})^2}}$$
 Eq 6

Donde:

- n; número de observaciones o tamaño de la muestra.
- x<sub>i</sub>, y<sub>i</sub>; puntos muestrales individuales.
- $\bar{x}$ ,  $\bar{y}$ ; medias muestrales de las variables x e y, respectivamente.

Al igual que el coeficiente de Spearman, el coeficiente de Pearson puede variar entre -1 y 1, solo que en este caso los valores próximos a 1, en valor absoluto, indican una asociación lineal fuerte mientras que un valor igual a cero revela que la asociación lineal es inexistente. Los signos positivos y negativos muestran que la relación entre las variables es directa o inversa, respectivamente. Se considera que la correlación es estadísticamente significativa cuando el valor p que acompaña al coeficiente es menor a 0,05 para un nivel de confianza del 95%. El cálculo se lleva a cabo en Past4.03.

### Análisis de Regresión

Tras determinar las correlaciones de Spearman y Pearson como medidas básicas de asociación; se realiza un análisis de regresión para investigar y modelar la relación entre las variables. La relación se observa gráficamente mediante diagramas de dispersión. El análisis se efectúa principalmente en Excel.

### Análisis de Clúster o de Conglomerados Jerárquicos de Variables

Es una técnica estadística multivariada que permite reducir el número de variables clasificándolas en grupos de acuerdo a su similitud. La técnica utiliza un procedimiento jerárquico para formar los conglomerados o clúster y las variables similares entre sí, se agrupan. El análisis de conglomerados de variables se lleva a cabo en Minitab 17. Se selecciona como método de vinculación el enlace completo o Ward y se mide la distancia de coeficientes de correlación. Como representación gráfica se obtiene el dendrograma.

### Análisis de componentes principales (ACP)

Se trata de una técnica estadística multivariada de reducción de datos con el cual se crean nuevas variables o componentes principales, que son combinaciones lineales de las variables observadas. En el cálculo se utiliza la matriz de correlación. La salida gráfica corresponde a la gráfica de cargas para los dos primeros componentes y el análisis se lleva a cabo en Minitab 17.

### Análisis de escalamiento multidimensional no métrico

El análisis de escalamiento multidimensional no métrico o NMDS (del inglés nonmetric multi-dimensional scaling) es un método que permite representar gráficamente la relación entre comunidades (Clarke, 1993), donde mediante una reducción de la dimensionalidad se obtiene una representación bidimensional de los datos. La gráfica permite observar zonas representadas por las categorías de estudio y la afinidad relativa de los distintos sujetos a cada una. El método aporta un valor de estrés (stress) que indica la cantidad de varianza que no se ajusta, cuanto menor sea este valor la ordenación proporciona una buena representación de los datos (mayor varianza explicada). Se tiene que un stress >0,05 proporciona una representación excelente, >0,1 muy buena, >0,2 buena y >0,3 muy pobre. El índice de asociación utilizado en la prueba es el índice de similitud de Bray-Curtis. El cálculo se lleva a cabo en Past4.03.

### Análisis de Similitud de la Matriz de Abundancia

ANOSIM o Análisis de Similitud de la Matriz de Abundancia es una prueba estadística no paramétrica multivariada que permite medir o detectar la heterogeneidad entre grupos o categorías. Se calcula a partir de:

$$R = \frac{r_{\rm b} - r_{\rm w}}{\frac{1}{4} [n(n-1)]}$$
 Eq 7

Donde n es el número de muestras o grupos, r<sub>b</sub> es el rango medio de diferencia entre grupos y r<sub>w</sub> es el rango medio de similitudes dentro del grupo. El coeficiente R o rangos de disimilaridades puede adoptar valores entre -1 y 1, entonces: Si R es mayor que cero los grupos difieren en la composición de la comunidad; si R es igual a 0 no hay diferencia entre grupos; las comunidades ecológicas raramente presentan valores de R menores que cero. El resultado obtenido es estadísticamente significativo cuando el valor p que acompaña al coeficiente es menor a 0,05 para un nivel de confianza del 95%. El índice de asociación utilizado es el índice de similitud de Bray-Curtis. El cálculo se lleva a cabo en Past4.03.

### Índices de diversidad

Para comprender los cambios en la biodiversidad en relación con los cambios en el entorno se utilizan los índices de diversidad y casi todos se basan en la determinación de la abundancia de especies (Heip et al., 1998). Se entiende por **abundancia absoluta (Pi)** al número total de individuos por especie y/o muestra, mientras que la **abundancia relativa** es la proporción de especies en una muestra expresado en porcentaje o como frecuencia. La abundancia relativa se calcula a partir de:

$$P_i = \frac{n_i}{N}$$
 Eq 8

Donde n<sub>i</sub> es el número de individuos de la especie i y N, el número total de individuos presentes en la muestra. La abundancia relativa en porcentaje se obtiene multiplicando P<sub>i</sub> por 100.

La diversidad alfa es la riqueza de especies dentro de una comunidad particular, la diversidad beta es el grado de cambio o reemplazo en la composición de especies entre diferentes comunidades o cambio biótico a través de gradientes ambientales (Whittaker, 1972; citado por Moreno, 2001). Se calculan tres índices de diversidad alfa, que son la Riqueza específica (S), el índice de Shannon-Weiner (H') y el índice Simpson; y un índice de diversidad beta que es el índice de Bray-Curtis (BC). Los tres primeros se describen

según los métodos establecidos por Moreno (2001) mientras que el índice de diversidad beta se define según Ricotta y Podani (2017):

- Riqueza específica (S): es el número total de individuos obtenidos por censo de la comunidad. Se basa únicamente en el número de especies presentes.
- Índice de Shannon-Wiener (H'): Expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra, asumiendo que todos los individuos son seleccionados al azar y que todas las especies están representadas en la misma muestra. Puede adquirir valores entre 0 y el logaritmo de S; dependiendo si hay una sola especie (H'=0) o cuando todas las especies están presentes (H'máx=LnS). Cuanto mayor sea el valor de H' mayor es la diversidad. Se calcula:

$$H' = -\sum_{i=1}^{S} P_i \ln P_i$$
 Eq 9

 Índice de Simpson (1-D): También llamado índice cuadrático o directo de Simpson.
 Se basa en la dominancia y manifiesta la probabilidad de que dos individuos tomados al azar de una muestra sean de la misma especie. Se calcula:

$$D = \sum P_i^2$$

$$1 - D = 1 - \sum P_i^2$$
Eq 10
Eq 11

Donde D es la dominancia y Pi la abundancia relativa. Puede tomar valores entre 0 y 1; donde 0 indica que todas las especies están igualmente representadas mientras que 1 corresponde a que una especie domina la comunidad.

 Índice de Bray-Curtis (BC): también conocido como índice de similitud/disimilitud de Bray-Curtis, permite cuantificar la diferencia entre las abundancias de cada especie presente en dos comunidades. Se calcula:

$$I_{BC} = 1 - \frac{\sum (X_{Ai} - Y_{Bi})}{\sum (X_{Ai} + Y_{Bi})}$$
 Eq 12

Donde X<sub>i</sub> e Y<sub>i</sub> son las abundancias o densidades de especies i en la comunidad 1 y 2, respectivamente. El cálculo de este índice se lleva a cabo en las pruebas ANOSIM y NMDS.

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Localización de las unidades de análisis

Las 217 unidades de análisis o conjuntos de datos que hacían una caracterización físico-química del AMD en la FPI y las 69 unidades que realizaban una caracterización biológica (Diatomeas) conjuntamente con las determinación de parámetros ambientales para el mismo problema ambiental en la misma región geográfica, se encontraban situadas sobre cuencas principales o tributarias que forman parte del sistema de drenaje de las explotaciones mineras; incluyendo embalses o cualquier otro curso de agua que pudiese encontrarse afectado por AMD. En general, los complejos mineros más estudiados son Aljustrel, Lousal y São Domingos en la zona portuguesa de la FPI; mientras que en la parte española lo son Tharsis, Riotinto, Peña del Hierro, Tinto Santa Rosa, Sotiel y Lagunazo. Es importante señalar que el mayor aporte de literatura científica relativa a diatomeas en la FPI se centra en la zona portuguesa. Por otra parte, a excepción de la tesis de Sarmiento (2007) realizada sobre la cuenca del Odiel y el trabajo de diatomeas realizado por Leiva (2019) en la cuenca del mismo río, la mayoría de los artículos publicados no aportaron coordenadas geográficas que permitiesen establecer la ubicación exacta de los sitio donde se efectuó la toma de muestra, por lo que el mapa a continuación, así como los del Anexo I y II, se construyeron a partir de la observación de las imágenes aportadas por cada investigación y solo son ilustrativos.



**Figura 24** Distribución de las unidades de análisis de parámetros ambientales de AMD (Rojo) y de parámetros biológicos (diatomeas) (Verde) en la FPI. En amarillo algunas explotaciones mineras (imagen Power map - excel).

### 4.2. Características físico-químicas de las aguas afectadas por AMD

Esta sección involucra los 217 conjuntos de datos registrados en Tabla A1 (Anexo I). Inicialmente se realiza un análisis estadístico descriptivo que solo contempla los parámetros físico-químicos pH, EC y Eh. Se trabaja con 114 conjuntos de datos exclusivos de la zona española de la FPI, dado que son los que poseen registros completos de las tres variables. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1 Resumen estadístico pH, EC y Eh							
	рН	EC (µS/cm)	Eh (mV)				
Prueba de Normalidad de Anderson–Darling							
A <sup>2</sup>	3,58	10,95	1,36				
p-Valor	<0,005	<0,005	<0,005				
Ν	114	114	114				
Media	3,11	5589,21	645,74				
Error estándar	0,07	718,48	13,46				
Mediana	2,90	3728,00	662,00				
Deviación estándar	0,73	7671,31	143,75				
Varianza muestral	0,53	58848922,03	20663,67				
Coef. Variación (%)	23,44	137,25	22,26				
Curtosis	0,86	45,06	0,39				
Asimetría	0,88	5,78	-0,78				
Rango	3,82	69909,00	700,00				
Máximo	5,02	70100,00	913,00				
Mínimo	1,20	191,00	213,00				
Percentil 25	2,64	1752,25	555,25				
Percentil 75	3,44	7054,25	762,00				
Rango intercuartílico (RIC)	0,80	5302,00	206,75				

Los resultados muestran una amplia variabilidad en los parámetros físico-químicos que pone en evidencia la existencia de diferentes grados de contaminación por agua ácida. Las características geoquímicas y estructurales de las fuentes generadoras, así como el clima de la región, el período de muestreo y su ubicación pueden ser algunas de las causas de variabilidad. El resumen estadístico muestra un valor medio de pH en torno a los 3,11 y una mediana de 2,90; con mínimos superiores a 1,20 y máximos no mayores a 5; que se corresponden con entornos fluviales afectados por AMD. La conductividad eléctrica toma un valor medio de 5589,21 µS/cm y mediana de 3728,00; mientras que el potencial redox adopta una media 645,74 mV y una mediana igual a 662,00 mV; resultados igualmente compatibles con las características de las aguas ácidas de minas. Para los tres parámetros el coeficiente de variación supera ampliamente el 10%, evidenciando la sensibilidad del valor medio a la presencia de valores atípicos por lo que en ninguno de los casos la media es homogénea. Por consiguiente, la mediana y el rango intercuartílico resultan una mejor medida de la tendencia central y de la dispersión de los datos al verse menos afectada por las anomalías, en comparación con la media y la desviación estándar. Las mayores deferencias entre el valor medio y la mediana se observan para la conductividad eléctrica y el potencial redox. En la Figura 25 se representa mediante un diagrama de cajas los parámetros estadísticos básicos para el pH, EC y Eh, donde además pueden observase los datos anómalos (outliers), representados por círculos azules y hallándose más de 2 por distribución. Obsérvese que la menor variabilidad en el 50% de las observaciones intermedias corresponde al pH cuya caja de rango intercuartílico presenta una menor longitud que las correspondientes a EC y Eh. La longitud de las líneas verticales a ambos lados de la caja (bigotes) reflejan que la dispersión de los datos por encima del límite superior y por debajo del límite inferior es similar para el pH mientras que en el caso de EC y Eh las longitudes de los bigotes difieren significativamente entre sí, encontrándose más dispersas aquellas observaciones correspondientes al bigote de mayor longitud. A su vez, puede observarse que las distribuciones de pH y EC presentan asimetría derecha o positiva (media> mediana) mientras que en el caso de Eh la asimetría es izquierda o negativa (media<mediana). De las tres distribuciones, la de Eh es la más simétrica con un coeficiente de asimetría y curtosis más próximos a cero.



Figura 25 Parámetros estadísticos básicos (N=114) (EC: µS/cm; Eh: mV)

Considerando los 114 conjuntos de datos, se realiza las pruebas de correlación de Spearman y Pearson para determinar el grado de asociación entre los parámetros físicoquímicos pH y EC, pH y Eh; y EC y Eh. Los resultados obtenidos para cada prueba se encuentran en la Tabla 2 y la Tabla 3.

Tabla 2. Matriz de correlación de Spearman (N=114)							
	pН	EC	Eh				
pН		5,72E-21	2,34E-10				
EC	-0,739		0,003468				
Eh	-0,550	0,271					
Los valores p (en cursiva) por encima de la diagonal principal, por							
debajo los coeficientes de correlación de Spearman (rho).							

La prueba de Spearman (Tabla 2) muestra que en todos los casos existe una correlación estadísticamente significativa (p<0,05). Las correlaciones entre pH y Eh, y
entre pH y EC fueron de moderada a fuente, respectivamente, y en ambos casos fue negativa lo cual implica que si una variable aumenta la otra tiende a disminuir. En el caso de EC y Eh, la rho de Spearman indica una correlación positiva bastante débil entre ambas variables poniendo en evidencia que la relación entre el potencial redox y la conductividad eléctrica es escasa o nula.

Tabla 3 Matriz de correlación de Pearson (N=114)										
	рН	EC	Eh							
рН		6,69E-10	2,18E-11							
EC	-0,538		0,329							
Eh	-0,575	0,092								
Los valores µ debajo los co	o (en cursiva) por peficientes de corre	encima de la diago elación de Pearson	onal principal, por (r).							

Con la prueba de correlación de Pearson se busca determinar si la relación existente entre los pares de variables es lineal. Obsérvese que, a diferencia del caso anterior, solo la correlación entre EC y Eh no es estadísticamente significativa (p>0,05) con un valor de r de Pearson casi nulo evidenciando que no existe una relación lineal entre ambas variables. La r de Pearson para el pH y Eh, y el pH y EC, es negativa al igual que la rho de Spearman observada para los mismos pares de variables y en ninguno de los casos se observa una relación lineal fuerte.

Las aguas afectadas por AMD se caracterizan por presentar una elevada conductividad eléctrica dado que la formación de agua ácida implica el incremento de la concentración de iones en el medio acuoso. Al formarse el ácido sulfúrico, se produce la liberación conjunta de iones SO<sub>4</sub><sup>=</sup> y H<sup>+</sup> al medio. El aumento en la concentración de H<sup>+</sup>, por la oxidación bacteriana de la pirita y la hidrólisis de Fe<sup>3+</sup>, genera la disminución del pH, por lo que la acidez del agua aumenta; produciendo como consecuencia la lixiviación de los metales asociados a los sulfuros e incrementando, por lo tanto, la concentración de iones en disolución. Las mismas causas desencadenan a su vez variaciones en el potencial redox al aumentar la ratio Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup>. En AMD, el potencial redox indica el grado de oxidación de los sulfuros por lo tanto no es una medida de la generación de acidez (Aduvire, 2006).

Los diagramas de dispersión utilizados en el análisis de regresión exponen gráficamente la correlación entre las variables validando los resultados obtenidos tanto para Spearman como para Pearson. El análisis de regresión para EC vs pH (Figura 26) muestra funciones bimodales: los datos se ajustan a una función potencial a valores de pH entre 1 y 2 mientras que corresponden a una función lineal a pH mayores de 3. El modelo de regresión lineal (línea de puntos azul) puede explicar el 28,95% de la variación de EC mientras que el modelo potencial (línea puntos negra) lo hace en un 82,35%.



Figura 26 Regresión EC (µS/cm) vs pH (N=114)

Para hacer más evidente la relación de la conductividad eléctrica frente al pH resulta conveniente utilizar el logaritmo de la variable, dado que el pH es una expresión logarítmica de la concentración de protones (Figura 27). El resultado de la correlación entre el pH y el log EC fue fuerte y negativa, con un valor de r=-0,753 y p=4,15E-22. La Figura 27 muestra que a medida que el pH se torna más ácido la conductividad eléctrica aumenta. En este caso el modelo lineal permite explicar el 56,74% de la variación de los datos. En todos los casos las ecuaciones de ajuste pueden observarse en la gráfica, conjuntamente con los coeficientes de determinación ( $R^2$ ).



Figura 27 Regresión log EC vs pH (N=114)

Así mismo, se realiza un análisis de regresión para Eh vs pH y Eh vs EC cuyas gráficas corresponden a la Figura 28 y Figura 29, respectivamente. Obsérvese en la gráfica de Eh vs pH que la correlación entre ambas variables es moderada (r=-0,575;

p=2,18E-11); aunque el modelo lineal de ajuste solo puede explicar el 33,09% de la variación de los datos.



Figura 28 Regresión Eh (mV) vs pH (N=114)

Se puede afirmar que a mayor pH menor potencial redox, es decir, la capacidad oxidante del agua disminuye conforme el pH aumenta. La medida de pH no es suficiente para indicar la acidez potencial de los drenajes de mina, ya que a pH cercanos a neutro pueden existir elevadas concentraciones de Fe<sup>2+</sup> que generan acidez si se oxida e hidroliza (Aduvire, 2006).

Obsérvese que en el caso de Eh vs EC no existe correlación entre variable (Figura 29). El modelo de regresión obtenido para 114 conjuntos de datos solo puede explicar el 0,85% de la variación del potencial redox en función de la conductividad eléctrica. Se puede afirmar que ambas variables son independientes en el conjunto de datos analizados.



Figura 29 Regresión Eh (mV) vs Ec (µS/cm).

Un análisis de componentes principales permite detectar agrupaciones de variables. En este caso muestra que el primer componente (PC1) explica el 61,2% de la varianza. La variable que más se correlacionan PC1 es el pH, con una asociación negativa relativamente fuerte (-0,686) mientras que la conductividad eléctrica y el potencial redox, contribuyen al componente 1 con cargas similares y positivas; por lo tanto, si aumenta el pH, el valor del primer componente disminuye mientras que si EC y Eh, aumentan PC1 también lo hace. El segundo componente principal (PC2) se correlaciona fuertemente con EC (-0,731) y Eh (0,682). Los dos primeros componentes principales explican el 91,4% de la variación de los datos. La Figura 30 muestra gráficamente los resultados de PC1 y PC2.



Análisis de los valores y vectores propios de la matriz de correlación

				Variable	PC1	PC2	PC3
Valor propio	1,8350	0,9080	0,2570	pН	-0,686	-0,008	-0,727
Proporción	0,612	0,303	0,086	EC	0,500	-0,731	-0,464
Acumulada	0,612	0,914	1,000	Eh	0,528	0,682	-0,506

Figura 30 Análisis de componente principales pH-EC-Eh (N=114)

Como se mencionó, el AMD no solo implica elevada acidez y el incremento de la conductividad eléctrica y el potencial redox, sino también el incremento de la concentración de sulfatos y un lixiviado de metales/metaloides contaminantes como resultado de la oxidación de sulfuros metálicos con la consecuente acidificación del medio. Para vincular los parámetros físico-químicos con las concentraciones de metales y sulfatos se continúa trabajando con la Tabla A1 (Anexo I), solo que en esta ocasión se utilizan 91 conjuntos de datos, dado que hay datos faltantes en algunas de las variables. Se elimina el conjunto de datos C2 (pH=1,2; Lago Corta Atalaya – corta minera inundada) dado que representa una anomalía (todos sus registros son valores atípicos). El resumen

del análisis estadístico descriptivo para sulfatos, hierro y el sumatorio de Ficklin se encuentran agrupadas en la Tabla 4.

Tabla 4 Resumen estadístico SO₄⁼; Fe (total) y Σ Ficklin										
	SO4= (mg/L)	Fe (mg/L)	Σ Ficklin (mg/L)							
Prueba de Normalidad de Anc	lerson–Darling									
A <sup>2</sup>	7,57	13,38	7,81							
p-Valor	<0,005	<0,005	<0,005							
N	91	91	91							
Media	5653,63	517,05	156,38							
Error estándar	804,52	99,94	21,94							
Mediana	2840,00	105,00	67,13							
Deviación estándar	7674,65	953,37	209,31							
Varianza muestral	58900282,69	908916,80	43810,03							
Coef. Variación (%)	135,75	184,39	133,85							
Curtosis	20,90	8,23	5,46							
Asimetría	3,73	2,86	2,17							
Rango	56488,40	4620,00	1111,90							
Máximo	56520,00	4620,00	1111,93							
Mínimo	31,60	0,00	0,03							
Percentil 25	1081,00	13,05	22,33							
Percentil 75	7922,00	633,50	221,11							
Rango intercuartílico (RIC)	6841,00	620,45	198,78							

En la Figura 31 se representa mediante diagramas de cajas los parámetros estadísticos básicos para las concentraciones de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, Fe y el sumatorio de Ficklin. Obsérvese que, de igual manera que ocurría para los parámetros físico-químicos pH, EC y Eh, los valores medios obtenidos para las tres variables no son homogéneos lo que denota la sensibilidad de la media a los datos anómalos (coeficientes de variación mayores al 10%). Así mismo, la prueba de normalidad de Anderson-Darling muestra que ninguno de las variables se ajusta a la distribución normal al presentar valores de A<sup>2</sup> mayores a cero con p-valor <0,005. Se observa la existencia de por lo menos 3 valores atípicos en cada distribución y todas las distribuciones presentan asimetría derecha o positiva (media> mediana).





33

Los resultados de la prueba de correlación de Spearman desarrollada en Past4.03 se hallan en la Figura 32. Obsérvese que, el pH y EC en general presentan correlaciones muy significativas (p<0,001), entre moderadas y fuertes, con la concentración de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, metales y el sumatorio de Ficklin. El potencial redox no se correlaciona con la concentración de Pb (rho: 0,078; p: 0,460) sin embargo presenta correlaciones muy significativas con las concentraciones de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, Fe, Zn, Cu y Cd; y menos significativas con Co, Ni y el sumatorio de Ficklin. Las asociaciones de Eh con las variables anteriores varían de débiles a moderadas (valores de rho entre 0,2 y 0,5). La concentración de SO<sub>4</sub><sup>=</sup> siempre muestra una correlación muy significativa con la de los metales estableciendo, en general, asociaciones positivas fuertes. Obsérvese que solo las correlaciones del pH son negativas por lo que su relación con las variables es inversa. Finalmente, el sumatorio de Ficklin resulta en una simplificación representativa adecuada de las concentraciones de Cd, Co, Cu, Ni, Pb y Zn.

1	pН	EC	Eh	SO4=	Fe	Zn	Cu	Cd	Co	Ni	Pb	Ficklin
pН		3,70E-15	1,54E-10	6,49E-17	2,38E-23	1,49E-09	1,47E-09	1,94E-07	2,24E-10	8,89E-08	0,021099	1,76E-09
EC	-0,709		0,00329	3,12E-32	2,73E-16	1,98E-12	1,62E-11	8,47E-16	2,71E-28	3,01E-22	6,84E-06	1,19E-21
Eh	-0,609	0,305		0,00052	0,00092	5,13E-05	4,54E-07	0,00137	0,01615	0,03874	0,46018	0,014749
SO4=	-0,739	0,891	0,357		3,38E-21	3,22E-17	3,88E-16	2,46E-18	1,01E-27	5,71E-22	9,30E-06	2,77E-23
Fe	-0,821	0,729	0,342	0,797		1,12E-10	1,19E-11	6,28E-08	8,83E-11	4,10E-08	0,00017	4,76E-11
Zn	-0,582	0,654	0,411	0,743	0,612		4,50E-19	4,53E-24	7,17E-09	1,13E-11	0,00176	9,70E-22
Cu	-0,582	0,633	0,500	0,726	0,637	0,770		5,98E-14	8,65E-11	9,80E-12	0,00274	1,42E-12
Cd	-0,513	0,720	0,331	0,760	0,531	0,828	0,686		7,18E-16	2,20E-17	1,16E-05	1,10E-24
Co	-0,604	0,864	0,252	0,860	0,615	0,561	0,615	0,722		6,14E-35	2,44E-07	9,91E-25
Ni	-0,525	0,809	0,217	0,806	0,537	0,637	0,639	0,746	0,906		2,18E-09	7,26E-33
Pb	-0,242	0,452	0,078	0,446	0,384	0,323	0,311	0,442	0,510	0,577		1,21E-09
Ficklin	-0,580	0,802	0,255	0,820	0,622	0,803	0,658	0,834	0,834	0,894	0,584	

**Figura 32** Prueba de correlación de Spearman (N=91). Los valores p en cursiva con p: <0,001 muy significativo (verde); <0,01 muy significativo (celeste); <0,05 Significativo (Amarillo). Sin correlación en rojo.

Los resultados de la prueba de correlación de Pearson para el mismo conjunto de datos se muestran en la Figura 33 y permite establecer si la relación entre las variables es lineal. En general, el pH y EC presentan correlaciones muy significativas con las concentraciones de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, metales y el sumatorio de Ficklin, a excepción del Co, Ni y Pb con los que no se correlacionan (p>0,05). Obsérvese que Eh, no se correlaciona con las concentraciones de Fe, Cd y el sumatorio de Ficklin (p>0,05) mientras que presenta correlaciones en general significativas con el resto de las variables. Por otra parte, la concentración de sulfatos exhibe una correlación muy significativa con los metales a excepción de las del Co, Ni y Pb con quien no se correlaciona (p>0,05).

Los r próximos a 1, en valor absoluto, indican asociaciones lineales fuertes entre las variables, lo contrario ocurre cuando r tiende a 0. El signo, en cambio, permite establecer si la relación es directa (+) o inversa (-). Obsérvese que todos los valores de r son negativos para el pH mientras que el resto de las variables presentan valores tanto positivos como negativos, excepto EC y las concentraciones de Co, Ni y Pb que poseen valores siempre positivos.

	pН	EC	Eh	SO4=	Fe	Zn	Cu	Cd	Co	Ni	Pb	Σ Ficklin
pН		3,19E-09	5,89E-11	5,47E-08	1,91E-06	5,86E-04	2,31E-05	0,001	0,660	0,657	0,819	8,45E-05
EC	-0,572		0,037	6,18E-36	3,60E-07	1,67E-06	4,51E-05	1,70E-08	0,092	0,088	0,182	2,17E-08
Eh	-0,619	0,219		0,004	0,084	0,015	2,54E-04	0,072	5,10E-04	8,75E-04	2,88E-04	0,203
SO4=	-0,533	0,911	0,302		1,48E-08	3,39E-08	1,55E-10	1,01E-08	0,719	0,683	0,964	1,23E-09
Fe	-0,476	0,504	0,182	0,551		1,32E-05	8,23E-10	1,86E-04	0,664	0,802	0,696	2,42E-06
Zn	-0,354	0,478	0,254	0,540	0,439		3,77E-11	2,03E-30	0,400	0,468	0,293	1,18E-29
Cu	-0,428	0,414	0,375	0,609	0,589	0,624		4,12E-11	0,531	0,601	0,330	3,18E-15
Cd	-0,336	0,549	0,189	0,557	0,382	0,879	0,623		0,743	0,716	0,434	6,12E-22
Co	-0,047	0,178	-0,357	0,038	-0,046	-0,089	-0,067	-0,035		1,89E-50	1,05E-49	6,27E-04
Ni	-0,047	0,180	-0,343	0,043	-0,027	-0,077	-0,056	-0,039	0,959		1,44E-96	4,40E-04
Pb	-0,024	0,141	-0,372	-0,005	-0,042	-0,111	-0,103	-0,083	0,957	0,996		0,002
Σ Ficklin	-0,400	0,546	0,135	0,584	0,471	0,874	0,710	0,806	0,352	0,361	0,321	

**Figura 33** Prueba de correlación de Pearson (N=91). Los valores p en cursiva con p: <0,001 muy significativo (verde); <0,01 muy significativo (celeste); <0,05 Significativo (Amarillo). Sin correlación en rojo.

Los diagramas de dispersión utilizados en el análisis de regresión muestran gráficamente la correlación entre las variables validando los resultados obtenidos tanto para Spearman como para Pearson. Por otra parte, dado que el sumatorio de Ficklin es una simplificación representativa, se muestra esa variable frente al pH y EC en lugar de las concentraciones individuales de los metales que lo conforman.

El análisis de regresión entre la conductividad eléctrica y las concentraciones de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, Fe y el sumatorio de Ficklin corresponde a las Figura 34, Figura 35 y Figura 36, respectivamente. Obsérvese que el parámetro físico-químico EC presenta una alta correlación lineal con la concentración de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, pero baja con la de Fe y el sumatorio de Ficklin. En el primer caso, el modelo lineal permite explicar el 82,94% la variación de los datos mientras que en los dos últimos lo hace entre un 25 y 30%.



Figura 34 Regresión SO4= vs EC (N=91)



Figura 35 Regresión Fe vs EC (N=91)

Figura 36 Regresión Σ Ficklin vs EC (N=91)

En general la conductividad eléctrica está determinada por la concentración de iones presentes en el medio. Las gráficas anteriores indirectamente muestran que, cuando se genera el drenaje ácido, la producción de sulfatos tiende a ser proporcional mientras que la carga metálica se encuentra más influenciada por las características morfométricas, hidrológicas, estructurales y mineralógicas de la fuente generadora de AMD y que afectan el régimen de emisión del contaminante. Las Figura 37, Figura 38 y Figura 39 muestran el análisis de regresión entre el pH y las concentraciones de SO4<sup>=</sup>, Fe y el sumatorio de Ficklin. Obsérvese que en todos los casos las correlaciones con el pH no son buenas (a valores de pH inferiores a 3 se tienen grandes incrementos en las concentraciones de SO4<sup>=</sup>, Fe y el sumatorio de Ficklin) por lo que el modelo lineal no es el más adecuado para representar la variación de los datos. No se puede olvidar que los metales serán solubles a pH<3, aumentando su precipitación a pH superiores. En consecuencia, se pueden establecer funciones bimodales (aproximadamente pH 2-3 y pH > 3); por lo que resulta conveniente representar log variables vs pH.



Figura 37 Regresión SO4= vs pH (N=91)

36







Obsérvese en las Figura 40, Figura 41 y Figura 42 que las correlaciones con el pH mejoran notablemente al considerar el logaritmo de las variables; ya no se observan funciones bimodales. En todos los casos las asociaciones son negativas y muy significativas (p<0,001); y el modelo de regresión lineal permite explicar entre un 40 y 65% la variación de los datos. Las concentraciones de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, Fe y de los metales representados por el sumatorio de Ficklin muestran valores altos a pH bajo, lo cual es consistente con las aguas contaminadas por AMD.

Tabla 5 Matriz de correlación de Pearson log variable vs pH (N=91)									
	pН	log SO4=	log Fe	log Σ Ficklin					
рН		1,80E-18	4,30E-22	7,20E-12					
log SO4=	-0,762		2,11E-20	3,77E-26					
log Fe	-0,807	0,787		4,85E-12					
log Σ Ficklin	-0,642	0,847	0,646						
Los valores p (	(en cursiva) por e correlación de	encima de la d Pearson (r)	liagonal princip	al, por debajo los					



Figura 40 Regresión log SO<sub>4</sub><sup>=</sup> vs pH (N=91)



Figura 41 Regresión log Fe vs pH (N=91)

Figura 42 Regresión log Σ Ficklin vs pH (N=91)

Los resultados del análisis de componentes principales (ACP) muestran que los tres primeros componentes permiten explicar el 80,7% de la variación de los datos (Figura 44). En este caso el primer componente (PC1) explica el 42,7% de la varianza mientras que el segundo y el tercero lo hacen en un 23,7% y 10,7%, respectivamente. Las variables que más se correlacionan con PC1 son EC (0,347), SO<sub>4</sub><sup>=</sup> (0,370), Fe (0,299), Cd (0,36), Cu (0,353), Zn (0,366) y pH (-0,292), siendo este último el único que aporta una carga negativa al componente 1. El Eh y las concentraciones de Co, Ni y Pb se encuentran más correlacionadas con el segundo componente. El tercer componente se encuentra representado principalmente por el pH, el potencial redox y las concentraciones de Zn y Cd. La Figura 43 muestra gráficamente los resultados de este análisis.



Figura 43 ACP-Matriz de Correlación (Parámetros ambientales) (N=91).

38

Análisis de los valores y vectores propios de la matriz de correlación

Valor pro Proporció Acumulada	pio 5,1 n 0, 0,	292 3,2 427 0, 427 0,	2803 1,2 273 0, 701 0,	802 0,8 107 0, 807 0,	296 0,6 069 0, 877 0,	707 0,3 056 0, 933 0,	891 0,2 032 0, 965 0,	001 0,: 017 0, 982 0,	L306 0,0 ,011 0, ,992 0,	0528 0,0 004 0, 997 1,	356 0,0 003 0, 000 1,	017 -0, 000 -0 000 1	0000 ,000 ,000
Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10	PC11	PC12	
pH	-0,292	0,034	-0,532	0,253	0,008	-0,425	0,577	0,211	0,031	0,083	-0,012	0,000	
EC	0,347	0,079	0,243	0,433	0,406	0,000	0,055	0,148	-0,067	0,657	0,014	-0,000	
Eh	0,179	-0,271	0,444	-0,558	0,080	-0,184	0,533	0,244	0,039	-0,003	-0,018	0,000	
S04=	0,370	-0,003	0,184	0,405	0,251	-0,365	0,085	-0,247	0,052	-0,630	-0,039	0,000	
Fe	0,299	-0,041	0,116	0,370	-0,706	0,352	0,306	0,190	0,052	-0,067	0,013	-0,000	
Zn	0,366	-0,062	-0,391	-0,182	0,122	0,277	0,260	-0,439	-0,019	0,078	-0,002	0,565	
Cu	0,353	-0,075	-0,106	-0,128	-0,432	-0,644	-0,367	0,028	-0,079	0,231	-0,027	0,213	
Cd	0,360	-0,037	-0,387	-0,098	0,247	0,180	-0,215	0,701	-0,042	-0,275	-0,036	0,001	
Co	0,030	0,536	0,075	-0,098	-0,005	-0,045	-0,022	0,102	0,803	0,020	-0,009	0,197	
Ni	0,034	0,542	0,080	-0,107	-0,032	-0,049	0,096	0,065	-0,406	-0,101	0,697	0,098	
Pb	0,013	0,543	0,081	-0,101	-0,051	0,005	0,103	0,024	-0,402	-0,044	-0,713	0,045	
Ficklin	0,381	0,173	-0,285	-0,215	-0,038	0,007	0,102	-0,279	0,094	0,111	0,036	-0,765	

Figura 44 Resultados ACP-Matriz de Correlación (Parámetros ambientales) (N=91).

El Análisis de Clúster o de Conglomerados Jerárquicos de Variables, al igual que el Análisis de Componentes Principales, permite determinar agrupaciones de variables. Obsérvese en dendrograma (Figura 45) el Pb-Co-Ni; EC-SO<sub>4</sub>=-Fe; Cd-Zn-Cu forman tres subclúster; mientras que el pH y Eh quedan aislados. Las mismas asociaciones se observan en la Figura 43.



Figura 45 Dendrograma (N=91)

## 4.3. Diatomeas indicadoras del grado de afección por AMD

El análisis de la información documentada de la FPI permitió obtener 69 unidades de análisis o conjuntos de datos correspondientes a 15 estudios que investigaban las especies de diatomeas y conjuntamente las características físico-químicas y concentraciones de metales del agua en los puntos de muestreo para un rango de pH entre 1 y 5. El número total de taxa reportadas fue de 117, distribuidas en 47 géneros (Tabla A2; Anexo II). La Tabla A3 exhibe los parámetros ambientales asociados a los 69 puntos.

Se busca establecer una relación entre la caracterización físico-química del AMD realizada en punto 4.2 con los resultados obtenidos en la caracterización del mismo problema ambiental a partir del análisis de los mismos parámetros en el agua muestreada y las diatomeas. Se realiza un análisis estadístico considerando registros completos de las variables abundancia (%), pH, EC, Eh, SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, Fe y las concentraciones de los metales Cd, Co, Cu, Ni, Pb y Zn necesarias para el cálculo del sumatorio de Ficklin. Por otra parte, dado que el sumatorio resulta una buena simplificación de la concentración de los metales frente al pH, se utiliza directamente este parámetro. Finalmente, se trabaja con un número total de 22 unidades de análisis, todas localizadas en la parte española de la FPI; en la Tabla A4 del Anexo III se agrupan las unidades de trabajo utilizadas en el presente apartado. Muchos estudios no pudieron ser incluidos como parte del análisis estadístico, principalmente los de la zona portuguesa, por falta de datos, especialmente abundancia y potencial redox. Los resultados del análisis estadístico descriptivo de los parámetros físico-químicos de las muestras de agua que acompañaban al muestreo de diatomeas se encuentra en la Tabla 6:

Tabla 6 Resumen esta	Tabla 6 Resumen estadístico parámetros físico-químicos y concentraciones (N=22)									
	рН	EC	Eh	SO4=	Fe	Σ Ficklin				
		(µS/cm)	(mV)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)				
Prueba de Normalidad	de Anderso	on-Darling								
A <sup>2</sup>	0,34	0,70	1,68	2,32	1,88	2,99				
p-Valor	0,455	0,058	< 0,005	< 0,005	< 0,005	< 0,005				
Ν	22	22	22	22	22	22				
Media	3,28	4837,73	633,79	4991,82	833,62	132,16				
Error estándar	0,21	757,10	17,12	1356,68	224,36	43,18				
Mediana	3,17	5015,00	642,84	4606,50	190,10	114,18				
Deviación estándar	0,97	3551,14	82,32	6363,38	1052,34	202,55				
Varianza muestral	0,95	12610570,02	6450,89	40492557,68	1107426,96	41026,70				
Coef. Variación (%)	29,65	73,41	12,67	127,48	126,24	153,26				
Curtosis	-0,53	2,48	2,42	13,55	3,89	15,41				
Asimetría	-0,13	1,22	-0,63	3,34	1,67	3,67				
Rango	3,50	14805,00	389,00	30622,00	4244,10	968,66				
Máximo	4,90	15540,00	807,04	30707,00	4244,20	972,88				
Mínimo	1,40	735,00	418,04	85,00	0,10	4,21				
Percentil 25	2,68	1621,75	630,24	1161,50	10,18	23,52				
Percentil 75	4,00	6412,50	654,68	6832,25	1357,75	183,55				
Rango intercuartílico	1,32	4790,75	24,44	5670,75	1347,58	160,04				

Los valores medios observados para cada variable son consistentes a los esperados para aguas afectadas por AMD y similares a los obtenidos en el punto 4.2 del presente trabajo. De igual manera, el coeficiente de variación es superior al 10% en todos los casos, por lo que el valor medio no resulta una medida representativa del conjunto de datos. Como se ha mencionado anteriormente, las causas de la variación de los

parámetros ambientales, se centran principalmente en las características de la fuente generadora, el periodo de muestreo y su localización geográfica, así como otros factores que afectan el régimen de emisión de contaminantes. La prueba de normalidad de Anderson-Darling muestra que, salvo por el pH (A<sup>2</sup>=0,34; p=0,455), ninguno de los conjuntos de datos proviene de una distribución normal. En la Figura 46 se representan los parámetros estadísticos básicos donde además pueden observarse los datos atípicos.



Figura 46 Parámetros estadísticos básicos para N=22 (EC: μS/cm; Eh: mV; SO4=, Fe y ΣFicklin: mg/l)

Así mismo, los resultados de las correlaciones de Spearman y Pearson, y los análisis de regresión correspondientes a los parámetros anteriores son similares a los obtenidos en el punto 4.2, por lo que las representaciones gráficas son prácticamente idénticas. Dado que los resultados obtenidos para los parámetros ambientales de los 22 conjuntos de datos son similares a los arrojados por los 114 analizados en el punto 4.2; cabe de esperar que los resultados referentes a las especies de diatomeas obtenidos en el presente apartado puedan ser extendidos a toda la FPI; aun cuando el crecimiento de estas microalgas, al igual que cualquier otro organismo, se encuentra condicionado por las condiciones ambientales del entorno donde viven. Los ríos impactados por AMD exhiben una baja diversidad y la flora diatomológica es bastante similar entre ellos, con independencia de la hidrología natural y la variabilidad climática (Fernández et al., 2018; Sabater et al., 2003); por lo que la actividad minera tiende a ejercer mayor influencia que las estaciones en la flora de diatomeas (Luís et al., 2015; citado por Fernández et al., 2018).

Para vincular las especies de diatomeas con las características físico-químicas de su entorno, se investigan aquellos taxones con una abundancia mayor al 1,5 % pertenecientes a las 22 unidades de análisis estudiadas anteriormente. Las 9 especies observadas representan el 81,22% de la abundancia total del conjunto y son: PACI-*Pinnularia acidophila* Hoffman & Krammer (44,73%); NVEN- *Navicula veneta* Kützing (8,63%); PSCA- *Pinnularia subcapitata* Gregory (5,81%); PSEL-*Pinnularia subcapitata* Gregory *var. elongata* Krammer (5,50%); ADMI- *Achnanthidium minutissimum* (Kützing) Czarnecki (4,19%); BVIT- *Brachysira vitrea* (Grunow) Ross in Hartley (3,98%); EEXI-*Eunotia exigua* (Brébisson ex Kützing) Rabenhorst (3,75%); NPAL-*Nitzschia palea var. palea* (Kützing) W. Smith (2,43%) y PALJ- *Pinnularia aljustrelica* Luís, Almeida et Ector (2,20%). La Figura 47 muestra los taxones anteriores, cuyo porcentaje de abundancia relativa se recalcula considerando solo las 9 especies.



Figura 47 Abundancia relativa (%) de taxones en agua ácida

Obsérvese que la especie más abundante encontrada en condiciones ácidas corresponde a la *P. acidophila*. Si bien, la falta de información aportada por las investigaciones condujo a la exclusión del análisis estadístico de aquellas investigaciones relacionadas con los entornos mineros de Portugal, hay que mencionar que las especies *Achnanthidium minutissimum, Eunotia exigua, Pinnularia subcapitata y P. aljustrelica* son las más citadas por los autores en relación al AMD en las minas de Aljustrel, São Domingos y Lousal, siendo *P. aljustrelica* la especie que se destaca con abundancias entre el 85 y el 95%, en un rango de pH entre 1,90-2,20 (Gerhardt et al., 2008; Luís et al., 2011; Luís et al., 2012; Luís, Alexander et al., 2013; Luís et al., 2013; Luís et al., 2016; Luís et al., 2018; Luís et al., 2019). Aunque con poca información, hay dos especies de diatomeas acidófilas de medios AMD citadas por algunos autores, como *P. obscura* Krasske (DeNicola, 2000) o *P. acoricola* Hustedt (Urrea-Clos y Sabater, 2009; Fernández et al., 2018).

El estudio de Urrea y Sabater (2009) y el estudio de Fernández et al. (2018), ambos realizados sobre las cuencas de los ríos Tinto y Odiel identifican a la *P. acoricola* (PACO) como otra especie frecuente en ambientes afectados por agua ácida de mina. Si bien, *P. acoricola* no fue informada en los 22 conjuntos de datos analizados estadísticamente, es importante mencionar que, considerando la totalidad de unidades de análisis (N=69) pertenecientes a los 15 estudios examinados en el presente apartado, esta especie ha

sido reportada con una abundancia relativa especialmente alta (P<sub>i</sub>%: 90,88-68,72; pH: 1,5-2,71) en ambientes afectados de los entornos mineros de Aljustrel (Luís et al., 2008), Lousal (Luís et al., 2011) y São Domingos (Gerhardt et al., 2008) en Portugal; así como en el embalse de Aguas Ácidas, del entorno minero de Tharsis (Valente et al.; 2015) y en efluentes de la mina Peña del Hierro, del grupo minero Riotinto (Sabater et al., 2003) en la zona española de la FPI. Así mismo, también ha sido informada en ambientes contaminados por AMD asociados a minas en Reino Unido y Estados Unidos (DeNicola, 2000).

Por su parte, si bien P. *obscura* (POBS) no aparece citada entre los estudios examinados de la FPI, es una especie que debe considerarse como característica de los ambientes altamente ácidos. Según DeNicola (2000), la *P. obscura* es muy parecida a la *P. acoricola* en cuanto a tamaño y divergencia de estrías por lo que con frecuencia resulta muy dificultoso la separación de ambos taxones; a pesar de ello se ha reportado en lagunas y efluentes con AMD y en cortas mineras como Berkeley Mining en Estados Unidos. Así mismo, la dificultad para separar taxones debido a similitudes morfológicas también se observa entre *P. acoricola* y P. *acidophila* por lo que pocos autores las reportan de manera simultánea. La identificación taxonómica de una especie es muy compleja y a menudo se producen identificaciones erróneas. El problema reside en que se basa en diferencias morfológicas, por lo tanto, se requiere de microscopios de alta calidad y taxonomistas entrenados. Las imágenes a continuación muestran las especies anteriores.



**Figura 48** Especies de diatomeas: a- *Pinnularia aljustrelica* Luís, Almeida et Ector (PALJ) (Fuente: Luís et al., 2012); b- *Pinnularia subcapitata* Gregory (PSCA) (Fuente: SANDRE); c-*Pinnularia acidophila* Hoffman & Krammer (PACI) (Fuente: Luís et al., 2012); d- *Pinnularia obscura* Krasske (POBS) (Fuente: Ciniglia et al., 2007); e- *Pinnularia acoricola* Hustedt (PACO) (Fuente: Luís et al., 2012).





**Figura 49** Especies de diatomeas: a- *Achnanthidium minutissimum* (Kütz.) Czarnecki (ADMI) (Fuente: C.H. Júcar/Juan Alcober Bosch); b- *Brachysira vitrea* (Grun.) Ross in Hartley (BVIT) (Fuente: MARM/Juan Alcober Bosch); c- *Nitzschia palea var. palea* (Kütz.) W. Smith (NPAL) (Fuente: C.H. Júcar/Juan Alcober Bosch); d- *Eunotia exigua* (Bréb. ex Kütz.) Rabenhorst (EEXI) (Fuente: MARM); e- *Navicula veneta* Kützing (NVEN) (Fuente: Saúl Blanco Lanza).

Obsérvese que, de las especies mencionadas, seis pertenecen al género *Pinnularia* mientras que las otras cinco corresponden a los géneros *Eunotia, Navícula, Achnanthidium, Nitzschia* y *Brachysira*. Las especies del género *Pinnularia* son especies que comúnmente se encuentran a valores bajos de pH (DeNicola, 2000) por lo que son capaces de desarrollarse en ambientes con características físico-químicas agresivas.

Para establecer la relación entre las especies de diatomeas más abundantes y el entorno en el cual se desarrollan, en primer lugar, se recuerda que un ambiente afectado por AMD implica un marcado descenso de pH por la producción de ácido y el consecuente incremento en la concentración de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>. La elevada concentración de H<sup>+</sup> en el medio a su vez produce la lixiviación de los metales, incrementando su concentración en el agua y cuya composición es variable según la paragénesis se la zona; otra consecuencia es que parámetros como la conductividad eléctrica y el potencial redox también aumentan. Lo segundo a considerar es que la forma en que la especie interactúe con el entorno que la rodea determina su supervivencia. Como cualquier organismo vivo, las diatomeas poseen requerimientos nutricionales y físico-químicos que deben satisfacer y que, a su vez, establecen rangos de desarrollo óptimo fuera de los cuales pueden llegar a vivir dentro de ciertos límites, pero sufriendo el estrés introducido por las condiciones ambientales.

Para conocer la naturaleza de las distribuciones de las especies en el contexto ambiental previamente establecido (Tabla 6), se realizan los respectivos diagramas de cajas (Figura 50). Obsérvese que ninguna de las especies sigue una distribución normal. A su vez, los diagramas permiten observar que los taxones más abundantes de aguas ácidas se pueden ordenar de la siguiente manera: PACI> EEXI=PSCA> NPAL = PALJ > PSEL = NVEN > ADMI > BVIT.



Figura 50 Diagramas de cajas – Taxones más abundantes (N=22)

Obsérvese que las especies *B. vitrea* y *A. minutissimum*, presentan la mayoría de sus valores como datos atípicos (outliers) y prácticamente no poseen ancho de caja (variabilidad del 50% de las observaciones intermedias). En general, a medida que el ancho de caja aumenta, el número de valores anormales decrece; indicativo de que, en las condiciones ambientales de estudio, hay especies que se desarrollan sin mayores dificultades (ej. *P. acidophila*) mientras que otras presentan tolerancia a los factores físico-químicos pero que su desarrollo optimo se encuentra en ambientes menos extremos. Muchos organismos típicos de entornos neutros pueden ser tolerantes a los ácidos o a la presencia de metales pesados, pudiendo también crecer en estas condiciones (DeNicola, 2000; Luís et al., 2019).

Se analiza la interacción entre los taxones y los parámetros ambientales mediante la correlación rho de Spearman dado que las especies no siguen una distribución normal. Los resultados se encuentran en la Figura 51.

	рН	EC	Eh	SO4=	Fe	Ficklin	ADMI	BVIT	EEXI	NPAL	NVEN	PACI	PALI	PSCA	PSEL
рH		5,22E-09	0,20288	1,65E-07	3,91E-06	8,79E-06	0,21256	0,14153	0,050796	0,038976	0,57109	0,0030567	0,41833	0,27247	0,0051219
EC	-0,908		0,35747	2,36E-10	5,65E-08	2,12E-09	0,06671	0,023071	0,010685	0,016192	0,46427	0,0024369	0,66015	0,24858	0,0026888
Eh	-0,282	0,206		0,35747	0,50454	0,42544	0,022643	0,069267	0,97991	0,35847	0,58371	0,70908	0,051226	0,34977	0,026066
SO4=	-0,868	0,933	0,206		2,75E-07	4,32E-13	0,17713	0,0048891	0,0020202	0,033831	0,80219	0,0054778	0,90457	0,33803	0,00086706
Fe	-0,815	0,882	0,150	0,861		9,82E-07	0,019143	0,01844	0,0052661	0,010248	0,17312	6,87E-05	0,71452	0,33458	0,00043487
ΣFicklin	-0,798	0,916	0,179	0,965	0,840		0,14163	0,0016283	0,0015722	0,086382	0,67437	0,0083091	0,63449	0,42507	0,0010678
ADMI	0,277	-0,398	-0,483	-0,299	-0,495	-0,324		0,0053978	0,29273	0,68315	0,047888	0,35921	0,046727	0,46943	0,0068266
BVIT	0,324	-0,482	-0,394	-0,577	-0,498	-0,631	0,572		0,0011131	0,50308	0,26895	0,18829	0,54846	0,14221	0,0013154
EEXI	0,421	-0,533	0,006	-0,621	-0,573	-0,633	0,235	0,648		0,2132	0,079126	0,0028944	0,68825	0,65506	0,0017229
NPAL	0,443	-0,506	-0,206	-0,454	-0,535	-0,374	0,092	0,151	0,276		0,57892	0,0010219	0,71818	0,0058747	0,37146
NVEN	0,128	-0,165	-0,124	-0,057	-0,301	-0,095	0,426	0,246	0,382	0,125		0,024461	0,65327	0,063698	0,0049502
PACI	-0,602	0,613	-0,084	0,571	0,745	0,548	-0,205	-0,291	-0,604	-0,651	-0,478		0,70611	0,14446	0,04675
PALI	0,182	-0,099	-0,421	-0,027	-0,083	-0,107	0,428	0,135	-0,091	-0,082	0,101	0,085		0,55925	0,60133
PSCA	0,245	-0,257	0,209	-0,214	-0,216	-0,179	-0,163	-0,323	-0,101	0,568	-0,402	-0,322	0,132		0,096857
PSEL	0,575	-0,608	-0,473	-0,658	-0,685	-0,650	0,559	0,641	0,629	0,200	0,577	-0,428	0,118	-0,363	

**Figura 51** Prueba de correlación de Spearman (N=22). Los valores p en cursiva con p: <0,001 muy significativo (verde); <0,01 muy significativo (celeste); <0,05 Significativo (Amarillo).

El coeficiente de correlación de Spearman para todas las correlaciones estadísticamente significativas adopta valores entre 0,40 y 0,75, en valor absoluto, por lo que las asociaciones son moderadas con tendencia a fuertes y el signo cambia dependiendo de la especie y la variable. En las figuras a continuación se representan gráficamente los valores de rho obtenidos para cada especie considerando cada uno de los parámetros ambientales de estudio. El símbolo \* en las gráficas de barras simboliza que la correlación es significativa. Las gráficas permiten visualizar la relación de las diatomeas con los parámetros físico-químicos.

0,8

0,6

0,4

0,2 0

-0,2 -0,4

-0,6

-0,8

EEXI

PSEL

NPAL BVIT ADMI PSCA

rho de Spearman



Figura 52 Preferencias de pH (N=22)

0,3 0,2 rho de Spearman 0,1 0 -0,1 -0,2 -0,3 -0,4 -0,5 \* -0,6 PSCA ADMI PAU NVEN PACI BVIT NPAL EEX PSEL Eh

Figura 54 Preferencias de Eh (N=22)



Figura 56 Preferencias de Fe (N=22)

Figura 53 Preferencias de EC (N=22)

EC

PALJ PACI



Figura 55 Preferencias de SO4= (N=22)





46

Obsérvese que Pinnularia acidophila experimenta correlaciones significativas fuertes con el pH, EC, las concentraciones de SO<sub>4</sub><sup>=</sup> y Fe, y el sumatorio de Ficklin; estableciendo una relación inversa con el pH y directa con el resto de las variables mencionadas. En el caso de Eh el resultado obtenido es contradictorio. El potencial redox es una medida de la relación de especies oxidantes frente a especies reductoras derivadas de la generación de acidez y oxidación de los materiales reducidos en un entorno generador y en un medio de transporte de AMD, determinado por el grado de oxidación de los sulfuros; por lo que un elevado Eh implica un entorno ácido en el que la especie ya manifiesta una correlación significativa fuerte. En general, los resultados obtenidos para P. acidophila son consistentes dado que se trata de una especie acidobionte comúnmente asociada a ambientes muy contaminados por AMD, por lo que pueden vivir en aguas acidas con valores de pH extremadamente bajos, elevada conductividad eléctrica y en presencia de concentraciones altas de sulfatos y metales, como Fe y Cu (Fernández et al., 2018). En experiencias de laboratorio donde se simula un entorno AMD, la oxidación de hierro en presencia de bacterias acidófilas propias de regiones piritíferas se acompaña de una significativa elevación del potencial redox a medida que se genera Fe<sup>3+</sup> (Kaksonen et al., 2016; Liu et al., 2017; Borrego et al., 2020)

Pinnularia aljustrelica, al igual que la P. acidophila, es una especie acidobionte muy abundante en aguas ácidas de pH entre 1,9 y 2,3; elevada conductividad, concentración de sulfatos y metales/ metaloides como el As, Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn (Fernández et al., 2018; Luís et al 2016; Luís et al., 2018). Su naturaleza extremófila la hace tolerante a valores de pH extremadamente bajos (pH=1,9) donde presenta una alta capacidad de supervivencia, mientras que, en ambientes con pH alcalino, no se adapta y por lo tanto no es capaz de sobrevivir (Luís et al., 2018). En el conjunto de datos analizados, la abundancia relativa reportada para esta especie es baja por lo que los resultados obtenidos son contradictorios a los esperados para una especie acidobionte con requerimientos similares a los de la P. acidophila, sin embargo, no se debe olvidar que su descubrimiento es reciente y fue identificada por primera vez en los entornos mineros de Portugal, por lo que su identificación no se encuentra aún muy difundida en la zona española de la FPI. Datos recientes, aún no publicados, muestran que aproximadamente el 50% de las diatomeas halladas en la zona minera más occidental de Huelva, en el entorno del complejo minero del arroyo Trimpancho, son P. aljustrelica (Córdoba, comunicación personal). Por otra parte, si bien se han reportado P. aljustrelica y P. acidophila con deformidades, ambas especies parecen haber desarrollado mecanismos de desintoxicación eficientes que las previenen, así como a otros efectos tóxicos, al vivir bajo condiciones extremas a largo plazo (Fernández et al., 2018), lo que las hace características de estos ambientes.

Las especies Eunotia exigua, Brachysira vitrea, Nitzschia palea, Achnanthidium minutissimum, Navícula veneta, Pinnularia subcapitata y P. subcapitata var. elongata presentan correlaciones positivas (directas) con el pH, por lo que al disminuir la concentración de H<sup>+</sup> presentes en el medio, la abundancia de las especies aumenta. A la

vez manifiestan correlaciones negativas (inversa) con EC y las concentraciones de SO<sub>4</sub><sup>=</sup>, Fe y el sumatorio de Ficklin. De estas especies, la única que manifiesta una correlación directa con el potencial redox es la *P. subcapitata*, por lo que la especie muestra una preferencia por los medios oxidante. En general, los valores observados de rho para estas especies tienden a ser entre moderados y fuertes para este conjunto de datos.

Eunotia exigua, Brachysira vitrea, Nitzschia palea, Achnanthidium minutissimum, Navícula veneta son especies que no son propias de aguas con AMD pero que presentan cierta tolerancia a las condiciones de entorno. A. minutissimum es considerado un ubicuo taxón tolerante capaz de colonizar nuevos sustratos tras cambios físicos o químicos en los factores ambientales (Peterson y Stevenson, 1992; citado por DeNicola, 2000; Luís et al., 2011), por lo que se asocia a biopelículas sometidas continuamente a condiciones de estrés, aunque no sea exclusiva de tales ambientes (Sabater, 2000; Fernández et al., 2018). Esta especie no solo muestra una amplia tolerancia a la contaminación por metales tales como el Fe, Mn, Cu, Pb y Zn (Fernández et al, 2018; Kiran-Marella et al., 2020) sino también al pH, lo cual explica que si bien su valor óptimo está en torno a los 6,5; se halla encontrado en ambientes con niveles de pH entre 3,4 y 8,4 (Falkenhayn, 2007; citado por Fernández et al., 2018). Brachysira vitrea, por su parte, es una especie cosmopolita con preferencia por aguas alcalinas, sin embargo, investigaciones como la de Fernández et al. (2018) la identifican como acidófila y tolerante a las fluctuaciones de pH del agua causadas por el AMD; por lo que existen contradicciones en la determinación del pH óptimo del taxón (Luís et al., 2011). Por otra parte, B. vitrea manifiesta tolerancia a la presencia de metales, como el Zn, Cd y Fe (Luís et al., 2011; Fernández et al., 2018), pudiendo presentar deformaciones teratológicas por exposición a los mismos (Falasco et al., 2009; Luís et al., 2011; Fernández et al., 2018). Eunotia Exigua es una especie cosmopolita con preferencia por ambientes ligeramente ácidos o neutros, aunque algunos autores la clasifican como especie acidobionte (Luís et al., 2016; Fernández et al., 2018). A pesar de presentar un pH optimo cercano a 5,5; ha sido reportada en ríos o lagos afectados por AMD con valores de pH inferiores a 2 (Fernández et al, 2018). Así mismo presenta tolerancia a la presencia de metales como Cu, Fe, Mn y Zn (Kim et al., 2008; citado por Fernández et al., 2018; Kiran-Marella et al., 2020). Existen formas anormales de esta especie causadas principalmente por la presencia de Cu y el pH bajo (Falasco et al., 2009), que han podido ser aisladas en ambientes afectados por AMD de la FPI (Luís et al., 2011; Fernández et al., 2018). Dado que la variabilidad morfológica de algunas especies de Eunotia es amplio, dificultando su taxonomía: resulta más apropiado referirse a los miembros de esta especie como miembros del complejo Exigua (DeNicola, 2000; Fernández et al., 2018).

*Nitzschia palea* es una especie neutrófila (ID-TAX, 2012) con tolerancia a los metales pesados que ha sido reportada en estanques con agua acida de minas (DeNicola, 2000), y es susceptible a manifestar deformaciones teratológicas (Falasco et al., 2009; Fernández et al., 2018; Kiran-Marella et al., 2020). *Navicula veneta,* por su parte, es un taxón alcafílico y eutrófico que puede encontrarse presente en ambientes

menos afectados por AMD, que son los que poseen niveles más altos de nutrientes (Luís et al., 2008; Luís et al., 2016; Fernández et al., 2018). Finalmente, P. subcapitata es un taxón exclusivo de aguas ácidas (ID-TAX, 2012) que ha sido reportado a valores de pH en torno a 3, generalmente asociado a AMD cuando el pH<3,5 (DeNicola, 2000). A su vez, P. subcapitata manifiesta una alta tolerancia al Cu, Fe, Mn, Zn, Mg y SO4<sup>=</sup> (Kim y Col, 2009; Falkenhayn, 2007; citados por Fernández et al.; 2018). P. subcapitata var. elongata tienen preferencias ecológicas similares a la P. subcapitata (Fernández et al., 2018) y ha sido reportada en corrientes acidas naturales cuyo valor de pH ronda los 3,8 (DeNicola, 2000; Fernández et al., 2018).

El análisis de componentes principales realizado considerando tanto las especies de diatomeas como las variables ambientales muestra que se necesitan 5 componentes para explicar el 79,4% de la variación de los datos. La gráfica de cargas para los dos primeros componentes revela una distribución diferencial de las especies principalmente en torno al pH y al resto de los parámetros ambientales. Se observa que las especies Navícula veneta (NVEN), Achnanthidium minutissimum (ADMI), Brachysira vitrea (BVIT), Pinnularia subcapitata var. elongata (PSEL) y Eunotia exigua (EEXI), Nitzschia palea (NPAL) y Pinnularia subcapitata (PSCA) se asocian en mayor o menor grado con el pH. Por otra parte, las especies *Pinnularia aljustrelica* (PALJ) y *Pinnularia acidophila* (PACI) tienden a vincularse preferentemente con el resto de los parámetros físico-químicos; sin embargo, P. acidophila (PACI) es la que más se vincula al conjunto de variables que definen un entorno AMD (pH<3, altos EC y Eh, elevada concentración metálica). El dendrograma obtenido a partir del análisis de conglomerados del mismo conjunto de datos muestra las mismas agrupaciones.



ACP- Matriz de Correlación (Taxones y Parámetros Ambientales)

Figura 58 ACP – Taxones y parámetros ambientales (N=22)

Valor proj Proporción Acumulada	pio 5,0 n 0, 0,	274 2,2 335 0, 335 0,	2097 1,9 147 0, 482 0,	613 1,9 613 0,	959 1,1 106 0, 719 0,	155 0,9 074 0, 794 0,	891 0,9 066 0, 859 0,	9103 0,4 061 0, 920 0,	1155 0,3 028 0, 948 0,	659 0,2 024 0, 972 0,	2191 015 987				
Valor proj Proporción Acumulada	pio 0,1 n 0, 0,	.293 0,0 009 0, 995 0,	)328 0,0 002 0, 998 0,	192 0,0 001 0, 999 1,	)158 0,0 001 0, 000 1,	002 000 000									
Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10	PC11	PC12	PC13	PC14	PC15
pH	-0,331	-0,019	-0,081	0,275	-0,295	-0,180	-0,107	0,435	-0,464	-0,240	0,138	0,124	-0,336	-0,257	0,029
EC	0,429	-0,078	0,090	0,005	-0,028	0,118	-0,020	-0,055	0,197	0,079	0,030	0,445	-0,137	-0,722	0,008
Eh	0,084	0,068	0,501	-0,258	0,118	-0,370	-0,022	0,648	0,287	0,094	0,012	-0,087	0,015	0,022	-0,007
S04=	0,399	-0,096	0,118	0,242	-0,088	0,174	-0,057	0,140	-0,074	-0,021	0,127	0,270	-0,059	0,454	0,627
Fe	0,417	0,058	0,006	0,043	-0,239	0,118	0,025	0,065	-0,142	-0,178	-0,118	-0,754	0,065	-0,273	0,178
Ficklin	0,383	-0,103	0,113	0,299	-0,115	0,194	-0,023	0,160	-0,097	-0,057	0,123	0,045	0,032	0,265	-0,750
ADMI	-0,053	-0,198	-0,167	0,198	0,658	0,244	-0,486	0,160	0,152	-0,095	0,116	-0,217	-0,195	-0,075	0,024
BVIT	-0,103	-0,302	0,267	-0,434	-0,157	0,399	-0,244	0,002	-0,286	0,309	-0,328	-0,028	-0,323	0,066	-0,041
EEXI	-0 <b>,2</b> 18	-0,351	0,347	-0,173	-0,242	0,134	-0,038	-0,223	0,250	-0,434	0,539	-0,089	0,043	-0,020	0,025
NPAL	-0,176	0,393	0,306	0,240	0,092	0,287	0,243	-0,062	-0,085	0,491	0,441	-0,174	-0,165	-0,092	0,034
NVEN	0,048	-0,353	0,243	0,401	-0,00 <del>9</del>	-0,519	0,001	-0,373	0,092	0,185	-0,158	-0,174	-0,381	0,048	-0,006
PACI	0,275	0,188	-0,320	-0,416	0,037	-0,134	0,157	-0,059	0,042	-0,113	0,285	-0,057	-0,656	0,176	-0,076
PALJ	0,046	0,323	-0,112	-0,015	-0,388	-0,169	-0,744	-0,127	0,158	0,253	0,182	-0,023	0,084	0,045	-0,023
PSCA	-0,128	0,496	0,291	0,178	-0,054	0,222	-0,066	-0,098	0,289	-0,434	-0,427	0,078	-0,298	0,073	-0,028
PSEL	-0,180	-0,219	-0,369	0,164	-0,375	0,227	0,211	0,301	0,579	0,240	-0,091	-0,097	-0,133	0,041	0,017
							_			_					

Figura 59 Resultados ACP – Taxones y parámetros ambientales (N=22)

11,38 40,92 Similitud 70,46 100,00 Fidtlin ADMI BUT FEN NYEN NPAL PSCA 50<sup>4</sup> PRCI PAN £ ٤e d' 5th ζÇ Variables

Dendrograma Enlace completo; Distancia de coeficiente de correlación

Figura 60 Dendrograma – Taxones y parámetros ambientales (N=22)

El análisis de componentes principales de especies considerando las 9 especies más abundantes, sin considerar los parámetros ambientales, establece que se necesitan 5 componentes para explicar el 85,3% de la variación de los datos. El gráfico de cargas, que representa los dos primeros componentes (Figura 62), permite distinguir 4 agrupaciones que son PSCA-NPAL; PALJ-PACI; EEXI-BVIT y ADMI-PSEL-NVEN. Las mismas agrupaciones se observan en el dendrograma obtenido a partir del análisis de clúster (Figura 63).



Figura 61 ACP de Taxones (Matriz de correlación) (N=22)

Valor propio 2,2330 2,0731 1,3096 1,0661 0,9466 0,878 Proportión 0.254 0.230 0.146 0,118 0,105 0.00	80 0,2486 0,1387 0,0562 98 0,028 0,015 0,006 51 0,978 0,994 1,000
Proporcion 0.254 0.230 0.146 0.118 0.105 0.05	51 0,978 0,994 1,000
	51 0,978 0,994 1,000
Acumulada 0,254 0,484 0,630 0,748 0,853 0,93	
Variable         PC1         PC2         PC3         PC4         PC5         PC6           ADMI         0,121         -0,137         -0,400         -0,475         -0,684         -0,163           BVIT         0,413         -0,064         0,593         0,039         -0,313         -0,043         -           BVIT         0,413         -0,064         0,593         0,039         -0,313         -0,043         -           BVAL         0,039         0,633         -0,097         -0,067         0,008         0,271         -           NVEN         0,275         -0,148         -0,533         0,552         0,181         -0,214         -           PACI         -0,517         -0,300         0,285         0,065         -0,000         0,225           PALJ         -0,313         0,130         0,190         0,037         0,002         -0,377         -           PSCA         -0,078         0,654         0,015         -0,023         -0,080         -         -0,133         -0,133	PC7         PC8         PC9           0,153         -0,146         -0,204           -0,422         0,266         -0,369           0,575         -0,469         0,084           -0,402         -0,555         -0,204           -0,081         0,011         -0,479           0,255         -0,292         -0,597           -0,140         -0,236         0,020           0,461         0,488         -0,328           -0,046         0,035         -0,283

Análisis de los valores y vectores propios de la matriz de correlación

Figura 62 Resultados ACP de Taxones (Matriz de correlación) (N=22)

Dendrograma

Enlace de Ward; Distancia de coeficiente de correlación -6,46 29,02 Similitud 64,51 100,00 ADMI PSEL NVEN ΒVIT EEXI NPAL PSCA PÁCI PALJ Variables



*Pinnularia aljustrelica* y *P. acidophila* son las especies más frecuentes y a menudo las únicas especies presentes, asociadas a ambientes altamente contaminados por AMD.

*Nitzschia palea, Pinnularia subcapitata, Eunotia exigua y Brachysira vitrea* aparecen cuando las condiciones del entorno son menos exigentes en cuanto a pH sin embargo manifiestan una elevada tolerancia a altas concentraciones de metales pesados. Por su parte, las especies Achnanthidium minutissimum, Pinnularia subcapitata var. elongata y Navicula veneta tienden a aparecer cuando el grado de contaminación por AMD es moderado.

Para discriminar las muestras en función de su población de diatomeas, se realiza un análisis multidimensional no-métrico (NMDS) seguido de un análisis de similaridad (ANOSIM); en ambos casos se utiliza el índice de similitud de Bray-Curtis como método de asociación. Se trabaja con 21 conjuntos de datos, al haber sido necesario descartar un conjunto (M33) por no proporcionar el número de individuos de cada especie por punto de muestreo. Como resultado de la prueba NMDS se obtienen graficas que permiten identificar posibles patrones de variación al evaluar la afinidad relativa de los distintos muestreos por las diferentes categorías o grupos (polígonos), la prueba ANOSIM por su parte permite comparar las agrupaciones anteriores. La división de los datos en categorías se llevó a cabo estableciendo rangos utilizando como criterio las variables ambientales. En los análisis se ensayaron las densidades relativas de los taxones más abundantes (número de individuos por muestra) utilizando las agrupaciones establecidas según un parámetro ambiental. El resultado de la prueba NMDS para el pH se encuentra en la Figura 64. Se establecieron 3 categorías definidas por rangos de pH, siendo: Muy ácido (pH 1,40-2,80); Ácido (pH 2,91-3,56) y Poco ácido (pH: 3,96-4,90). El valor de estrés obtenido en la prueba (0,1865) se encuentra dentro del intervalo 0,1-0,2 indicando una muy buena representación 2D. Para medir la heterogeneidad entre los grupos se realiza la prueba ANOSIM de una vía (permutación 9999), obteniendo por resultado un coeficiente R igual a 0,1588 con p-valor de 0,0355. Si bien el resultado es estadísticamente significativo (p<0,05) y el valor de R>0 sugiere disimilaridad, las diferencias entre las categorías no son muy marcada; dado que mientras más cerca se encuentre R de 1 mayores son las diferencias.



Figura 64 TEST NMDS-pH (BRAY-CURTIS): Cuadrados (rojo): pH 1,40-2,64; Diamantes (Amarillo): pH 2,91-3,31; Triángulos (verde): pH 3,96-4,90.

Coordinate 1

52

Tabla 7 ANOSIM TEST DE PARES POST-HOC – pH						
Categoría	Muy ácido	Ácido				
Ácido	0,0650					
Poco ácido	0,0118	0,4181				
Valor de p estadísticamente significativos (p<0,05) en negrita cursiva						

La diferencia significativa únicamente se observa entre las categorías de pH muy ácido y poco ácido (p<0,05) (Tabla 7). Obsérvese que los polígonos que representan ambas categorías no se superponen (Figura 64).

En el caso EC, los grupos establecidos fueron: EC muy alta (EC: 15540-6360  $\mu$ S/cm); EC alta (EC: 5500 -4230  $\mu$ S/cm) y EC baja (EC: 1890-735  $\mu$ S/cm). El resultado de la prueba NMDS (2D-bidimensional) se encuentra en la Figura 65; el valor de estrés obtenido fue de 0,1866, por lo que el ordenamiento proporciona una muy buena representación de los datos. El Test ANOSIM de una vía, utilizando una permutación de 9999, no obtuvo diferencias marcadas entre las categorías (R= 0,2704; p=0,004). La prueba ANOSIM muestra diferencias significativas entre 2 grupos siendo (Tabla 8): EC muy alta con EC baja y EC alta con EC baja, cuyos polígonos no se superponen.



Coordinate 1

**Figura 65** TEST NMDS-EC (BRAY-CURTIS): Cuadrados (rojo): EC: 15540-6360 µS/cm; Diamantes (Amarillo): EC: 5500 -4230 µS/cm; Triángulos (verde): EC: 1890-735 µS/cm.

Tabla 8 ANOSIM TEST DE PARES POST-HOC – EC						
Categoría	EC Muy Alta	EC Alta				
EC Alta	0,0524					
EC baja	0,0099	0,0239				
Valor de p estadísticamente significativos (p<0,05) en negrita cursiva						

Los resultados de la prueba NMDS considerando la concentración de hierro se encuentra en la Figura 66. Al igual que para pH y EC, se establecieron 3 categorías (Fe Muy alta: 4244,20-1292 mg/l; Fe Alta: 106,20-66 mg/l y Fe Baja: 16,70-0,10 mg/l),

obteniendo un valor de estrés de 0,1863, por los que el ordenamiento es representativo de la variación de los datos. La prueba ANOSIM de una vía con permutación de 9999 (R= 0,4867; p=0,0001) evidencia mayores diferencias entre los grupos que en los casos anteriores (Tabla 9).





Figura 66 TEST NMDS-Fe (BRAY-CURTIS): Cuadrados (rojo): Fe: 4244,20-1292 mg/l; Diamantes (Amarillo): 106,20-66 mg/l; Triángulos (verde): 16,70-0,10 mg/l.

Tabla 9 ANOSIM TEST DE PARES POST-HOC – Fe						
Categoría	Fe Muy Alta	Fe Alta				
Fe Alta	0,002					
Fe baja	0,0003	0,9508				
Valor de p estadísticamente significativos (p<0,05) en negrita cursiva						

En general, los resultados de las pruebas NMDS y ANOSIM muestran que el Fe permite discriminar los grupos con más claridad, seguido por la conductividad eléctrica y el pH, que es el menos discriminante en el conjunto de datos analizados. Resultados similares se obtuvieron al realizar ambas pruebas con SO<sub>4</sub><sup>=</sup> (Stress= 0,1735; R=0,2963; p=0,005) y el sumatorio de Ficklin (Stress= 0,1703; R=0,2328; p=0,0142).

Se calcularon los índices de diversidad, usados ampliamente en estudios ecológicos, de Riqueza (S), Dominancia (D), Shannon-Wiener (H') y Simpson (1-D) considerando aquellos conjuntos de datos que informaron la totalidad de especies como resultado del muestreo y su respectiva abundancia. Se trabaja entonces con 21 conjuntos, al haber sido necesario descartar un conjunto (M33) por no proporcionar datos de todas las especies muestreadas. Los resultados de los índices obtenidos se encuentran en la Tabla 10.

Tabla 10 Índices de diversidad en función de los puntos de muestreo (N=21)										
Conj.	рΗ	EC	Eh	SO4=	Fe	ΣFicklin	klin S D		H'	1-D
		(µS/cm)	(mV)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)				
M1	1,40	8590	642,21	7446	1701,00	202,09	1	1,00	0,00	0,00
M2	1,48	7950	643,47	7677	1725,00	202,96	1	1,00	0,00	0,00
M15	2,26	8560	645,33	7404	1704,00	202,89	1	1,00	0,00	0,00
M23	2,48	15540	644,04	30707	4244,20	972,88	6	0,26	1,49	0,74
M27	2,64	6430	657,04	8005	66,10	210,71	15	0,30	1,62	0,70
M28	2,64	7710	647,62	7662	1703,00	205,98	1	1,00	0,00	0,00
M37	2,91	5500	628,80	4794	1358,00	119,19	1	1,00	0,00	0,00
M38	2,92	6360	641,04	5117	106,20	127,95	13	0,46	1,34	0,54
M39	2,99	4230	682,04	3471	97,10	24,64	5	0,82	0,44	0,18
M41	3,15	5170	634,55	4614	1292,00	114,18	6	0,32	1,35	0,68
M42	3,18	4960	639,80	4689	1298,00	114,17	5	0,31	1,33	0,69
M44	3,23	1890	673,35	1459	8,00	33,87	6	0,20	1,69	0,80
M48	3,31	4450	646,00	4599	1309,00	116,13	1	1,00	0,00	0,00
M55	3,96	735	513,04	347	5,30	6,39	44	0,14	2,54	0,86
M56	3,98	5070	628,68	5010	1357,00	118,33	2	0,72	0,45	0,28
M57	4,01	1276	570,04	878	16,70	18,99	37	0,17	2,57	0,83
M61	4,28	1535	670,95	1122	66,00	39,07	16	0,14	2,31	0,86
M64	4,43	1065	418,04	589	0,10	11,79	35	0,09	2,82	0,91
M67	4,52	1500	635,38	1280	8,00	24,83	23	0,06	2,94	0,94
M68	4,70	1882	508,04	85	0,50	13,10	7	0,51	0,91	0,49
M69	4,90	947	807,04	309	0,40	4,21	17	0,17	2,29	0,83

Se determina la relación de los índices con los parámetros físico-químicos y las concentraciones de sulfatos y metales a partir de la correlación de Pearson cuyos resultados se encuentran en la Figura 67.

	рН	EC	Eh	SO4=	Fe	Σ Ficklin	S	D	Н'	1-D
рН		3,62E-05	0,34273	0,011244	0,0038717	0,026169	0,0070782	0,0014158	0,0006112	0,001415
EC	-0,776		0,32647	4,70E-09	4,19E-08	8,19E-08	0,0054745	0,031299	0,0081874	0,03129
Eh	-0,218	0,225		0,46595	0,50639	0,55984	0,021645	0,44102	0,29814	0,44102
SO4=	-0,541	0,918	0,168		1,38E-07	4,28E-20	0,1018	0,46731	0,23484	0,46731
Fe	-0,602	0,895	0,154	0,881		2,86E-07	0,010698	0,054107	0,018045	0,05410
Σ Ficklin	-0,484	0,887	0,135	0,995	0,871		0,16017	0,64639	0,36073	0,64639
S	0,569	-0 <mark>,</mark> 584	-0,498	-0,367	-0,545	-0,318		0,0002377	1,35E-06	0,000237
D	-0,650	0,471	0,178	0,168	0,426	0,106	-0,719		3,57E-12	1,31E-93
Н'	0,685	-0 <mark>,</mark> 561	-0,238	-0,271	-0,511	-0,210	0,846	-0,962		3,57E-12
1-D	0,650	-0,471	-0,178	-0,168	-0,426	-0,106	0,719	-1	0,962	

**Figura 67** Matriz de correlación de Pearson. Índices de diversidad (N=21). Los valores p en cursiva con p: <0,001 muy significativo (verde); <0,01 muy significativo (celeste); <0,05 Significativo (Amarillo).

En general, los 4 índices calculados presentan correlaciones estadísticamente significativas con la conductividad eléctrica (p<0,05) y muy significativas con el pH (p<0,01). El potencial redox solo se correlaciona significativamente con la riqueza mientras que las correlaciones del hierro solo son significativas con los índices de riqueza y Shannon-Wiener. No hay correlación entre la concentración de sulfatos y el sumatorio de Ficklin. En cuanto al signo de las correlaciones se tiene que el pH se correlaciona positivamente con el índice de riqueza y los índices de diversidad de Shannon-Wiener y Simpson, pero negativamente con la dominancia. Lo opuesto ocurre en el caso de la conductividad eléctrica donde la única correlación positiva es con la dominancia. El signo de las correlación de hierro son iguales a los

observados para la EC. En todos los casos las correlaciones son moderadas con tendencia a fuerte. Así, para el conjunto de trabajo puede deducirse que a medida que disminuye el pH y la conductividad aumenta, la riqueza y diversidad de especies diatomeas disminuye dando lugar a la aparición de especies dominantes que son más tolerantes a las condiciones ambientales. Las gráficas a continuación ilustran los resultados obtenidos para el pH y muestran el modelo de ajuste lineal junto al coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) correspondiente. Como es de esperar, si bien existe una tendencia lineal, el valor de R<sup>2</sup> es relativamente bajo por lo que el modelo lineal, en el mejor de los casos, explica el 46,95% de los datos.





Figura 70 Índice de Dominancia vs pH

Figura 71 Índice de Simpson (1-D) vs pH

Se observa que la riqueza va aumentando a medida que el pH aumenta. El índice de Shannon-Wiener y el de Simpson aumentan paulatinamente al incrementar el número de especies por lo que tienen la misma tendencia que el índice de riqueza. Una variación opuesta se observa en el índice de Dominancia, que tiende a disminuir cuando no existen especies que predominan sobre otras.

El grafica de cargas obtenida a partir del Análisis de Componentes Principales realizado considerando los datos de los índices y las variables ambientales (análisis de

la matriz de correlación) valida los resultados obtenidos hasta el momento. Se observa que el pH es la variable que limita y condiciona las riqueza y diversidad de especies de diatomeas mientas que el resto de las variables influyen en su abundancia relativa o, mejor, uniformidad (es decir, en condiciones extremas los taxones tolerantes se distribuyen muy asimétricamente: muchos individuos de muy pocos taxones). Se necesitan dos componentes principales para explicar el 82,5% de los datos.





Análisis de los valores y vectores propios de la matriz de correlación

Valor propio	5,8658	2,3840	1,0214	0,4005	5 0,1961	0,094	5 0,0212	0,0141	0,0024	0,0000
Proporción	0,587	0,238	0,102	0,040	0,020	0,00	9 0,002	0,001	0,000	0,000
Acumulada	0,587	0,825	0,927	0,967	0,987	0,99	6 0,998	1,000	1,000	1,000
Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
pH	-0,343	0,032	0,104	-0,829	0,280	-0,225	-0,221	0,073	0,013	-0,000
EC	0,374	0,249	-0,041	0,131	-0,056	-0,246	-0,829	0,154	-0,069	-0,000
Eh	0,136	-0,066	0,911	0,163	0,337	0,043	0,001	0,068	-0,017	0,000
S04=	0,300	0,437	-0,003	-0,058	0,088	-0,320	0,279	-0,045	0,725	-0,000
Fe	0,350	0,269	-0,084	-0,293	0,165	0,824	-0,053	0,054	0,037	-0,000
Ficklin	0,281	0,467	-0,014	-0,112	0,093	-0,270	0,359	-0,119	-0,683	0,000
S	-0,333	0,208	-0,292	0,377	0,717	0,013	-0,005	0,322	-0,017	0,000
D	0,317	-0,385	-0,169	-0,045	0,349	-0,094	-0,022	-0,299	0,003	0,707
H	-0,347	0,334	0,083	0,145	0,063	0,123	-0,233	-0,816	0,040	-0,000
1-D	-0,317	0,385	0,169	0,045	-0,349	0,094	0,022	0,299	-0,003	0,707

Figura 72 ACP - Índices de diversidad y parámetros ambientales

En general, los microorganismos no pueden sobrevivir a valores de pH extremos dado que esas condiciones pueden conducir a la hidrólisis de componentes celulares o a la desnaturalización de sus proteínas (López-Archilla et al., 2001). Por lo que de todas las variables ambientales que pueden afectar a las diatomeas de agua dulce, el pH resulta ser la más significativa (Battarbee et al., 1986; citado por Aguilera, 2013) actuando como principal seleccionador de la diversidad y composición de las especies de diatomeas (Luís et al., 2018). La mayoría de los taxones de diatomeas muestran preferencias por un estrecho rango de pH (Battarbee et al., 1986; citado por Aguilera,

2013), por lo que se establece un umbral entre pH 3,5 y 4,5 por debajo del cual muchas especies no pueden mantener su población (DeNicola, 2000; Aguilera, 2013). Las especies tolerantes a condiciones de elevada concentración de H<sup>+</sup> presentes en medio desarrollan estrategias que les permitan contrarrestar la rápida acidificación del citosol (Luís et al., 2019).

Por otra parte, si bien la biodiversidad disminuye al disminuir el pH, otros factores como las altas concentraciones de metales disueltos también influyen en esta disminución (Aguilera y Jhonson, 2015; citado por Luís et al., 2019). Así, las comunidades de diatomeas no solo deben soportar niveles letales de pH sino también de metales que provocan una disminución de su riqueza y diversidad, quedando restringidas a especies tolerantes capaces de sobrevivir en estas condiciones (Luís et al., 2008; Luís et al., 2018). Al aumentar el pH el número de especies de diatomeas también aumenta, mientras que la concentración de, por ejemplo, As, Cu, Al, Fe, Cd, Mn, Zn, Pb y SO<sub>4</sub>= disminuyen encontrándose por debajo del límite de detección, lo cual implica o bien la ausencia de una fuente generadora o que el incremento del pH promovió su precipitación como oxy-hidroxisulfatos (Grande et al., 2011; Luís et al., 2018).

En resumen, existen un gran número de estudios realizados sobre el AMD que profundizan en las causas que lo producen y en sus consecuencias ambientales, principalmente con un enfoque en los cambios físico-químicos de los entornos afectados, situados no solo en la FPI sino también a nivel mundial. Si bien se han desarrollado investigaciones orientadas a las comunidades de organismos capaces de sobrevivir en estos ambientes extremos, hay muy pocos trabajos realizados sobre diatomeas y su importancia en ambientes afectados por drenaje acido de mina en la Faja Pirítica Ibérica; a su vez la poca información disponible resulta ser tan heterogénea que dificultó su análisis, utilización y aprovechamiento en la realización del presente trabajo. En este sentido, de las 69 unidades de análisis determinadas a partir de los 15 estudios relacionados con diatomeas 47 tuvieron que ser descartadas por falta de datos. De igual manera para los 217 conjuntos de datos recopilados para la caracterización físicoquímica del mismo problema ambiental, 103 unidades fueron descartadas por los mismos motivos. Por lo tanto, el 52% de la información recopilada en tablas no pudo ser analizada estadísticamente. En general, los datos faltantes fueron principalmente abundancia relativa y/o parámetros ambientales como el potencial redox o concentraciones de metales, según el enfoque del estudio.

A pesar de las dificultades, es evidente que el impacto de la contaminación por AMD puede ser evaluado mediante el seguimiento de las comunidades de diatomeas (Luís et al., 2019). Las fuentes antrópicas de agua ácida se encuentran en áreas que reciben drenaje ácido de mina (DeNicola, 2000), por lo que sus hábitats acuáticos presentan valores de pH inferiores a 3,5 y una elevada concentración de metales pesados (Robb y Robinson, 1995; citado por DeNicola, 2000). A pesar de las características físico-químicas extremas, las diatomeas son un componente importante de las biopelículas

bentónicas que pueden hallarse en estos ambientes y al encontrarse en la base de la cadena trófica, como productores primarios, responden rápidamente a los cambios ambientales siendo buenos bioidicadores de las condiciones del entorno (Hill et al., 2000; Potapova, 2002; citado por Morín et al., 2012; Ferreira-da-Silva et al., 2009).

Las condiciones extremas a las que están sometidas las diatomeas en medios acuáticos con AMD actúan como mecanismo de selección. Los contaminantes no solo producen cambios a nivel comunitario, en lo que respecta a la estructura, dinámica, diversidad y distribución de las diatomeas sino también ejercen efecto a nivel individual, pudiendo revelar la contaminación de metales pesados y elementos tóxicos a nivel del organismo, a través de la aparición de formas teratológicas (Masouras et al., 2021). Los iones metálicos, tóxicos a altas concentraciones, aumentan su solubilidad a pH bajo, incrementando las condiciones de estrés (López-Archilla et al., 2001; Luís et al., 2008; Grande, 2011). Las diatomeas presentan una capacidad variable para tolerar la toxicidad de los metales; pudiendo ser a escala individual, con diferentes niveles de sensibilidad entre especies, y a escala comunitaria donde la biopelícula actúa como una matriz protectora (Aguilera 2013; Morín et al., 2012). Las especies que son tolerantes al pH bajo, tienden a presentar una mayor tolerancia a los metales, y por lo tanto se encuentran más adaptadas a las condiciones exigentes del entorno (Luís et al., 2014; Luís et al., 2019).

En este punto, resulta evidente la estrecha relación existente entre los parámetros ambientales y las especies presentes. Si bien las condiciones AMD ejercen mayor influencia que las variaciones estacionales en las poblaciones de diatomeas, no se debe descartar su efecto. Los cambios hidroquímicos producidos por las variaciones estacionales afecta sensiblemente la composición de elementos disueltos (ej. grado de precipitación, solubilización de los metales), al flujo y a la temperatura del agua, entre otras características, y como consecuencia la flora de diatomeas también se ve afectada. Por este motivo, se deben realizar campañas de muestreo periódicas en diferentes épocas del año y en distintos años.

El análisis de la información documentada permitió identificar 11 especies de diatomeas en ambientes acuáticos afectados por drenaje ácido de mina en la Faja Pirítica Ibérica; 9 de las cuales con porcentaje de abundancia relativa mayor a 1,5% en el conjunto de datos analizado, y 2 que surgieron como resultado de la revisión bibliográfica, que son: *Achnanthidium minutissimum* (Kützing) Czarnecki, *Brachysira vitrea* (Grunow) Ross in Hartley, *Eunotia exigua* (Brébisson ex Kützing) Rabenhorst, *Navicula veneta* Kützing, *Nitzschia palea var. palea* (Kützing) W. Smith, *Pinnularia acidophila* Hoffman & Krammer, *P. acoricola* Hustedt, *P. aljustrelica* Luís, Almeida et Ector, *P. subcapitata* Gregory *var. elongata* Krammer *y P. obscura* Krasske.

Las especies bioindicadoras indican la condición del medio ambiente debido a su tolerancia moderada a la variabilidad ambiental. Por el contrario, las especies raras o poco frecuentes con tolerancias estrechas a menudo son demasiado sensibles a los cambios para reflejar la respuesta biótica general. Del mismo modo, las especies ubicuas con tolerancias muy amplias son menos sensibles a los cambios ambientales que, de

otro modo, perturban al resto de la comunidad (Holt y Miller, 2011). En este sentido, de las especies mencionadas, se pueden considerar como especies bioindicadoras de AMD, a *Pinnularia acidophila, P. acoricola, P. aljustrelica, P. obscura* para aquellos ambientes más afectados y *P. subcapitata* que tiende a aparecer cuando existe cierto grado de atenuación; dado que son exclusivas de ambientes con agua ácida.

Finalmente, la creación de una base diatomológica de referencia no solo resulta útil en la creación de un índice que refleje adecuadamente el grado de afección por AMD ya que se trata de un tipo de contaminación inorgánica, sino que permite establecer una base de comparación a la hora de evaluar la efectividad de un tratamiento de recuperación de ambientes afectados por este problema ambiental.

## 5. CONCLUSIONES

- No se cuenta con información suficiente como para llevar a cabo el planteo de un índice o modelo de afección por AMD en función de las especies de diatomeas y los parámetros ambientales relacionados.
- Las características morfológicas y ecológicas de las diatomeas bentónicas validan su utilidad como organismos indicadores del estado ecológico de un ecosistema en los métodos propuestos por la Directiva Marco del Agua.
- 3. Los parámetros ambientales influyen sensiblemente en la distribución de las especies de diatomeas, su riqueza y abundancia relativa, por lo que los taxones presentes dependerán del estado ecológico del ecosistema acuático. En ambientes afectados por AMD, estos dependerán del grado de afección.
- 4. Con base en el análisis bibliográfico se determina que las especies más adecuadas para ser consideradas bioindicadoras de cursos de agua afectados por drenaje acido de mina pertenecen al género *Pinnularias* y son *Pinnularia acoricola, P. aljustrelica, P. acidopila, P. obscura* y *P. subcapitata*.
- 5. No existe un protocolo de estudio del AMD que exceda a los objetivos de cualquier investigación y que permitan recopilar eficientemente información sobre la ubicación geográfica de sitios de muestreo, parámetros físico-químico y/o biológicos que resulten útiles para futuras investigaciones.

## 6. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Aduvire, O., 2006. Drenaje ácido de mina: Generación y Tratamiento. Madrid: Instituto Geológico y Minero de España, Dirección de Recursos Minerales y Geoambiente, pp. 6-13, 45-72.
- Aguilar-Ibarra, A., 2005. Los peces como indicadores de la calidad ecológica del agua. *Revista Digital Universitaria*, 6(8), pp. 2-14.
- Aguilera A., Amaral-Zettler L., Souza-Egipsy V., Zettler E., Amils R., 2007. Eukaryotic Community Structure from Río Tinto (SW, Spain), a Highly Acidic River. En Seckbach J. (ed). Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments. Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology, vol 11, pp. 465-485. Springer, Dordrecht.
- Aguilera, A., 2013. Eukaryotic Organisms in Extreme Acidic Environments, the Río Tinto Case. *Life*, 3(3), pp.363-374.
- Aguilera, A., Souza-Egipsy, V., San Martín-Úriz, P., Amils, R., 2008. Extracellular matrix assembly in extreme acidic eukaryotic biofilms and their possible implications in heavy metal adsorption. *Aquatic Toxicology*, 88(4), pp.257-266.
- Alvarenga, P., Guerreiro, N., Simões, I., Imaginário, M., Palma, P., 2021. Assessment of the Environmental Impact of Acid Mine Drainage on Surface Water, Stream Sediments, and Macrophytes Using a Battery of Chemical and Ecotoxicological Indicators. *Water*, 13(10), p. 1436.
- Amils, R., 2012. Ambientes extremos y geología: el caso de Río Tinto. *Enseñanza de las Ciencias de la Tierra*, (20.2), pp. 122-132.
- Amils, R., González-Toril, E., Fernández-Remolar, D., Gómez, F., Rodríguez, N., Durán,
   C., 2002. Interaction of the sulfur and iron cycles in the Tinto River ecosystem.
   *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 1(4), pp.299-309.
- Bartram, J., Ballance, R., 1996. Water Quality Monitoring A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater. Quality Studies and Monitoring Programmes. Londres: Organización Mundial de la Salud y Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, pp. 256-291
- Blanco, S., Bécares, E., Hernández, N., Ector, L., 2007. Evaluación de la calidad del agua en los ríos de la cuenca del Duero mediante índices diatomológicos. *Ingeniería Civil*, 148, pp. 139-143.
- Blowes, D., Ptacek, C., Jambor, L., Weisener, C., Paktunc, D., Gould, W., Johnson, D., 2014. 11.5: The Geochemistry of Acid Mine Drainage. *Treatise on Geochemistry*, 2 ed., pp. 132-179. Elsevier Ltd.
- Borrego, P., Bacedoni, M., Moreno-Ventas Bravo I., Córdoba, F. 2020. Biometallurgy: partial biolixiviation of copper from pyrometallurgical slag by a local consortium of

hiperacidophilic, quimiolithotrophic bacteria. *Comunicações Geológicas* 107, Especial II, 167-171 (ICDS 9,9)

- Caballero, M., Mandana, N., 2017. Capítulo 1: Bacillariophyta. En Pérez, L., Massaferro, J y Correa-Metrio, A. (ed.). *Paleobioindicadores Lacustres Neotropicales*, pp. 1-20. México: UNAM.
- Canizal-Silahua, A., 2009. *Catálogo ilustrado de diatomeas dulceacuícolas mexicanas. Familia NAVICULACEAE* [Tesis de Grado, Universidad Nacional Autónoma de México]. Repositorio Facultad de Ciencias, UNAM.
- Cánovas, C., Hubbard, C., Olías, M., Nieto, J., Black, S., Coleman, M., 2008. Hydrochemical variations and contaminant load in the Río Tinto (Spain) during flood events. *Journal of Hydrology*, 350(1-2), pp. 25-40.
- Caraballo, M., Sarmiento, A., Sánchez-Rodas, D., Nieto, J., Parviainen, A., 2011. Seasonal variations in the formation of AI and Si rich Fe-stromatolites in the highly polluted acid mine drainage of Agua Agria Creek (Tharsis, SW Spain). *Chemical Geology*, 284(1-2), pp. 97-104.
- Cerón, J.C., Grande, J.A., de la Torre, M.L., Borrego, J., Santisteban, M., Valente, T., 2014. Hydrochemical characterization of an acid mine drainage-affected reservoir: the Sancho Reservoir, Huelva, southwest Spain. *Hydrological Sciences Journal*, 59(6), pp. 1213–1224.
- Chacon-Baca, E., Santos, A., Sarmiento, A., Luís, A., Santisteban, M., Fortes, J., Dávila, J., Diaz-Curiel, J., Grande, J., 2021. Acid Mine Drainage as Energizing Microbial Niches for the Formation of Iron Stromatolites: The Tintillo River in Southwest Spain. *Astrobiology*, 21(4), pp. 443-463.
- Clarke, K., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Austral Ecology*, 18(1), pp.117-143.
- Colín-García, M., Heredia, A., Dos Santos-Rodrígues, C., Figueira, E., Almeida, S., Basiuk, V., Rodríguez-Galván, A., Vrieling, E., 2013. Sílice de las algas diatomeas (Clase Bacillariophyceae) como material complejo y su importancia nanotecnológica. *La Granja, Revista de Ciencias de la Vida,* 17(1), pp. 5-15.
- De la Torre, M., Grande, J., Graiño, J., Gómez, T., Cerón, J., 2011. Characterization of AMD Pollution in the River Tinto (SW Spain). Geochemical Comparison Between Generating Source and Receiving Environment. *Water Air Soil Pollut*, 216, pp. 3– 19.
- De la Torre, M., Grande, J., Valente, T., Santisteban, M., Cerón, J., 2015. Hydrochemical changes in a reservoir that receives water contaminated by acid mine drainage. *Hydrology Research*, 46(3), pp. 303-312.
- Delgado, J., Condesso de Melo, M., Barrosinho, J., 2007. Características físico-químicas de las aguas superficiales afectadas por drenaje ácido de mina en el sector

meridional de la cuenca del Guadiana (Suroeste de la Península Ibérica). *Geogaceta*, 42, pp. 55-58.

- Donaire, T., Alonso, F., García, E., González, F., González, M., Mantero, E., Moreno, C., Pascual, E., Ruiz, G., Sáez, R., Sierra, S., Toscano, M., Valenzuela, A., 2009.
  Geología de la Zona Surportuguesa (Andévalo). En de los Santos, M. (ed.) *Geología de Huelva: Lugares de Interés geológico*, 2 ed., pp. 14-19. Facultad de Ciencias Experimentales Universidad de Huelva.
- Drebes, G., 1977. Chapter 9: Sexuality. En Dietrich Werner (ed.). *The Biology of Diatoms. Volume 13 of Botanical Monographs*, pp. 250-252. Gran Bretaña: University of California Press.
- Durães, N., Bobos, I., da Silva, E., 2016. Speciation and precipitation of heavy metals in high-metal and high-acid mine waters from the Iberian Pyrite Belt (Portugal). *Environmental Science and Pollution Research*, 24(5), pp. 4562-4576.
- Falasco, E., Bona, F., Badino, G., Hoffmann, L. and Ector, L., 2009. Diatom teratological forms and environmental alterations: a review. *Hydrobiologia*, 623(1), pp.1-35.
- Fernández, M., Martín, G., Corzo, J., de la Linde, A., García, E., López, M. and Sousa, M., 2017. Design and Testing of a New Diatom-Based Index for Heavy Metal Pollution. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 74(1), pp.170-192.
- Ferreira da Silva, E., Bobos, I., Matos, X., Patinha, C., Reis, A., Cardoso Fonseca, E., 2009. Mineralogy and geochemistry of trace metals and REE in volcanic massive sulfide host rocks, stream sediments, stream waters and acid mine drainage from the Lousal mine area (Iberian Pyrite Belt, Portugal). *Applied Geochemistry*, 24, pp. 383–401.
- Ficklin, W.H., Plumlee, G.S., Mchugh, J.B., 1992. *Geochemical classification of mine drainages and natural drainages in mineralized areas*. Proceedings of the 7th international symposium on water rock interation, Park City, Utah.
- Gerhardt, A., Janssens de Bisthoven, L., Guhr, K., Soares, A., Pereira, M., 2008. Phytoassessment of acid mine drainage: Lemna gibba bioassay and diatom community structure. *Ecotoxicology*, 17(1), pp.47-58.
- Gomes, P., Valente, T., Albuquerque, T., Henriques, R., Flor-Arnau, N., Pamplona, J., Macías, F. Algae in Acid Mine Drainage and Relationships with Pollutants in a Degraded Mining Ecosystem. Minerals, 2021, 11(2), 110 p.
- Gomes, P., Valente, T., Cordeiro, M. and Moreno, F., 2019. Hydrochemistry of pit lakes in the Portuguese sector of the Iberian Pyrite Belt. *E3S Web of Conferences*, 98, 09007 p.
- González-Toril, E., Aguilera, Á., Souza-Egipsy, V., López Pamo, E., Sánchez España, J., Amils, R., 2011. Geomicrobiology of La Zarza-Perrunal Acid Mine Effluent (Iberian Pyritic Belt, Spain). *Applied and Environmental Microbiology*, 77(8), pp.2685-2694.
- Grande, J., 2011. Impact of AMD processes on the public water supply: hydrochemical variations and application of a classification model to a river in the Iberian Pyritic Belt S.W. Spain. *Hydrology Research*, 42(6), pp.472-478.
- Grande, J., Aroba, J., Andújar, J., Gómez, T., de la Torre, M., Borrego, J., Romero, S., Barranco, C., Santisteban, M., 2011. Tinto Versus Odiel: Two A.M.D. Polluted Rivers and an Unresolved Issue. An Artificial Intelligence Approach. *Water Resour Manage*, 25, pp. 3575–3594.
- Grande, J., Beltrán, R., Sáinz, A., Santos, J., de la Torre, M. and Borrego, J., 2004. Acid mine drainage and acid rock drainage processes in the environment of Herrerías Mine (Iberian Pyrite Belt, Huelva-Spain) and impact on the Andevalo Dam. *Environmental Geology*, 47(2), pp. 185-196.
- Grande, J., Santisteban, M., de la Torre, M., Dávila, J. and Pérez-Ostalé, E., 2018. Map of impact by acid mine drainage in the river network of The Iberian Pyrite Belt (Sw Spain). *Chemosphere*, 199, pp.269-277.
- Grande, J., Santisteban, M., de la Torre, M., Valente, T. and Pérez-Ostalé, E., 2013. Characterisation of AMD Pollution in the Reservoirs of the Iberian Pyrite Belt. *Mine Water and the Environment*, 32(4), pp. 321-330.
- Grande, J., Valente, T., de la Torre, M., Santisteban, M., Cerón, J., Pérez-Ostalé, E., 2014. Characterization of acid mine drainage sources in the Iberian Pyrite Belt: base methodology for quantifying affected areas and for environmental management. *Environmental Earth Sciences*, 71(6), pp.2729-2738.
- Grande-Gil, J., 2016 (Ed). Drenaje ácido de mina en la Faja Pirítica Ibérica: Técnicas de estudio e inventario de explotaciones. Huelva: Servicio de Publicaciones, Universidad de Huelva.
- Hasle, G., Syvertsen, E., 1996. Chapter 2: Marine Diatoms. En Tomas, C. (ed.). *Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates*, pp. 5-23. San Diego, USA: Academic Press, Inc.
- Heip, C., Hernan, P., Soetaert, K., 1998. Indices of diversity and evenness. *Océanis*, 24(4), pp. 61-87.
- Holt, E., Miller, S., 2011. Bioindicators: Using Organisms to Measure Environmental Impacts. *Nature Education Knowledge*, 2(2), pp. 8
- ID-TAX: Catálogo y claves de identificación de organismos utilizados como elementos de calidad en las redes de control del estado ecológico, 2012. Madrid: Dirección General del Agua de la Secretaría de Estado de Medio Ambiente del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 444 p.

- Junco-Días, R., Rodríguez-Pérez, C., 2001. Capítulo 7: Cultivo y crecimiento de los microorganismos. En Hernández, A., Valdés-Dapena, M. y Zuazo., J. (ed). *Microbiología y Parasitología Médicas Tomo I*, pp. 45-54. La Habana: Editorial Ciencias Médicas.
- Kaksonen A.H., Särkijärvi S., Puhakka J.A., Peuraniemi E., Junnikkala S., Tuovinen O.H., 2016. Chemical and bacterial leaching of metals from a smelter slag in acid solutions. *Hydrometallurgy*, 159, pp. 46-53
- Kiran Marella, T., Saxena, A., Tiwari, A., 2020. Diatom mediated heavy metal remediation: A review. *Bioresource Technology*, 305, p.123068.
- Leiva Sánchez, M., 2019. Análisis de las poblaciones de diatomeas en cursos de agua afectados y no afectados por Drenaje Ácido de Mina de la cuenca del río Odiel. [Trabajo Final de Máster, Universidad de Huelva].
- Leiva, M., Bryka, K., Romero, S., Santisteban, M., Dávila, J., Sarmiento, A., Fortes, F., Luis, A., Grande, Córdoba, F., 2020. Diatomeas de la cuenca del río Odiel: su distribución en función del grado de polución por el Drenaje Ácido de Mina. *Comunicações Geológicas*, 107, Especial II, pp. 161-166.
- Licursi, M., Gómez, N., 2003. Aplicación de índices bióticos en la evaluación de la calidad del agua en sistemas lóticos de la llanura Pampeana Argentina a partir del empleo de diatomeas. *Biología Acuática*, (21), pp. 31-49.
- Liu C., Jia Y., Sun H., Tan Q., Niu X., Leng X., Ruan R., 2017. Limited role of sessile acidophiles in pyrite oxidation below redox potential of 650 mV. *Scientific Reports* 7. Article number: 5032
- Locutura-Rupérez, J., López, M., Matos, J., Santos, S., Morais, I., Albardeiro, L., Gonçalves, P., Filipe, A., Oliveira, D., Vázquez, M., Martínez, A., Orche, P., 2020. *Mapa Metalogenético de la Zona Surportuguesa/Carta Metalogenetica da Zona Sul Portuguesa. Escala 1/400.000. Memoria técnica*. Programa Interreg V-A España-Portugal (POCTEP) 2014-2020: GEO\_FPI: Observatorio transfronterizo para la valorización geo-económica de la Faja Pirítica Ibérica (Cod. 0052\_GEO\_FPI\_5\_E). Huelva: Instituto Geológico y Minero de España (IGME)-Laboratorio Nacional de Energía e Geología (LNEG)-Secretaría General de Industria, Energía y Minas de la Junta de Andalucía (SGIEM). pp. 9-55.
- López Pamo, E., Sánchez España, J., Díez Ercilla, M., Santofimia Pastor, E., Reyes, J., 2009. *Cortas mineras inundadas de la Faja Pirítica Ibérica: Inventario e hidroquímica*. Madrid: Instituto Geológico y Minero de España.
- López-Archilla, A., Marin, I., Amils, R., 2001. Microbial Community Composition and Ecology of an Acidic Aquatic Environment: The Tinto River, Spain. *Microbial Ecology*, 41(1), pp. 20-35.

- Luís, A., Alexander, A., Almeida, S., Ferreira da Silva, E., Culp, J., 2013. Benthic diatom communities in streams from zinc mining areas in continental (Canada) and Mediterranean climates (Portugal). *Water Quality Research Journal*, 48(2), pp.180-191.
- Luís, A., Bonet, B., Corcoll, N., Almeida, S., da Silva, E., Figueira, E., Guasch, H., 2014. Experimental evaluation of the contribution of acidic pH and Fe concentration to the structure, function and tolerance to metals (Cu and Zn) exposure in fluvial biofilms. *Ecotoxicology*, 23(7), pp.1270-1282.
- Luís, A., Coelho, H., Almeida, S., da Silva, E.; Serôdio, J., 2013. Photosynthetic activity and ecology of benthic diatom communities from streams affected by Acid Mine Drainage (AMD) in pyritic mines. *Fundamental and Applied Limnology*, 182(1), pp. 47-59.
- Luís, A., Durães, N., de Almeida, S., da Silva, E., 2016. Integrating geochemical (surface waters, stream sediments) and biological (diatoms) approaches to assess AMD environmental impact in a pyritic mining area: Aljustrel (Alentejo, Portugal). *Journal* of Environmental Sciences, 42, pp. 215-226.
- Luís, A., Grande, J., Davila, J., Aroba, J., Durães, N., Almeida, S., de la Torre, M., Sarmiento, A., Fortes, J., Ferreira da Silva, E. and Santisteban, M., 2018. Application of fuzzy logic tools for the biogeochemical characterisation of (un)contaminated waters from Aljustrel mining area (South Portugal). *Chemosphere*, 211, pp. 736-744.
- Luís, A., Novais, M., Van de Vijver, B., Almeida, S., Ferreira da Silva, E., Hoffmann, L. and Ector, L., 2012. Pinnularia aljustrelica sp. nov. (Bacillariophyceae), a new diatom species found in acidic waters in the Aljustrel mining area (Portugal) and further observations on the taxonomy and ecology of P. acidophila Hofmann et Krammer and P. acoricola Hustedt. *Fottea*, 12(1), pp. 27-40.
- Luís, A., Teixeira, M., Durães, N., Pinto, R., Almeida, S., da Silva, E., Figueira, E., 2019. Extremely acidic environment: Biogeochemical effects on algal biofilms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 177, pp. 124-132.
- Luís, A., Teixeira, P., Almeida, S., Ector, L., Matos, J., Ferreira da Silva, E., 2008. Impact of Acid Mine Drainage (AMD) on Water Quality, Stream Sediments and Periphytic Diatom Communities in the Surrounding Streams of Aljustrel Mining Area (Portugal). *Water, Air, and Soil Pollution*, 200(1-4), pp. 147-167.
- Luís, A., Teixeira, P., Almeida, S., Matos, J., da Silva, E., 2011. Environmental impact of mining activities in the Lousal area (Portugal): Chemical and diatom characterization of metal-contaminated stream sediments and surface water of Corona stream. *Science of The Total Environment*, 409(20), pp. 4312-4325.
- Maidana, N., 2017. *Diatomeas continentales: Algas microscópicas para entender el ambiente*. [online] Nexciencia. Universidad de Ciencias Exactas y Nturales-UBA.

Recuperado el 20 octubre 2020, de <https://nexciencia.exactas.uba.ar/algasmicroscopicas-diatomeas-medio-ambiente-biosensores-nora-maidana>.

- Masouras, A., Karaouzas, I., Dimitriou, E., Tsirtsis, G., Smeti, E., 2021. Benthic Diatoms in River Biomonitoring—Present and Future Perspectives within the Water Framework Directive. *Water*, 478(13), pp. 1-15.
- Mora, D., Carmona, J., Cantoral-Uriza, E., 2015. Diatomeas epilíticas de la cuenca alta del río Laja, Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, *86(4)*, pp. 1024-1040.
- Moreno, C., 2001.*Métodos para medir la biodiversidad. M&T Manuales y Tesis.* Zaragoza: Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA).
- Morin, S., Cordonier, A., Lavoie, I., Arini, A., Blanco, S., Duong, T., Torne´s, E., Bonet, B., Corcoll, N., Faggiano, L., Laviale, M., Pérès, F., Becares, E., Coste, M., Feurtet-Mazel, A., Fortin, C., Guasch, H., Sabater, S., 2012. Chapter 12: Consistency in Diatom Response to Metal-Contaminated Environments. *Emerging and Priority Pollutants in Rivers*. En H. Guasch et al. (eds.), pp. 117-146. Springer, Berlín, Heidelberg.
- Nieto, J., Sarmiento, A., Olías, M., Canovas, C., Riba, I., Kalman, J., Delvalls, T., 2007. Acid mine drainage pollution in the Tinto and Odiel rivers (Iberian Pyrite Belt, SW Spain) and bioavailability of the transported metals to the Huelva Estuary. *Environment International*, 33(4), pp. 445-455.
- Ojeda-Rodríguez, A., 2011. *Diatomeas de las aguas costeras de las Islas Canarias. Informe Técnico*. Islas Canarias: Instituto Canario de Ciencias Marinas. Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información, pp. 9-14.
- Olías, M., Cánovas, C., Macías, F., Basallote, M., Nieto, J., 2020. The Evolution of Pollutant Concentrations in a River Severely Affected by Acid Mine Drainage: Río Tinto (SW Spain). *Minerals*, 10(7), 598 p.
- Olías, M., Nieto, J., 2012. El impacto de la minería en los ríos Tinto y Odiel a lo largo de la historia. *Revista de la Sociedad Geológica de España*, 25(3-4), pp. 177-192.
- Olías, M., Nieto, J., Sarmiento, A., Cerón, J., Cánovas, C., 2004. Seasonal water quality variations in a river affected by acid mine drainage: the Odiel River (South West Spain). *Science of The Total Environment*, 333(1-3), pp. 267-281.
- Olías-Álvarez, M., Nieto, J., Sarmiento, A., Ruíz, C., 2010. *La Contaminación minera de los Ríos Tinto y Odiel*. Huelva: Facultad de Ciencias Experimentales Universidad de Huelva, pp. 17-35.
- Ospina-Alvarez, N., Peña, E. (2004). Alternativas de Monitoreo de Calidad de Aguas: Algas como Bioindicadores. *ACTA NOVA*, 2(4), pp. 513-517.
- Pinstrup-Andersen, P., Rahmanian, M., Allahoury, A., Guillou, M., Hendriks, S., Hewitt, J., Iwanaga, M., Kalafatic, C., Kliksberg, B., Maluf, R., Murphy, S., Oniang'o, R.,

Pimbert, M., Sepúlveda, M., Tang, H., Mehta, L., Cordeiro-Netto, O., Oweis, T., Ringler, C., Schreiner, B., Varghese, S., Gitz, V., 2015. *Contribución del agua a la seguridad alimentaria y la nutrición. Un informe del Grupo de alto nivel de expertos en seguridad alimentaria y nutrición.* Roma: HLPE, pp.29-46.

- Pinto Torres, M., Frangópulos, M., Pizarro, G., Alarcón, C., Pacheco, H., 2014. Diatomeas. En Frangópulos, M., Pizarro, G. y Pinto-Torres, M. (ed.). *Catálogo fotográfico de microalgas productoras de floraciones: Algales Nocivas*, pp. 16-18. Punta Arenas, Chile: La Prensa Austral.
- Protocolo de Cálculo del índice de Polusensibilidad específica: Código IPS-2013. Catálogo de Publicaciones de la Administración General del Estado. Madrid: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente Secretaría General Técnica Centro de Publicaciones, pp. 1-9.
- Ricotta, C., Podani, J., 2017. On some properties of the Bray-Curtis dissimilarity and their ecological meaning. *Ecological Complexity*, 31, pp. 201–205.
- Rivera, M., Luís, A., Grande, J., Sarmiento, A., Dávila, J., Fortes, J., Córdoba, F., Diaz-Curiel, J. and Santisteban, M., 2019. Physico-Chemical Influence of Surface Water Contaminated by Acid Mine Drainage on the Populations of Diatoms in Dams (Iberian Pyrite Belt, SW Spain). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(22), p. 4516.
- Rivera, M., Santisteban, M., Aroba, J., Grande, J., Dávila, J., Sarmiento, A., Fortes, J., Curiel, J, Luís, A., 2020. Application of Fuzzy Logic Techniques for Biogeochemical Characterization of Dams Affected by Acid Mine Drainage (AMD) Processes in the Iberian Pyrite Belt (IPB), Spain. *Water Air Soil Pollut*, 231(142), pp. 1-12.
- Rocha-Gil, Z., Cuellar, L., Díaz, X., 2015. Bioindicadores de la calidad del agua en áreas con restauración ecológica de la quebrada La Colorada, Villa de Leyva, Boyacá. *Revista I3+,* 2(2), pp. 10-17.
- Round, F., Crawford, R., Mann, D., 1990. *The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera.* New York: Cambridge University Press.
- Ruiz, G., Sáez, R., Toscano, M., Moreno, C., Donaire, T., Nieto, J., González, F., Yesares,
   M., Pascual, E., 2012. La Faja Pirítica Ibérica: Hidrotermalismo submarino de hace
   más de 350 millones de años. *Enseñanza de las Ciencias de la Tierra*, (20.2), pp. 210-212.
- Sabater, S., 2000. Diatom communities as indicators of environmental stress in the Guadiamar River, S-W. Spain, following a major mine tailings spill. *Journal of Applied Phycology*, 12, pp. 113–124.
- Sabater, S., Buchaca, T., Cambra, J., Catalan, J., Guasch, H., Ivorra, N., Muñoz, I., Navarro, E., Real, M., Romaní, A., 2003. Structure and function of benthic algal communities in an extremely acid river. *J. Phycol*, 39, pp. 481–489.

- Sáez, R., Pascual, E., Toscano, M., Almodóvar, G., 1999. The Iberian type of volcanosedimentary massive sulphide deposits. *Mineralium Deposita*, 34(5-6), pp. 549-570.
- Sánchez España, J., Santofimia Pastor, E., López Pamo, E., Iron terraces in acid mine drainage systems: A discussion about the organic and inorganic factors involved in their formation through observations from the Tintillo acidic river (Riotinto mine, Huelva, Spain). *Geosphere*, 3(3), pp. 133–151.
- Sarmiento, A., 2007. Estudio de la contaminación por drenajes ácidos de mina de las aguas superficiales en la cuenca del río Odiel (SO España). [Tesis doctoral, Universidad de Huelva].
- Sarmiento, A., DelValls, A., Nieto, J., Salamanca, M., Caraballo, M., 2011. Toxicity and potential risk assessment of a river polluted by acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt (SW Spain). *Science of the Total Environment*, 409, pp. 4763–4771.
- Sarmiento, A., Grande, J., Luís, A., Dávila, J., Fortes, J., Santisteban, M., Curiel, J., de la Torre, M., Ferreira da Silva, E., 2018. Negative pH values in an open-air radical environment affected by acid mine drainage. Characterization and proposal of a hydrogeochemical model. *Science of the Total Environment*, 644, pp. 1244–1253.
- Service d'administration nationale des données et référentiels sur l'eau (SANDRE) [Online]. https://www.sandre.eaufrance.fr/search/site
- Siqueiros-Beltrones, D., Argumendo-Hernández, U., Hernández-Almeida, O., 2013. Diagnosis prospectiva sobre la diversidad de diatomeas epilíticas en la laguna Bacalar, Quintana Roo, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84(3), pp. 865-875.
- Suárez López, F., 2019. Las diatomeas como organismos bioindicadores de aguas afectadas por drenaje ácido de mina [Trabajo Final de Máster, Universidad Internacional de Andalucía-Universidad de Huelva].
- Tornos-Arroyo, F., 2008. La Geología y Metalogenia de la Faja Pirítica Ibérica. *Revista de la sociedad española de mineralogía*, (10), pp. 13-23.
- Toro, M., Robles, S., Tejero, I., Prat, N., Solá, C., Beltrán, D., 2009. Aguas continentales corrientes. Ecosistemas lóticos. Bases ecológicas preliminares para la conservación de los tipos de hábitat de interés comunitario en España. Madrid: Dirección General de Medio Natural y Política Forestal, Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, pp. 11-38.
- Urrea-Clos, G., Sabater, S., 2009. Comparative study of algal communities in acid and alkaline waters from Tinto, Odiel and Piedras river basins (SW Spain). *Limnetica*, 28(2), pp. 261-272.
- Valente, T., Rivera, M., Almeida, S., Delgado, C., Gomes, P., Grande, J., de la Torre, M., Santisteban, M., 2015. Characterization of water reservoirs affected by acid mine

drainage: geochemical, mineralogical, and biological (diatoms) properties of the water. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(7), pp.6002-6011.

- Valente, T., Rivera, M., Almeida, S., Delgado, C., Gomes, P., Grande, J., de la Torre, M., Santisteban, M., 2015. Erratum to: Characterization of water reservoirs affected by acid mine drainage: geochemical, mineralogical, and biological (diatoms) properties of the water. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(7), pp.6012-6013.
- Vázquez-Silva, G., Castro, G., González, I., 2006. Bioindicadores como herramientas para determinar la calidad del agua. *ContactoS 60*, pp. 41-48.
- Wolkersdorfer, C., 2008. Chapter 9.3: Physico-chemical measurements. Water Management at Abandoned Flooded Underground Mines: Fundamentals, Tracer Tests, Modelling, Water Treatment, pp. 172-194. Springer, Berlín, Heidelberg.

#### Fuente de imágenes

- Alcober Bosch, J., 2016. *Actinoptychus splendens* [Fotografía]. Recuperado el 20 de septiembre de 2020, de https://ulum.es/muestrario-diatomeas-i/
- Alcober Bosch, J., 2016. *Navicula mútica*. Plano Cingular [Fotografía]. Recuperado el 18 de septiembre de 2020, de https://ulum.es/5041-2/
- Alcober Bosch, J., 2016. *Navicula mútica*. Plano Valvar [Fotografía]. Recuperado el 18 de septiembre de 2020, de https://ulum.es/5041-2/
- Alcober Bosch, J., 2016. *Navicula neoventricosa* [Fotografía]. Recuperado el 20 de septiembre de 2020, de https://ulum.es/5041-2/
- Blanco Lanza, S., 2012. Navicula veneta Kützing [Fotografía]. En ID-TAX: Catálogo y claves de identificación de organismos utilizados como elementos de calidad en las redes de control del estado ecológico. Madrid: Dirección General del Agua de la Secretaría de Estado de Medio Ambiente del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, p. 300.
- Ciniglia, C., Cennamo, P., De Stefano, M., Pinto, G., Caputo, P., Pollio, A., 2007. *Pinnularia obscura* Krasske: Valve in external view. Scale, 5 µm (Fig 2C). [Fotografía]. En *Pinnularia obscura Krasske (Bacillariophyceae, Bacillariophyta) from acidic environments: characterization and comparison with other acid-tolerant Pinnularia species*. Fundamental and Applied Limnology Archiv für Hydrobiologie, 170(1), p. 34.
- Córdoba García, F., 2016. Galerías de La Zarza [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2016. Tharsis-Filón Norte [Fotografía No publicada].

Córdoba García, F., 2016. Tharsis-Filón Norte-Instalaciones [Fotografía No publicada].

Córdoba García, F., 2017. Corta San Telmo [Fotografía No publicada].

- Córdoba García, F., 2017. Escombreras Río Tinto, Zarandas [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2017. óxido rico en Cobre Sotiel [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2017. Ribera de Agustín [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2017. Yellow boy [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2018. Cerro Colorado Riotinto [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2019. Algas [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2019. Ameba [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2019. Chlamydomonas [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2019. Corta La Zarza [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2019. Estromatolitos de sales de azufre Sabina [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2019. Euglena mutabilis [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2019. Heliozoo [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2019. Klebsormidium [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2019. Protozoo ciliado [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2019. Rotífero [Fotografía No publicada].
- Córdoba García, F., 2021. Restos industriales y escombreras, minas Riotinto. [Fotografía No publicada].
- Grande, J., Valente, T., de la Torre, M., Santisteban, M., Cerón, J., Pérez-Ostalé, E., 2014.
  Map of location of the Iberian Pyrite Belt indicating watersheds [Mapa]. En Characterization of acid mine drainage sources in the Iberian Pyrite Belt: base methodology for quantifying affected areas and for environmental management. Environmental Earth Sciences, 71(6), pp. 2731.
- Júcar, C., Alcober Bosch, J., 2012. Achnanthidium minutissimum (Kütz.) Czarnecki [Fotografía]. En ID-TAX: Catálogo y claves de identificación de organismos utilizados como elementos de calidad en las redes de control del estado ecológico. Madrid: Dirección General del Agua de la Secretaría de Estado de Medio Ambiente del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, p. 13.
- Júcar, C., Alcober Bosch, J., 2012. Nitzschia palea var. palea (Kütz.) W. Smith [Fotografía]. En ID-TAX: Catálogo y claves de identificación de organismos utilizados como elementos de calidad en las redes de control del estado ecológico. Madrid: Dirección General del Agua de la Secretaría de Estado de Medio Ambiente del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 284 p.

- Luís, A., Novais, M., Van de Vijver, B., Almeida, S., Ferreira da Silva, E., Hoffmann, L. and Ector, L., 2012. *Pinnularia aljustrelica* Luís, Almeida et Ector: internal valve view (Fig. 158) [Fotografía]. En *Pinnularia aljustrelica sp. nov. (Bacillariophyceae), a new diatom species found in acidic waters in the Aljustrel mining area (Portugal) and further observations on the taxonomy and ecology of P. acidophila Hofmann et Krammer and P. acoricola Hustedt.* Fottea, 12(1), pp. 34.
- Luís, A., Novais, M., Van de Vijver, B., Almeida, S., Ferreira da Silva, E., Hoffmann, L. and Ector, L., 2012. *Pinnularia acidophila* Hoffman & Krammer: external view of the entire valve (Fig. 162) [Fotografía]. En *Pinnularia aljustrelica sp. nov.* (Bacillariophyceae), a new diatom species found in acidic waters in the Aljustrel mining area (Portugal) and further observations on the taxonomy and ecology of *P. acidophila* Hofmann et Krammer and *P. acoricola* Hustedt. Fottea, 12(1), p. 35.
- Luís, A., Novais, M., Van de Vijver, B., Almeida, S., Ferreira da Silva, E., Hoffmann, L. and Ector, L., 2012. *Pinnularia acoricola* Hustedt: external view of the entire valve (Fig. 167) [Fotografía]. En *Pinnularia aljustrelica sp. nov. (Bacillariophyceae), a new diatom species found in acidic waters in the Aljustrel mining area (Portugal) and further observations on the taxonomy and ecology of P. acidophila Hofmann et Krammer and P. acoricola Hustedt. Fottea, 12(1), p. 36.*
- MARM, 2012. Eunotia exigua (Bréb. ex Kütz.) Rabenhorst [Fotografía]. En ID-TAX: Catálogo y claves de identificación de organismos utilizados como elementos de calidad en las redes de control del estado ecológico. Madrid: Dirección General del Agua de la Secretaría de Estado de Medio Ambiente del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, p. 134.
- MARM, Alcober Bosch, J., 2012. Brachysira vitrea (Grun.) Ross in Hartley [Fotografía].
   En ID-TAX: Catálogo y claves de identificación de organismos utilizados como elementos de calidad en las redes de control del estado ecológico. Madrid: Dirección General del Agua de la Secretaría de Estado de Medio Ambiente del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 42 p.
- Matono, P., Da Silva, J., Ilhéu, M., 2018. The Guadiana and Sado river basins in the south of Portugal [Mapa]. En How Does an Invasive Cyprinid Benefit from the Hydrological Disturbance of Mediterranean Temporary Streams? Diversity, 10(2), p. 47.
- Pinto Torres, M., Frangópulos, M., Pizarro, G., Alarcón, C., Pacheco, H., 2014. Diatomeas. Sección transversal del frústulo de una diatomea (Hasle y Syvertsen, 1996) [Imagen]. En Frangópulos, M., Pizarro, G. y Pinto-Torres, M. (ed.). Catálogo fotográfico de microalgas productoras de floraciones: Algales Nocivas, p. 17. Punta Arenas, Chile: La Prensa Austral.

- Sáez, R., Pascual, E., Toscano, M., Almodóvar, G., 1999. Mapa geológico de la FPI (Carvalho et al. 1976) [Imagen]. En *The Iberian type of volcano-sedimentary massive sulphide deposits*. Mineralium Deposita, 34(5-6), pp. 550.
- Sarmiento, A., 2007. Diagrama de producción de AMD [Imagen]. En *Estudio de la contaminación por drenajes ácidos de mina de las aguas superficiales en la cuenca del río Odiel (SO España)* (p. 20). [Tesis doctoral, Universidad de Huelva].
- Timmerman, J. y J. Doze, 2005. Cuenca del Guadiana [Mapa]. En *Transboundary river* basin management regimes: the Guadiana basin case study. Background report to Deliverable 1.3.1. of the NeWater project, Lelystad, p. 1.
- Yves BEY, M., 2021. Pinnularia subcapitata Gregory [Fotografía]. En Service d'administration nationale des données et référentiels sur l'eau (SANDRE). Recuperado el 20 de septiembre de 2021, de https://www.sandre.eaufrance.fr/urn.php?urn=urn%3Asandre%3Adonnees%3AA PT%3AFRA%3Acode%3A8367%3A%3A%3Areferentiel%3A3.1%3Ahtml.

## 7. ANEXOS

### 7.1. Anexo I: Localización y parámetros ambientales (N=217)

Cada punto representa una unidad de análisis (conjunto de datos) o bien agrupaciones de unidades. Las unidades de análisis se representan con la letra C acompañada por un número (ej. C1) mientras que las agrupaciones de unidades son representadas solo por un valor numérico. Se opta por representar agrupaciones de conjuntos de datos cuando: a- el sitio de muestreo se repite en diferentes campañas correspondientes a un mismo estudio; o b- las investigaciones no aportan datos suficientes como para establecer una ubicación aproximada dado que no proporciona mapa de localización. Así mismo se representan algunas de las explotaciones mineras presentes en la FPI citadas por los estudios.



Figura 73 Ubicacion de las unidades de análisis (en negrita) FPI zona Porguguesa. Imagen A. Cuenca del Sado: Lo- Mina de Lousal; 1- Lagoa Azul (C171; C190); 2- Lagoa Vermelha (C37; C157); Efluente ácido (C54; C168). Imagen B. Cuenca Sado: Al- Mina de Aljustrel; 4- Arroyos afectados (sin especificar) (C9, C11, C13, C16, C24; C25; C31); 5- Embalses afectados (sin especificar) (C10, C14, C17, C39; C126); 6- Presa de Relaves (C4, C7). *Ribeira da Água Forte:* C21- Corta; C97- Corte Vicente Anes; C129- Ponte do Curval. Imagen C. Cuenca del Guadina: SD- SD- São Domingos; 7- Corta (C61, C87, C120); 8- Arroyo São Domingos (C38, C149); 9- Embalse (C40, C116); lagunas ácidas (distancia medida siguiendo el cauce del arroyo): C44- A 1.5km del arroyo: C82- A 1km de la corta; C83- A 1km de la corta; C100- A 3.5km de la corta; C117- Arroyo São Domingos; y C194- Embalse del Chanza. Imágenes modificadas de Power Map Excel.



Figura 74 Ubicacion de las unidades de análisis (en negrita) FPI zona Española. Imagen A. Cuenca del Chanza: Fr- Fronteriza; Tr- Trimpacho; LC- La Condesa; SC- Nuestra Señora del Carmen; 16- Barranco Trimpacho (C8; C84); C6- Rivera del Chanza; C28- Corta La Condesa; C49- Corta Nuestra Señora del Carmen; C107- Corta Fronteriza. Imagen B. Cuenca del Covica: He- Herrerías; La- Lagunazo. Rivera del Covica: 11- Embalse Andévalo-Covica (C41, C154); puntos sobre el río [12-(C167; C177); 13-(C137, C155); 14-(C19, C113); 15- (C3, C53); C99; C140]; C108- Corta Guadiana; C205- Corta Santa Bárbara. Barranco del Chorrito: C189- Embalse Andévalo-Chorrito; puntos sobre el río [10-(C20, C42); C1; C128); C170- Corta Lagunazo. Imagen C. Cuenca del Odiel-Subcuenca del Meca: LP- La Lapilla; TH-Tharsis;19- Embalse Aguas Ácidas (C43, C181); 20- Embalse Grande (C185, C200); 21-Embalse del Pino (C179, C182); 23- Efluente Mina La Lapilla (C110, C147); C109- Efluente Minas de Tharsis; Arroyo de los Agustanos (C60, C92); Arroyo del Madroñal (C163; C197, C206, C213); C29- Corta Filón Sur (Tharsis); C35- Corta Filón Centro; C130- Arroyo del Saucito; Subcuenca del Meca; C203- Barranco del Oro; C114- Barranco del Valdeoscuro; C130- Arroyo del Saucito; Subcuenca del Oraque: Rivera del Agua Agria [27-(C112, C127); 28-(C63, C77); 29-(C64, C74); C79]. Imágenes modificadas de Power Map del Excel.

![](_page_84_Figure_0.jpeg)

Figura 75 Ubicacion de las unidades de análisis (en negrita) FPI zona Española. Cuenca de Odiel (Imagen A): Subcuenca del Meca (Imagen B) y Subcuenca de Oraque (Imagen C, D, E, F, G, H). Imagen A. Gibraleón (C162, C184, C186, C187, C196). Imagen B. C176- Rivera del Meca; Embalse del Sancho [22-(C169, C217); C56; C156; C193: C201). Imagen C y D. Río Oraque (C55; C158; C166, C192). Imagen E. C214- Barranco del Tamujoso. Imagen F. C144- Rivera de la Fresnera; C161- Rivera de la Pelada. Imagen G. C125- Rivera de la Pelada. Imagen H. C81- Rivera de la Panera. Imágenes modificadas de Power Map del Excel

![](_page_85_Figure_0.jpeg)

Figura 76 Ubicacion de las unidades de análisis (en negrita) FPI zona Española. Cuenca de odiel: subcuenca de Oraque (Imagen A) y subcuenca de Olivargas (Imagen B, C, D). Imagen A. LP- Lomero-Poyatos; ST- San Telmo; 26- Efluente Mina San Telmo (C69, C89, C52); C33- Barranco de Aguas Agrias; C71- Barranco de Carpio; C72- Embalse Garnacha; C119- Corta San Telmo; Efluente Mina Lomero-Poyatos (C124, C136); C199- Rivera de la Panera; Rivera de la Pelada (C173, C180). Imagen B. Subcuenca de Olivargas: AT- Aguas Teñidas; Co- Confesionarios; CM- Cueva de la Mora; Va-Valdelamusa; 24- Embalse de la Cueva de la Mora (C93, C96); C48- Corta Mina Confesionarios; C59- Rivera del Olivargas; C67- Corta Mina Cueva de la Mora; C76- Barranco de Gonzalo; C95- Barranco del Herrerito; Barranco Fuente del Valle (C175, C202); Barranco Monte Romero (C123, C152); C150- Efluente Mina Cueva de la Mora; C153- Barranco de la Malena. Imagen C. Pe- Rerrunal; LZ- La Zarza; 25-Embalse de Olivargas (C207, C211); C68- Corta La Zarza Este; C86-Corta la Zarza Oeste; C73- Barranco de Ronaldo; C78- Barranco de Majofre. Imagen D. C215- Rivera del Olivargas. Imágenes modificadas de Power Map del Excel.

![](_page_86_Figure_0.jpeg)

Figura 77 Ubicacion de las unidades de análisis (en negrita) FPI zona Española - Cuenca del Odiel Imagen A. Es- Esperanza; LA- La Angostura; LC- La Concepción; LP- La Poderosa; SM- San Miguel; C12- Efluente Mina La Poderosa; C62- Efluente Mina San Miguel; C131- Efluente Mina Esperanza; C133- Corta Mina La Angostura; C134-Corta Mina Concepción; Efluente Mina Concepción (C122, C145); C208- Arroyo de Palomino; C216- Rivera Seca. Imagen B. SC- Almagrera; TS- Tinto Santa Rosa. Efluente Mina Tinto Santa Rosa [31-(C143, C172); C121; C135; C142; C146; C151); C139- Efluente Mina Almagrera; C141- Corta Mina Tinto Santa Rosa; C188- Barranco del Batán; Río Odiel (C174, C191); C204- Puente de Calañas (Odiel); C209- Rivera del Villar. Imagen C. C183- Arroyo de los Coladeros. Imagen D. LT- La Torerera; C111 Efluente Mina La Torerera; C212- Arroyo Galaparosa. Imagen E. SC- Sotiel Coroada; Efluente Mina Sotiel Coronada (C164, C165). Imagen F. Arroyo Agua Agria (C80, C148). Imágenes modificadas de Power Map del Excel.

![](_page_87_Figure_0.jpeg)

Figura 78 Ubicacion de las unidades de análisis (en negrita) FPI zona Española. Imagen A. PH- Peña de Hierro; RT- Riotinto. Cuenca del Odiel: Puente Cinco Ojos (C159, C195); Río Agrio/Tintillo [30-(C30, C70, C88); 32-(C65, C66); 33-(C101, C145); 34-(C46, C102); 35-(C47, C103); 36-(C26, C104); 37-(C34, C105); 38- (C27, C118); 39-(C15, C106); C32; C90; C98); C210- Barranco del Escorial. Cuenca del Tinto: 17- Embalse del Gossán (C75, C198); 18- Embalse Marismilla (C18, C23); C2- Corta Atalaya; C5- Nerva- C22- Corta Cerro Colorado; C50- Corta Mina Peña del Hierro; C51- Naya. Imagen B. Cuenca del Tinto: C160- Embalse los Silillos I. Imagen C. Cuenca del Tinto: Niebla (C58, C57, C94, C115); C85- Puente de Gadea. Imagen D. Cuenca del Guadiamar: AZ- Aznalcóllar; C138- Embalse del Agrio; C178- Corta Mina Aznalcóllar. Imágenes modificadas de Power Map del Excel.

Tabla A	1 Parán	netros físico-	químicos y	concentracio	ones SO4= y	metales de	a la FPI (pH 1 -	- 5)					
Grupo	рН	EC (µS/cm)	Eh (mV)	SO₄⁼ (mg/L)	Fe (mg/L)	Cd (mg/L)	Co (mg/L)	Cu (mg/L)	Ni (mg/L)	Pb (mg/L)	Zn (mg/L)	Σ Ficklin (mg/L)	Ref.
C1	1,08	32300,00			4887,00	0,066		46287,00	1,927	2,871	21,00		(8)
C2	1,20	70100,00	584,00	41900,00	36450,00	18,000	19,000	1350,00	5,200	5,400	6670,00	8067,60	(16)
C3	1,33	2800,00			2,41	0,045		4,47	0,159	0,012	10,10		(8)
C4	1,69	36245,00		59776,00	106,00	5,000	12,710	507,00	3,340	5,000	1661,00	2194,05	(9)
C5	1,77	16200,00	535,00	19180,00	4183,00	0,074	4,451	7,70	0,571	0,008	111,00	123,80	(24)
C6	1,78	31800,00	795,00	56520,00	1615,00	0,613	5,001	135,00	3,990	0,043	308,00	452,65	(24)
C7	1,78	41594,00		112911,00	561,00	8,000	23,810	1288,00	9,070	0,010	3040,00	4368,89	(9)
C8	1,79	5190,00			45,10	0,140		22,10	0,522	0,078	78,10		(8)
C9	1,87	14585,00		29431,00	2,00	2,000	5,800	287,00	1,860	0,210	709,00	1005,87	(9)
C10	1,97	25352,00		52903,00	26,00	4,000	14,930	755,00	5,060	0,130	1423,00	2202,12	(9)
C11	1,97	10992,00		19119,00	18,00	1,000	3,620	181,00	1,140	0,080	563,00	749,84	(9)
C12	2,05	6080,00		5690,00	1330,00	0,350	1,120	122,00	0,116	0,106	55,00	178,69	(22)
C13	2,05	23070,00		40036,00	57,00	4,000	8,330	333,00	2,740	0,040	1857,00	2205,11	(9)
C14	2,09	8376,00		5731,00	15,00	0,470	0,860	9,00	0,490	3,000	182,00	195,82	(9)
C15	2,10		699,00	13800,00	674,00	0,982	6,172	137,00		0,045	267,00		(21)
C16	2,16	10697,00		7673,00	3,00	1,000	2,910	149,00	1,220	0,530	613,00	767,66	(9)
C17	2,17	6694,00		4003,00	204,00	0,280	0,560	0,55	0,300	2,000	114,00	117,69	(9)
C18	2,18	3121,00		2168,00	2266,00	0,769		207,00		0,561			(14)
C19	2,20	1603,00			2,41	0,016		1,55	0,092	0,007	4,38	6,04	(8)
C20	2,20	3850,00			99,40	0,063		9,64	0,614	0,169	14,70		(8)
C21	2,20	8590,00		11959,00				120,00		0,210	421,00		(1)
C22	2,20	1330,00	850,00	18000,00	3043,00	1,241	6,420	430,00	7,159	0,114	667,00	1111,93	(16)
C23	2,21	4901,79		2522,86	319,98	0,900	8,570	24,37	1,030		105,21		(20)
C24	2,27	4298,00		2864,00	28,00	0,220	0,650	33,00	0,210	0,080	95,00	129,16	(9)
C25	2,29	4071,00		2372,00	117,00	0,160	0,520	26,00	0,170	0,010	70,00	96,86	(9)
C26	2,30		634,00	18300,00	999,00	1,719	7,929	133,00		0,012	373,00		(21)
C27	2,30		657,00	14800,00	791,00	0,957	5,670	132,00		0,039	264,00		(21)
C28	2,30	8100,00	793,00	7960,00	826,00	0,645	1,053	63,00	0,947	0,419	516,00	582,06	(16)

Grupo	рН	EC (µS/cm)	Eh (mV)	SO₄⁼ (mg/L)	Fe (mg/L)	Cd (mg/L)	Co (mg/L)	Cu (mg/L)	Ni (mg/L)	Pb (mg/L)	Zn (mg/L)	Σ Ficklin (mg/L)	Ref.
C29	2,30	6750,00	814,00	7200,00	1992,00	0,102	6,712	150,00	0,918	0,167	19,00	176,90	(16)
C30	2,30	14590,00	787,00	32170,00	790,00			103,40	343,000	0,000	4,00		(5)
C31	2,31	4040,00		1926,00	6,00	0,190	0,500	26,00	0,170	0,060	82,00	108,92	(9)
C32	2,33	14600,00	777,00	24901,00	790,00	1,412	8,132	108,00	5,701	0,006	364,00	487,25	(24)
C33	2,38	4950,00		3417,00	205,00	0,044	0,691	2,88	0,412	0,042	14,80	18,87	(22)
C34	2,40		657,00	14100,00	854,00	0,984	5,362	135,00		0,038	273,00		(21)
C35	2,40	4650,00	821,00	3870,00	691,00	0,102	1,431	17,00	0,805	0,100	33,00	52,44	(16)
C36	2,40	10200,00	731,00	16100,00	4620,00	1,419	8,879	103,00	2,475	0,604	567,00	683,38	(16)
C37	2,40	9517,00	503,00	6753,00	288,90	0,011	378,200	0,08	168,600	79,930	1,41	628,23	(10)
C38	2,40	7356,00		5442,00	18,00	0,120	2,670	8,00	1,260	0,270	95,00	107,32	(9)
C39	2,41	8154,00		4553,00	86,00	0,290	0,580	0,06	0,300	2,000	123,00	126,23	(9)
C40	2,45	4804,00		2539,00	2,50	0,060	1,360	23,00	0,520	0,020	14,00	38,96	(9)
C41	2,47	6074,00		3086,40	315,80	0,110		9,05		0,590			(14)
C42	2,48	2740,00			53,80	0,027		7162,00	0,466	0,128	11,00		(8)
C43	2,48	6494,38		3193,63	158,74	0,110	3,630	9,14	1,230		20,77		(20)
C44	2,50	4034,70		3155,30	253,14	0,373	1,277	32,43	0,309	0,102	62,08	96,57	(11)
C45	2,50		591,00	24600,00	1847,00	8,075	45,564	188,00		0,014	574,00		(21)
C46	2,50		597,00	24200,00	1689,00	7,197	38,160	179,00		0,018	545,00		(21)
C47	2,50		617,00	18600,00	1135,00	1,970	8,902	136,00		0,009	394,00		(21)
C48	2,50	6660,00	822,00	6040,00	808,00	0,085	2,699	2,00	0,099	0,074	7,00	11,96	(16)
C49	2,50	6000,00	790,00	4780,00	368,00	0,016		19,00			5,00		(16)
C50	2,50	3930,00	810,00	2510,00	449,00	0,058	0,662	5,00	0,032	0,042	22,00	27,79	(16)
C51	2,50	12760,00	433,01	8256,80	2352,77	2,000		329,83			494,55		(6)
C52	2,50	9590,00	641,00	13760,00	1672,00			129,30	181,000	0,000	328,00		(5)
C53	2,51	1855,00			2,41	0,025		3824,00	0,082	0,024	6,10		(8)
C54	2,51	10126,00		8179,00	20,00	0,220	4,470	4,00	1,730	0,004	115,00	125,42	(9)
C55	2,52	2660,00	677,00	1816,00	13,80	0,174	0,624	6,80	0,324	0,052	31,10	39,07	(24)
C56	2,53	1051,59		781,92	20,34	0,800	0,550	9,20		0,360	4,09		(7)

Tabla A	1 Parán	netros físico-	químicos y	concentracio	ones SO4= y	metales de	e la FPI (pH 1 -	<b>- 5)</b> (Cont.)					
Grupo	рН	EC (μS/cm)	Eh (mV)	SO₄ <sup>=</sup> (mg/L)	Fe (mg/L)	Cd (mg/L)	Co (mg/L)	Cu (mg/L)	Ni (mg/L)	Pb (mg/L)	Zn (mg/L)	Σ Ficklin (mg/L)	Ref.
C57	2,53	9090,00	639,00	9821,00	1752,00	0,925	5,280	143,00	1,061	0,098	219,00	369,36	(24)
C58	2,54	2239,75	837,52	370,54	316,43	0,093		23,85			20,26		(13)
C59	2,55	4350,00	787,00	5117,00	152,00	0,308	0,934	2,25	0,718	0,151	276,00	280,36	(24)
C60	2,59	12133,00	660,00	17714,00	2014,00	1,095	14,690	167,00	6,387	0,883	412,00	602,06	(22)
C61	2,59	8636,00		7480,00	4,00	0,960	4,190	70,00	2,110	0,020	161,00	238,28	(9)
C62	2,60	3870,00	553,00	4420,00	1205,00	0,024	0,557	2,60	0,154	0,109	9,51	12,95	(22)
C63	2,60	6800,00	769,00	13100,00	207,00	0,450	21,500	69,00	6,730	0,171	180,00	277,85	(3)
C64	2,60	6700,00	768,00	12900,00	176,00	0,410	20,300	63,00	6,460	0,182	161,00	251,35	(3)
C65	2,60		573,00	24700,00	1824,00	8,546	45,935	184,00		<0,01	557,00		(21)
C66	2,60		606,00	23910,00	1751,00	0,874	16,046	157,00		<0,01	461,00		(21)
C67	2,60	3850,00	785,00	2420,00	105,00	0,020	1,063	8,00	0,506	0,031	17,00	26,62	(16)
C68	2,60	9460,00	835,00	13600,00	3964,00	0,174	2,460	80,00	2,524	1,014	102,00	188,17	(16)
C69	2,60	6430,00	452,00	8004,90								152,00*	(15)
C70	2,60	12410,00	538,00	19130,00	852,00			98,10	375,000	0,000	324,00	797,10	(5)
C71	2,64	7976,00	662,00	7988,00	826,00	0,004	1,900	63,20	1,107	0,384	172,00	238,60	(22)
C72	2,64	2633,00		1415,70	34,25	0,130		6,31		0,387			(14)
C73	2,65	5060,00	681,00	4701,00	887,00	0,146	0,813	12,00	0,660	0,463	21,10	35,18	(22)
C74	2,65	11400,00	913,00	17100,00	206,00	0,710	28,900	89,00	9,840	0,238	213,00	341,69	(3)
C75	2,66	2640,25		1432,50	34,19	0,130	1,300	6,45	0,460		9,84		(20)
C76	2,67	4093,00	693,00	4931,00	1121,00	0,110	1,245	1,18	0,091	0,151	1,45	4,23	(22)
C77	2,67	10600,00	885,00	16000,00	203,00	0,670	27,100	83,00	9,340	0,269	208,00	328,38	(3)
C78	2,68	3113,00	735,00	2252,00	233,00	0,061	0,796	11,20	0,770	0,130	16,70	29,66	(22)
C79	2,68	10128,00	601,00	11706,00	1154,00	0,605	6,471	43,30	4,377	0,411	204,00	259,16	(22)
C80	2,69	1115,00		515,00	86,90	0,013	0,062	0,15	0,132	0,022	0,84	1,22	(22)
C81	2,69	3837,00	753,00	2840,00	116,00	0,139	0,667	9,56	0,338	0,030	62,40	73,13	(22)
C82	2,70	2877,20		1608,30	71,26	0,028	0,669	12,72	0,197	0,030	7,11	20,75	(11)
C83	2,70	2654,80		1728,20	95,83	0,085	1,025	1,66	0,340	0,017	63,78	66,91	(11)
C84	2,70	1395,00			2,08	0,012		2897,00	0,094	0,047	5,80		(8)

Grupo	рН	EC (µS/cm)	Eh (mV)	SO₄ <sup>=</sup> (mg/L)	Fe (mg/L)	Cd (mg/L)	Co (mg/L)	Cu (mg/L)	Ni (mg/L)	Pb (mg/L)	Zn (mg/L)	Σ Ficklin (mg/L)	Ref.
C85	2,70	3870,00	726,00	3583,00	489,00	0,274	1,618	55,00	0,493	0,508	55,00	112,89	(2)
C86	2,70	8430,00	835,00	16100,00	3860,00	0,276	6,040	151,00	4,983	1,032	207,00	370,33	(16)
C87	2,70	8460,00	539,00	6707,00	1186,00	1,003	3,590	75,44	1,924	0,309	133,90	216,17	(10)
C88	2,70	15820,00	787,00	24150,00	842,00			127,60	628,000	1,000	396,00		(5)
C89	2,70	10320,00	648,00	12790,00	1242,00			98,20	170,000	0,000	242,00		(5)
C90	2,71	12380,00	655,00	16818,00	835,00	1,217	5,864	103,00	4,160	0,451	311,00	425,69	(22)
C91	2,71	4440,00	712,00	2384,00	90,40	0,166	2,476	25,20	1,077	0,101	78,40	107,42	(24)
C92	2,72	5128,00	759,00	4504,00	243,00	0,228	4,237	29,80	1,680	0,097	110,00	146,04	(22)
C93	2,72	2088,00		1167,20	15,80	0,230		2,31		0,544			(14)
C94	2,74	3540,00	740,00	2888,00	377,00	0,144	0,890	29,00	0,218	0,166	45,00	75,42	(19)
C95	2,75	2386,00	713,00	1154,00	90,10	0,182	0,051	9,70	0,116	0,786	56,30	67,13	(22)
C96	2,76	2410,19		1157,63	16,27	0,240	0,680	2,25	0,390		117,78		(20)
C97	2,77	2170,00		1399,00				4,80		< l.d.	23,10		(1)
C98	2,80	7139,00	694,00	7016,00	264,00	0,525	2,968	58,20	1,462	0,246	122,00	185,40	(22)
C99	2,80	5080,00	767,00	2556,00	274,00	0,053	0,160	7,24	0,257	0,031	15,40	23,14	(24)
C100	2,80	3392,70		2498,00	220,41	0,080	0,895	16,89	0,207	0,307	31,70	50,07	(11)
C101	2,80		616,00	22640,00	1762,00	0,841	14,909	156,00		0,017	457,00		(21)
C102	2,80		624,00	21670,00	1567,00	0,795	13,780	145,00		0,012	429,00		(21)
C103	2,80		636,00	19850,00	1248,00	0,483	9,721	129,00		0,012	389,00		(21)
C104	2,80		676,00	15520,00	963,00	0,440	7,827	107,00		0,015	316,00		(21)
C105	2,80		665,00	11440,00	716,00	0,436	7,780	134,00		0,031	223,00		(21)
C106	2,80		685,00	6920,00	293,00	0,186	3,456	65,32		0,035	119,00		(21)
C107	2,80	3740,00	763,00	2910,00	72,00	0,061	0,580	6,70	0,310	0,245	37,00	44,90	(16)
C108	2,80	5340,00	778,00	4030,00	100,00	0,162	2,226	25,00	1,769	0,053	101,00	130,21	(16)
C109	2,80	15540,00	439,00	30706,80								741,60*	(15)
C110	2,80	2440,00	720,00	1400,00	14,00			12,80	46,000	0,000	28,00		(5)
C111	2,82	2945,00	674,00	1871,00	67,40	0,055	0,831	8,65	0,981	0,131	30,50	41,15	(22)
C112	2,83	5400,00	742,00	8800,00	27,00	0,400	25,600	55,00	6,160	0,146	57,00	144,31	(3)

Grupo	рН	EC (µS/cm)	Eh (mV)	SO₄ <sup>=</sup> (mg/L)	Fe (mg/L)	Cd (mg/L)	Co (mg/L)	Cu (mg/L)	Ni (mg/L)	Pb (mg/L)	Zn (mg/L)	Σ Ficklin (mg/L)	Ref
C113	2,85	754,00			2,41	0,005		878,00	0,023	0,024	1,40		(8)
C114	2,86	2604,00	770,00	1371,00	130,00	0,022	0,840	24,50	0,316	0,332	3,76	29,77	(22)
C115	2,89	2260,00		1221,00	123,00	0,107	0,476	15,70	0,135	0,121	24,10	40,64	(17)
C116	2,90	1728,70		836,40	66,35	0,044	0,336	7,09	0,099	0,407	10,85	18,82	(11)
C117	2,90	3199,50		2055,20	67,24	0,072	0,563	6,80	0,176	0,135	16,00	23,74	(11)
C118	2,90		678,00	6890,00	353,00	0,325	4,110	70,20		0,031	129,00		(21)
C119	2,90	5180,00	777,00	3840,00	161,00	0,212	0,949	21,00	0,468	0,060	89,00	111,69	(16)
C120	2,90	8850,00	555,00	6070,00	709,00	0,875	3,770	70,30	1,910	0,200	149,00	226,06	(10)
C121	2,90	3200,00	637,24	8460,00	413,00	0,104	1,192	80,00	0,900	0,122	72,00	154,32	(23)
C122	2,90	1926,00	366,00	1360,80								11,60*	(15)
C123	2,91	2420,00	717,00	1485,00	40,60	0,296	0,394	4,86	0,408	0,171	143,00	149,13	(22)
C124	2,93	4120,00		2981,00	266,00	0,036	0,123	0,48	0,061	0,358	12,50	13,56	(22)
C125	2,93	1264,00		789,00	136,00	0,019	0,176	0,41	0,021	0,027	1,17	1,82	(22)
C126	2,94	8742,00		6007,00	14,00	0,470	0,880	3,00	0,490	2,000	197,00	203,84	(9)
C127	2,95	7980,00	863,00	10600,00	38,00	0,490	30,800	72,00	7,630	0,235	72,00	183,16	(3)
C128	2,95	3271,00		1583,14	219,10			9,10			10,32	19,42	(12)
C129	2,96	2150,00		1025,00				0,61		< l.d.	8,20		(1)
C130	2,97	2862,00	756,00	1637,00	65,20	0,078	1,107	17,50	0,617	0,522	13,30	33,12	(22)
C131	3,00			2410,00	629,00	0,038	0,373	4,65	0,096	0,075	8,60	13,83	(22)
C132	3,00	1734,80		1001,90	70,66	0,099	0,389	9,43	0,129	0,289	19,84	30,17	(11)
C133	3,00	2630,00	794,00	1470,00	86,00	0,052	0,647	25,00	0,208	0,068	11,00	36,98	(16)
C134	3,00	2580,00	773,00	1340,00	49,00	0,060	0,889	10,00	0,131	0,051	28,00	39,13	(16)
C135	3,00	3300,00	613,65	8424,00	491,00	0,116	1,176	19,00	0,872	0,132	68,00	89,30	(23)
C136	3,00	4230,00	477,00	3471,00								21,10*	(15)
C137	3,05	940,00			0,51	0,015		0,90	0,076	0,014	3,08	4,09	(8)
C138	3,07	956,90		426,35	34,83	0,162		1,39		0,300			(14)
C139	3,09	1300,00		819,00	38,50	0,050	0,307	3,27	0,239	0,225	47,10	51,19	(22)
C140	3,10	1067,00			2,41	0,001		0,55	0,063	0,006	0,05	0,67	(8)
C141	3,10	1920,00	766,00	940,00	21,00	0,030	0,231	5,00	0,260	0,194	22,00	27,72	(16)

Grupo	рН	EC (µS/cm)	Eh (mV)	SO₄⁼ (mg/L)	Fe (mg/L)	Cd (mg/L)	Co (mg/L)	Cu (mg/L)	Ni (mg/L)	Pb (mg/L)	Zn (mg/L)	Σ Ficklin (mg/L)	Ref.
C142	3,10	3300,00	591,72	8460,00	622,00	0,108	1,172	19,00	0,864	0,148	68,00	89,29	(23)
C143	3,10	3560,00	648,00	2090,00	437,00			6,80	61,000	0,000	49,00	116,80	(5)
C144	3,11	1632,00	715,00	832,00	22,70	0,042	0,187	5,39	0,104	0,043	16,90	22,67	(22)
C145	3,14	6350,00		5117,00	1089,00	0,286	3,375	12,90	0,242	0,119	111,00	127,92	(22)
C146	3,20	3200,00	512,99	7884,00	645,00	0,104	1,096	15,00	0,832	0,724	64,00	81,76	(23)
C147	3,20	1780,00	729,00	1250,00	18,00			11,20	43,000	1,000	22,00		(5)
C148	3,23	1138,00	708,00	399,00	21,90	0,006	0,055	0,62	0,070	0,042	5,80	6,59	(22)
C149	3,23	1510,00		463,00	1,10	0,010	0,060	0,43	0,020	0,002	1,00	1,52	(9)
C150	3,24	4538,00	591,00	3509,00	338,00	0,611	1,039	4,25	0,962	0,184	425,00	432,05	(22)
C151	3,25	3716,00	556,00	2544,00	651,00	0,108	1,053	12,00	0,824	0,155	59,70	73,84	(22)
C152	3,26	2506,00	669,00	1845,00	110,00	0,262	0,623	3,40	0,504	0,242	236,00	241,03	(22)
C153	3,26	1524,00	710,00	882,00	22,10	0,168	0,229	2,99	0,231	0,108	86,20	89,93	(22)
C154	3,27	1140,50		371,13	3,75	0,170	0,090	1,13	0,080		1,98		(20)
C155	3,28	631,00			2,41	0,005		585,00	0,020	0,013	1,10	586,14	(8)
C156	3,30	892,70		323,88	4,95	0,120	0,380	2,32		0,330	3,88		(7)
C157	3,30	8630,00	405,00	5433,00	380,40	0,087	269,400	0,07	184,900	82,320	1,05	537,82	(10)
C158	3,33	1114,00	676,00	532,00	4,87	0,022	0,117	2,97	0,061	0,045	8,16	11,38	(22)
C159	3,34	2920,00	660,00	2409,00	63,30	0,177	1,003	18,30	0,480	0,066	38,40	58,43	(22)
C160	3,34	793,30		323,88	4,96	1,495		2,32		0,331			(14)
C161	3,35	1119,00	659,00	557,00	30,30	0,005	0,119	0,22	0,015	0,039	0,88	1,28	(22)
C162	3,35	1064,08	497,61	362,14	6,11	0,033		3,80			9,20		(13)
C163	3,38	1714,00	701,00	949,00	13,30	0,036	0,006	9,36	0,371	0,188	7,87	17,83	(22)
C164	3,38	1870,00	612,00	1226,00	0,54	0,077	0,436	7,08	0,238	0,036	19,60	27,47	(24)
C165	3,40	1798,00	666,00	1207,00	12,80	0,083	0,470	9,12	0,241	0,111	19,60	29,62	(22)
C166	3,45	1442,00	662,00	635,00	11,50	0,028	0,257	2,56	0,149	0,026	10,80	13,82	(22)
C167	3,46	476,00			2,41	0,003		402,00	0,021	0,021	0,70	402,75	(8)
C168	3,46	6168,00		4041,00	0,90	0,150	2,570	6,00	1,080	0,210	49,00	59,01	(9)
C169	3,46	905,69		335,81	4,72	1,590	0,350	2,10	0,120		3,55		(20)
C170	3,50	1159,00	728,00	3140,00	4,70	0,038	0,076	0,50	0,011	0,131	6,00	6,76	(16)

Grupo	рН	EC (µS/cm)	Eh (mV)	SO₄⁼ (mg/L)	Fe (mg/L)	Cd (mg/L)	Co (mg/L)	Cu (mg/L)	Ni (mg/L)	Pb (mg/L)	Zn (mg/L)	Σ Ficklin (mg/L)	Ref.
C171	3,50	4784,00	410,00	2715,00	7,49	0,201	196,300	0,04	57,110	24,900	0,52	279,07	(10)
C172	3,50	3810,00	641,00	2330,00	583,00			6,40	68,000	0,000	58,00	132,40	(5)
C173	3,51	886,00	654,00	454,00	5,91	0,007	0,022	0,53	0,013	0,091	3,19	3,85	(22)
C174	3,53	1743,00	645,00	1264,00	10,30	0,088	0,501	9,37	0,254	0,053	20,60	30,87	(22)
C175	3,54	760,00		448,00	11,60	14,271	0,057	2,37	0,025	0,019	3,16	19,90	(22)
C176	3,55	1434,00	677,00	785,00	12,30	0,036	0,563	7,20	0,252	0,239	13,70	21,99	(22)
C177	3,58	480,00			0,03	0,003		0,19	0,028	0,026	0,91	1,16	(8)
C178	3,60	8960,00	639,00	8150,00	3,50	1,913	6,715	35,00	2,559	0,816	834,00	881,00	(16)
C179	3,64	300,60		126,88	0,40	0,128		0,18		0,339			(14)
C180	3,65	533,00		283,00	24,40	0,008	0,020	0,39	0,010	0,046	1,59	2,06	(22)
C181	3,65	652,20		412,00	11,59	0,256		2,19		0,299			(14)
C182	3,66	318,26		132,63	0,41	0,140	0,090	0,19	0,150		0,64		(20)
C183	3,67	1512,00	610,00	957,00	86,10	0,060	0,538	16,80	0,101	0,143	21,90	39,54	(22)
C184	3,70	1940,00		1204,00	469,00	495,000		525,00		294,000	506,00		(18)
C185	3,73	599,00	603,00	370,00	0,45	0,003	0,077	0,14	0,068	0,103	0,90	1,29	(22)
C186	3,76	1130,00	572,00	730,00	3,24	0,039	0,259	4,49	0,134	0,080	10,80	15,80	(22)
C187	3,76	1000,00		643,00	307,00	0,082	0,269	5,40	0,154	0,045	11,50	17,45	(17)
C188	3,80	3521,00	591,00	2620,00	94,70	0,065	0,436	3,75	0,196	1,185	45,00	50,63	(22)
C189	3,83	841,25		338,38	5,42	0,270	0,160	1,68	0,120		2,18		(20)
C190	3,90	4430,00	373,00	2095,00	1,50	0,173	138,900	0,05	46,230	20,740	0,23	206,32	(10)
C191	3,92	1010,00	591,00	565,00	3,12	0,037	0,190	3,81	0,087	0,009	6,37	10,50	(22)
C192	3,93	574,00	487,00	199,00	< l.d.	0,005	0,041	< l.d.	0,015	0,014	< l.d.	0,08	(22)
C193	3,93	442,00		182,00	0,76	0,132		0,64	0,001	1,027	2,27		(4)
C194	4,00	740,80		300,60	14,23	0,019	0,147	2,32	0,071	0,129	4,10	6,79	(11)
C195	4,00	1276,00	365,00	878,00								13,30*	(15)
C196	4,00	735,00	308,00	347,40								4,50*	(15)
C197	4,03	1035,00	634,00	541,00	4,35	0,025	0,360	5,34	0,213	0,205	4,53	10,67	(22)
C198	4,04	483,60		209,82	0,44	0,109		0,12		0,338			(14)
C199	4,08	364,00		137,00	3,11	0,003	0,028	0,24	0,026	0,013	0,52	0,83	(22)

Tabla A	1 Parán	netros físico-	-químicos y	concentracio	ones SO4= y	metales de	a la FPI (pH 1 –	<b>5)</b> (Cont.)					
Grupo	рН	EC (µS/cm)	Eh (mV)	SO₄ <sup>=</sup> (mg/L)	Fe (mg/L)	Cd (mg/L)	Co (mg/L)	Cu (mg/L)	Ni (mg/L)	Pb (mg/L)	Zn (mg/L)	Σ Ficklin (mg/L)	Ref.
C200	4,10	504,56		210,63	0,46	0,120	0,060	0,12	0,060		0,48		(20)
C201	4,24	362,00	618,00	121,00	0,15	0,004	0,072	0,57	0,031	0,013	1,62	2,31	(22)
C202	4,33	1501,00		1108,00	199,00	0,066	0,664	0,69	0,329	0,234	119,00	120,98	(22)
C203	4,38	792,00		423,00	0,55	0,006	0,214	5,11	0,113	0,053	1,47	6,97	(22)
C204	4,40	1065,00	213,00	588,90								8,10*	(15)
C205	4,70	5260,00	555,00	3850,00	0,40	0,283	1,127	8,00	0,898	0,012	27,00	37,32	(16)
C206	4,70	1882,00	303,00	853,50								8,00*	(15)
C207	4,72	1100,00		494,65	2,55	0,176		1,33		0,364			(14)
C208	4,75	257,00		85,80	1,07	0,003	0,009	0,32	0,005	0,035	0,49	0,86	(22)
C209	4,80	2500,00	470,39	1008,00	31,00	0,009	0,128	7,60	0,084	0,001	8,00	15,82	(24)
C210	4,81	1232,00	538,00	545,00	1,21	0,024	0,167	3,07	0,073	0,062	3,42	6,82	(22)
C211	4,81	1240,50		496,06	2,70	0,200	0,080	1,41	0,050		1,55		(20)
C212	4,82	638,00	492,00	303,00	9,37	0,005	0,087	1,11	0,106	0,007	4,64	5,95	(22)
C213	4,90	947,00	219,00	309,00								2,40*	(15)
C214	4,94	468,00	459,00	201,00	0,25	0,004	0,035	0,37	0,027	0,020	0,83	1,29	(22)
C215	4,96	191,00	469,00	31,60	1,58	< l.d.	0,009	< I.d.	0,010	0,011	< l.d.	0,03	(22)
C216	5,02	405,00	515,00	115,00	0,58	0,004	0,035	0,76	0,012	0,004	0,35	1,17	(22)
C217	5,02	168,40		29,00	0,51	0,179		0,56		0,301			(14)

Ref.: (1) Alvarenga et al., 2021; (2) Cánovas et al., 2008; (3) Caraballo et al., 2011; (4) Cerón et al., 2014; (5) Chacón-Baca et al., 2021; (6) De la Torre et al., 2011; (7) De la Torre et al., 2015; (8) Delgado et al., 2007; (9) Durães et al., 2016; (10) Gomes et al., 2019; (11) Gomez et al., 2021; (12) Grande et al., 2004; (13) Grande et al., 2011; (14) Grande et al., 2013; (15) Leiva et al., 2020; (16) López-Pamo et al., 2009; (17) Nieto et al., 2007; (18) Olías et al., 2004; (19) Olías et al., 2020; (20) Rivera et al., 2020; (21) Sánchez-España et al., 2007; (22) Sarmiento, 2007; (23)Sarmiento et al., 2011; (24) Sarmiento et al., 2018.

# 7.2. Anexo II: Localización, diatomeas y parámetros ambientales (N=69)

Cada punto representa una unidad de análisis (conjunto de datos) o bien agrupaciones de unidades. Las unidades de análisis se representan con la letra M acompañada por un número (ej. M1) mientras que las agrupaciones de unidades son representadas solo por un valor numérico. Se opta por representar agrupaciones de conjuntos de datos cuando: a- el sitio de muestreo se repite en diferentes campañas correspondientes a un mismo estudio; o b- las investigaciones no aportan datos suficientes como para establecer una ubicación aproximada (no se aporta mapa de localización). Así mismo se representan algunas de las explotaciones mineras presentes en la FPI citadas por los estudios.

![](_page_96_Figure_2.jpeg)

Figura 79 Ubicacion de las unidades de análisis (en negrita) FPI zona Portuguesa. Cuenca Río Sado (Imagen A, B) y cuenca del Guadiana (Imagen C). Imagen A. Área Minera de Lousal: MLo- Corta; Relaves (T1 y T2). 1- Puente Ferroviario Ribeira de Corona (M7, M54); 2- Efluente relave T1 (M21, M34, M47); Ribeira de Corona (M19, M20); 3- Puente IP1 previo confluencia Río Lousal-Río Sado (M40; M66). Imagen B. Área Minera de Aljustrel: MA- Corta; M50h- Embalse Estereis; 6- Embalse Mina (M50g, M60). Barranco Farrobo: 5- Arroyo Barranco Morgado (M50a, M59). 4- Arroyo Água Azeda (M50f, M58). Ribeira da Água Forte: 7- Porto Beja (M4, M8, M10, M13, M14, M50c); 8- Ponte Monte Ruas (M6, M9, M50b); 9-Ponte do Curval (M17; M30; M31; M50d), y 10- Água Forte (M5; M12; M16; M25; M26; M32; M35; M36; M45; M50e). *Río Roxo*: 11- Porto Ferreira (M49; M52; M62); M65- Jungeiros (M65). Imagen C. Nota: La unidad de análisis M50, corresponde a un promedio de diferentes sitios, identificados con las letras a-e. Imagenes modificadas de Power Map del Excel.

![](_page_97_Figure_0.jpeg)

Figura 80 Ubicacion de las unidades de análisis (en negrita) FPI zona Española. Cuenca del Covica (Imagen A), cuenca del Odiel-subcuenca del Meca (Imagen B, C y D) y cuenca del Odiel (Imagen E). Imagen A. He- Mina Herrerías; M43- Embalse del Andévalo; M53a- Embalse Andévalo- Chorrito; M53b-Embalse Andévalo-Covica; M33- Canal Receptor Mina Lagunazo. Imagen B. TH- Minas de Tharsis; Galería Sabina (M37, M41, M42, M48, M56); 17-Embalse Artificial Aguas Ácidas (M22, M24a); M23- Efluente Mina de Tharsis; M53c- Embalse del Pino. Imagen C. M68- Rivera del Dehesa Boyal; M69-Arroyo del Madroñal. Imagen D. M24b- Embalse del Sancho (M51, M53d). Imagen E. M55- Puente de Gibraleón. Imágenes Modificadas de Power Map (Excel). Las unidades de análisis M24 y M53, corresponden a promedio de características de diferentes embalses, identificados de la letra a-d.

![](_page_98_Figure_0.jpeg)

Figura 81 Ubicacion de las unidades de análisis (en negrita) FPI zona Española. Subcuenca de Oraque (Imagen A), subcuenca de Olivargas (Imagen B), cuenca del Odiel (Imagen C, E y F) y cuenca del Tinto (Imagen D). Imagen A. ST- Mina San Telmo; LP- Mina Lomero Poyatos; M27- Efluente Mina San Telmo; M39- Efluente Mina Lomero-Poyatos. Imagen B. M24b- Embalse de la Cueva de la Mora. Imagen C. MC- Mina Concepción; MP- Mina La Poderosa; 13- Efluente Mina La Poderosa (M1, M2, M15, M28); M38-Efluente Mina Concepción; M57- Puente Cinco Ojos. Imagen D. PH- Mina Peña de Hierro; RT- Minas de Riotinto; 14- Embalse del Gossán (M24c, M29); 15- Efluente Mina Peña de Hierro (M3, M11, M18); M24d- Embalse Marismillas. Imagen E. M64- Puente de Calañas. Imagen F. SC- Mina Sotiel Coronada; M44- Puente del siglo XVIII; Efluente Mina Sotiel Coronada (M61, M67). Imágenes modificadas de Power Map (Excel). Las unidades de análisis M24 corresponde a promedio de características de diferentes embalses, identificados de la letra a-d.

Tabla	A2 Especies de diatomeas de la FPI (p	oH= 1 – 5)	(N=69)			Tabla	A2 Especies de diatomeas de la FPI (j	oH= 1 – 5)	(N=69) (	Cont.)	
М	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.	М	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.
M1	Pinnularia acidophila Hoffman &	PACI	b	100	(14)	M12	Otras especies		С	8,99	(8)
	Krammer					M13	Pinnularia aljustrelica Luis, Almeida et	PALJ	b	91,00	(4)
M2	Pinnularia acidophila Hoffman &	PACI	b	100	(14)		Ector				
	Krammer						Otras especies		b	9,00	
M3	Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	а	78,47	(12)	M14	Eunotia exigua (Brébi. ex Kütz.)	EEXI	a, b, c	0,20	(3)
	Nitzschia linearis (Ag.) Smith var.	NLIN	а	0.20			Rabenhorst				
	linearis						Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	a, b, c	40,39	
	Otras especies	FEVI	а	21,33	(0)		Otras especies		a, b, c	59,41	(4.4)
IVI4	Eunotia exigua (Brebi. ex Kutz.)	EEXI	a, b, c	3,06	(3)	1115	Pinnularia acidopnila Hoπman &	PACI	D	100,0	(14)
	Rabennorst Dianu (aria accuiacía Liustadt		. h .	50.00		MAC	Krammer	ГГУІ	. h .	22 50	(2)
		PACO	a, b, c	50,99 45 05		IVI 10	Eunotia exigua (Brebi. ex Kutz.)	EEXI	a, b, c	33,50	(3)
MG	Diras especies Dippularia aliustrolica Luis Almoida et		a, b, c	45,95	(9)		Rabennoisi Dinnularia acoricala Hustodt		aha	16 90	
IVIJ	Ector	FALJ	U	95,04	(0)			FACO	a, b, c a h c	10,00	
	Otras especies		C	4 96		M17	Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	a, b, c a h c	55 41	(3)
M6	Pinnularia aliustrelica Luís Almeida et	PALI	b	96 10	(6)		Otras especies	17,000	a, b, c a h c	44 59	(0)
ino	Fctor	17120	0	00,10	(7)	M18	Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	a, 5, 5 a	98 10	(12)
	Otras especies		b	3.90	(.)		Nitzschia palea (Kütz.) Smith	NPAL	a	0.30	()
M7	Achnanthidium minutissimum (Kütz.)	ADMI	b. c	45.03	(9)		Cvclotella kutzingiana	CKUT	a	0.10	
	Czarnecki		-, -	-,	(-)		Otras especies		a	1,50	
	Otras especies		b, c	54,98		M19	Nitzschia hantzschiana Rabenhorst	NHAN	а	81,30	(9)
M8	Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	a, b, c	90,88	(3)		Otras especies		а	18,70	( )
	Otras especies		a, b, c	9,12	(3)	M20	Achnanthidium minutissimum (Kütz,)	ADMI	b, c	71,05	(9)
M9	Pinnularia aljustrelica Luis, Almeida et	PALJ	b	91,00	(4)		Czarnecki				
	Ector						Otras especies		b, c	28,96	
	Otras especies		b	9,00	(4)	M21	Achnanthidium minutissimum (Kütz.)	ADMI	b, c	72,08	(9)
M10	Pinnularia aljustrelica Luís, Almeida et	PALJ	b	89,92	(6)(7)		Czarnecki				
	Ector						Otras especies		b, c	27,93	
	Otras especies		b	10,08	(6)(7)	M22	Diploneis separanda Lange-Bertalot	DSEP	b	0,19	(15)
M11	Pinnularía acoricola Hustedt	PACO	а	6,40	(12)		Nitzschia umbonata (Ehr.) Lange-	NUMB	b	25,20	
	Otras especies	<b>B</b> 4 1 1	а	93,60	(0)		Bertalot	<b>DAO</b>		00.04	
M12	Pinnularia aljustrelica Luis, Almeida et	PALJ	С	91,01	(8)		Pinnularia acidophila Hottman &	PACI	b	39,81	
	Ector						Krammer				

Tabla	A2 Especies de diatomeas de la FPI (	oH= 1 – 5)	) (N=69) (	Cont.)		Tabla	A2 Especies de diatomeas de la FPI (	oH= 1 – 5)	<b>(N=69)</b> (	Cont.)	
М	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.	М	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.
M22	Pinnularia aljustrelica Luís, Almeida et	PALJ	b	32,30	(15)	M27	Melosira varians Agardh	MVAR	b	1,75	(2)
	Ector						Navicula cryptocephala Kützing	NCRY	b	0,87	
	Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	b	2,50			Navicula lanceolata (Ag.) Ehrenberg	NLAN	b	0,44	
M23	<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing	CMEN	b	10,34	(2)		<i>Navicula veneta</i> Kützing	NVEN	b	10,92	
	<i>Fragilaria capucina</i> Desmazières	FCAP	b	6,90			Nitzschia capitellata Hustedt	NCPL	b	0,44	
	<i>Navicula veneta</i> Kützing	NVEN	b	36,21			<i>Nitzschia inconspicua</i> Grunow	NINC	b	0,44	
	Nitzschia pusilla Grunow	NIPU	b	13,79			Pinnularia acidophila Hoffman &	PACI	b	20,52	
	Pinnularia acidophila Hoffman &	PACI	b	31,03			Krammer				
	Krammer						<i>Pinnularia aljustrelica</i> Luís, Almeida et	PALJ	b	0,44	
	Pinnularia aljustrelica Luís, Almeida et	PALJ	b	1,72			Ector				
	Ector		_				Rhoicosphenia abbreviata (Ag.)	RABB	b	0,44	
M24	<i>Pinnularia aljustrelica</i> Luís, Almeida et	PALJ	b	58,61	(10)		Lange-Bertalot				
*	Ector		_		(11)	M28	Pinnularia acidophila Hoffman &	PACI	b	100,0	(14)
	Pinnularia acidophila Hoffman &	PACI	b	23,33			Krammer				(
	Krammer					M29	Discostella pseudostelligera (Hust.)	DPST	b	0,20	(15)
	Pinnularia subcapitata Gregory var.	PSCA	b	12,78			Houk & Klee			4.40	
				5.00			Eunotia exigua (Brebi. ex Kutz.)	EEXI	D	4,10	
	Nitzschia umbonata (Enr.) Lange-	NOMB	D	5,28					L	0.00	
MOE	Benalot		. h .	45.04	(2)		Nitzschia umbonata (Enr.) Lange-	NUMB	D	8,60	
IVIZO	Eunotia exigua (Brebi. ex Kutz.)	EEXI	a, b, c	15,84	(3)		Benalot Dinnularia agidanhila Haffman 8		h	ED 20	
	Rabellioisi Dinnularia apariaala Hustadt		0 h 0	10 76			Krommor	FACI	b	52,50	
		FACO	a, b, c	40,70			Right Ministration Luía Almaida at		h	24 00	
M26	Olids especies Eurotia oxigua (Brábi, ox Kütz)	EEYI	a, b, c	01 01	(8)		Ector	FALJ	b	24,00	
IVIZO	Rabenborst		U	91,01	(0)		Dinnularia subcanitata Gregory var	PSCA	h	10.00	
	Atras especies		c	8 99			Subcapitata	1 004	D	10,00	
M27	Achnanthidium minutissimum (Kütz)		h	48 91	(2)	M30	Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	ahc	68 72	(3)
	Czarnecki	7.0111	2	10,01	(_)		Otras especies		a, b, c	31 28	(0)
	Cymatopleura elliptica (Breb.) Smith	CELL	b	1.31		M31	Pinnularia aliustrelica Luís Almeida et	PAL.	b, 2, 0	7 00	(6)(7)
	var. elliptica	•	~	.,• .			Ector	=•		.,	(0)(1)
	Cymbella affinis Kützing	CAFF	b	8.30			Otras especies		b	93.00	
	Cymbopleura amphicephala Krammer	CBAM	b	1.75		M32	Pinnularia aliustrelica Luís. Almeida et	PALJ	b	13.89	(6)(7)
	Diploneis oblongella (Naeg.) Cleve-	DOBL	b	0.87			Ector			,	(-/(•/
	Euler		-	-,			Otras especies		b	86.11	
	Encyonema ventricosum (Ag.) Grun.	ENVE	b	2,62						,	

Tabla	A2 Especies de diatomeas de la FPI (	pH= 1 – 5)	) (N=69) (	Cont.)		Tabla	A2 Especies de diatomeas de la FPI (	pH= 1 – 5)	) (N=69) (	Cont.)	
М	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.	М	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.
M33	<i>Brachysira vitrea</i> (Grun.) Ross in Hartley	BVIT	b	61,00	(13)	M38	<i>Planothidium lanceolatum</i> (Bréb. ex Kütz.) Lange-Bertalot	PTLA	b	2,05	(2)
	<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.) Rabenhorst	EEXI	b	22,00		M39	<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.) Rabenhorst	EEXI	b	1,99	(2)
	<i>Pinnularia acidophila</i> Hoffman & Krammer	PACI	b	7,00			<i>Nitzschia hantzschiana</i> Rabenhorst <i>Pinnularia acidophila</i> Hoffman &	NHAN PACI	b b	0,66 90,27	
	Otras especies		b	10,00			Krammer				
M34	<i>Achnanthidium minutissimum</i> (Kütz.) Czarnecki	ADMI	b, c	92,89	(9)		<i>Pinnularia aljustrelica</i> Luís, Almeida et Ector	PALJ	b	4,42	
M35	Otras especies <i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.)	EEXI	b, c a, b, c	7,11 15,84	(9) (3)		Pinnularia subcapitata Gregory var. Subcapitata	PSCA	b	2,65	
	Rabenhorst <i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt	PACO	a, b, c	23,64		M40	Achnanthidium minutissimum (Kütz.) Czarnecki	ADMI	b, c	35,73	(9)
	Otras especies		a, b, c	60,52			Otras especies		b, c	64,28	
M36	Halamphora coffeaeformis (Ag.) Levkov	HACO	С	92,91	(8)	M41	Brachysira neoexilis Lange-Bertalot Navicula trivialis Lange-Bertalot	BNEO	b b	2,35 3,36	(14)
	Otras especies		С	7,09			Nitzschia palea (Kütz.) Smith	NPAL	b	5,37	
M37	<i>Pinnularia acidophila</i> Hoffman & Krammer	PACI	b	100,0	(14)		Pinnularia subcapitata Gregory var. Subcapitata	PSCA	b	25,17	
M38	Halamphora veneta (Kütz.) Levkov Cyclotella meneghiniana Kützing	HVEN CMEN	b b	1,28 4,62	(2)		<i>Pinnularia acidophila</i> Hoffman & Krammer	PACI	b	47,65	
	<i>Encyonema minutum</i> (Hilse) Mann <i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.)	ENMI EEXI	b b	1,28 11,54			<i>Pinnularia aljustrelica</i> Luís, Almeida et Ector	PALJ	b	16,11	
	Rabenhorst Fragilaria capucina Desmazières	FCAP	b	5.38		M42	<i>Achnanthidium exiguum</i> (Grunow) Czarnecki	ADEG	b	18,45	(14)
	Navicula cryptocephala Kützing Navicula veneta Kützing	NCRY NVEN	b b	1,79 65.90			Achnanthidium minutissimum (Kütz.) Czarnecki	ADMI	b	3,88	
	Nitzschia inconspicua Grunow	NINC	b	0,77			Pinnularia subcapitata Gregory var.	PSCA	b	27,18	
	linearis		5 6	1.02			Pinnularia acidophila Hoffman &	PACI	b	44,17	
	Pinnularia subcapitata Gregory var.	PSEL	b	3,33			Pinnularia aljustrelica Luís, Almeida et	PALJ	b	6,31	
	elongata Krammer Planothidium frequentissimum (Lang	PLFR	b	0,77		M43	Ector Brachysira neoexilis Lange-Bertalot	BNEO	b	0,70	(15)
	Bert.) Lange-Bertalot						Eunotia exigua (Brébi. ex Kütz.) Rab.	EEXI	b	73,10	

Tabla	A2 Especies de diatomeas de la FPI (j	pH= 1 – 5	<b>) (N=69)</b> (	Cont.)		Tabla	A2 Especies de diatomeas de la FPI (	oH= 1 – 5)	(N=69) (	Cont.)	
М	Diatomea	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.	М	Diatomea	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.
M43	Pinnularia acidophila Hoffman &	PACI	b	3,46	(15)	M49	Otras especies		a, b, c	90,81	(3)
	Krammer					M50	Pinnularia aljustrelica Luís, Almeida et	PALJ	a, b, c		(5)
	Pinnularia subcapitata Gregory var.	PSCA	b	22,74			Ector				
	Subcapitata	_					<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.)	EEXI	a, b, c		
M44	Gomphonema affine Kützing	GAFF	b	10,27	(14)		Rabenhorst				
	Navicula trivialis Lange-Bertalot		b	10,57			Nitzschia hantzschiana Rabenhorst	NHAN	a, b, c		<i></i>
	Nitzschia palea (Kütz.) Smith	NPAL	b	22,66		M51	Planothidium lanceolatum (Bréb. ex	PTLA	b	0,74	(15)
	Pinnularia subcapitata Gregory var.	PSCA	b	31,12			Kutz.) Lange-Bertalot				
	Subcapitata						Bacıllaria paxillifera (Mull.) Hendey	BPAX	b	0,70	
	Pseudostaurosira brevistriata (Grun.)	PSBR	b	10,88			Cyclotella meneghiniana Kutzing	CMEN	b	0,70	
	Williams & Round			44.50			Diploneis sp. Ehrenberg ex Cleve	DISP	b	0,33	
	Staurosira venter (Enr.) Cieve &	SSVE	D	14,50			Eunotia exigua (Brebi. ex Kutz.)	EEXI	D	2,50	
				0.47	$\langle \mathbf{O} \rangle$		Rabennorst			0.07	
1145	Eunotia exigua (Brebi. ex Kutz.)	EEXI	a, b, c	2,47	(3)		Gompnonema parvuium (Kutz.)	GPAR	D	0,37	
	Rabennorst Bianularia accricale Lluctodt		. h .	00.40			Kutzing var. Parvulum		<b>b</b>	0.07	
		PACO	a, b, c	00,42			Navicula gregaria Donkin		D h	0,67	
MAG	Ollas especies		a, b, c	9,11	(1)		Craticula naiophila (Grun. ex Van Hourde) Monn	CHAL	D	1,00	
11140	Achnanthiolum minutissimum (Kulz.)	ADIVII	C	2,60	(1)		Neurok) Marin Neuroka konota Kützing		h	1 02	
	Nitzeehie sublineeris Hustedt	NCDI	0	0.50			Navicula veriela Rutzilig		b b	1,03	
	Pinnularia subcanitata Gregory var	PSCA	C C	7/ 10			Navicula sp. boly Nitzschia amphibia Grupow	NAMP	b b	1.06	
	Subcapitata	1 304	U	74,10			Nitzschia anphibia Grunow	ΝΡΔΙ	b	1,00	
	Nitzschia canitellata Hustedt	NCPI	C	16 20			Nitzschia umbonata (Fbr.) Lange-		b	5 20	
	Rhopalodia gibba (Ehr.) Müller	RGIB	C C	0.50			Bertalot	NOND	D	0,20	
	Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	C C	0,50			Pinnularia acidophila Hoffman &	PACI	b	4 23	
	Eunotia exigua (Brébi, ex Kütz.)	EEXI	C	1.90			Krammer		2	.,20	
	Rabenhorst	/	C C	.,			Pinnularia aliustrelica Luís. Almeida et	PALJ	b	2.31	
	Otras especies		С	3.50			Ector	-		, -	
M47	Achnanthidium minutissimum (Kütz.)	ADMI	b. c	50.16	(9)		Pinnularia subcapitata Gregory var.	PSCA	b	76.96	
	Czarnecki		-, -	, -	(-)		Subcapitata			- ,	
	Otras especies		b, c	49,85		M52	<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.)	EEXI	a, b, c	4,75	(3)
M48	Pinnularia acidophila Hoffman &	PACI	b	100,0	(14)		Rabenhorst		, , ,	,	
	, Krammer			,	· /		Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	a, b, c	17,24	
M49	Eunotia exigua (Brébi. ex Kütz.) Rabe.	EEXI	a, b, c	5,74	(3)		Otras especies		a, b, c	78,01	
	Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	a, b, c	3,45	. ,		ррр				

Tabla A2 Especies de diatomeas de la FPI (pH= 1 – 5) (N=69) (Cont.)							Tabla A2 Especies de diatomeas de la FPI (pH= 1 – 5) (N=69) (Cont.)					
М	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.	М	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.	
M53 *	<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.) Rabenhorst	EEXI	b	26,94	(10) (11)	M55	<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.) Rabenhorst.	EEXI	b	8,46	(2)	
	Pinnularia subcapitata Gregory var. Subcapitata	PSCA	b	41,11			<i>Fragilaria radians</i> Hoffman Werum & Lange-Bertalot	FRDS	b	0,50	(2)	
	<i>Pinnularia acidophila</i> Hoffman & Krammer	PACI	b	21,94			<i>Fragilaria tenera</i> (Smith) Lange- Bertalot	FTEN	b	0,25		
	<i>Pinnularia aljustrelica</i> Luís, Almeida et Ector	PALJ	b	10,00			Hantzschia amphioxys (Ehr.) Grunow		b b	0,50 0.25		
M54	Achnanthidium minutissimum (Kütz.)	ADMI	b, c	40,14	(9)		Melosira varians Agardh	MVAR	b	0,50		
	Czarnecki		,	,	( )		Navicula capitatoradiata Germain	NCPR	b	0,50		
	Otras especies		b, c	59,86			Navicula gregaria Donkin	NGRE	b	2,49		
M55	Achnanthidium exiguum (Grunow)	ADEG	b	0,75	(2)		Navicula reichardtiana Lange-Bertalot	NRCH	b	0,50		
	Czarnecki						Navicula tripunctata (Müll.) Bory	NTPT	b	0,25		
	Achnanthidium minutissimum (Kütz.)	ADMI	b	15,92			Navicula veneta Kützing	NVEN	b	1,49		
	Czarnecki						Nitzschia amphibia Grunow	NAMP	b	0,50		
	Amphora pediculus (Kütz.) Grunow	APED	b	0,50			<i>Nitzschia communis</i> Rabenhorst <i>Nitzschia dissipata</i> (Kütz.) Grunow		b	0,25		
	Halamphora veneta (Kütz.) Levkov	HVEN	b	0,25					b	0,50		
	Anomoeoneis cf. spaerophora (Ehr.)	ASPH	b	0,25			Nitzschia filiformis (Smith) Van Heurck	NFIL	b	0,25		
	Pfitzer						Nitzschia frustulum (Kütz.) Grunow	NIFR	b	0,50		
	Aulacoseira granulata (Ehr.) Simonsen	AUGR	b	0,25			Nitzschia hantzschiana Rabenhorst	NHAN	b	1,49		
	<i>Bacillaria paxillifera</i> (Müll.) Hendey	BPAX	b	0,25			<i>Nitzschia palea</i> (Kütz.) Smith	NPAL	b	1,99		
	<i>Brachysira vitrea</i> (Grun.) Ross in Hartley	BVIT	b	9,95			<i>Pinnularia acidophila</i> Hoffman & Krammer	PACI	b	10,95		
	Cocconeis pediculus Ehrenberg	CPED	b	0,75			Pinnularia aljustrelica Luís, Almeida et	PALJ	b	0,25		
	Cocconeis euglypta Ehrenberg	CEUG	b	1,24			Ector					
	Cyclotella atomus Hustedt	CATO	b	0,50			Pinnularia subcapitata Gregory var.	PSEL	b	29,35		
	Cyclotella meneghiniana Kützing	CMEN	b	0,25			elongata Krammer					
	<i>Cymatopleura elliptica</i> (Breb.) Smith var. elliptica	CELL	b	0,75			<i>Planothidium lanceolatum</i> (Bréb. ex Kütz.) Lange-Bertalot	PTLA	b	1,00		
	Cymbella affinis Kützing	CAFF	b	0,50			Reimeria sinuata (Greg.) Kociolek &		b	0,75		
	Cymbella tumida (Bréb.) Van Heurck	CTUM	b	0,25			Stoermer					
	Diatoma vulgaris Bory	DVUL	b	0,25			Stauroneis kriegeri Patrick	STKR	b	0,25		
	Encyonema ventricosum (Ag.) Grunow	ENVE	b	0,50			<i>Staurosira venter (Ehr.)</i> Cleve & Moeller	SSVE	b	0,75		
	Eolimna minima (Grun,) Lange-Bert.	EOMI	b	0,25			Ulnaria ulna (Nitz.) Compère	UULN	b	2,24		

Tabla A2 Especies de diatomeas de la FPI (pH= 1 – 5) (N=69) (Cont.)						Tabla A2 Especies de diatomeas de la FPI (pH= 1 – 5) (N=69) (Cont.)					
М	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.	Μ	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.
M56	Pinnularia acidophila Hoffman & PACI b 83,33 (14) M57 Pinnularia acidophila Krammer Krammer		<i>Pinnularia acidophila</i> Hoffman & Krammer	PACI	b	4,43	(2)				
	<i>Pinnularia aljustrelica</i> Luís, Almeida et Ector	PALJ	b	16,67			<i>Pinnularia aljustrelica</i> Luís, Almeida et Ector	PALJ	b	0,25	
M57	<i>Achnanthidium minutissimum</i> (Kütz.) Czarnecki	ADMI	b	9,36	(2)		Pinnularia subcapitata Gregory var. elongata Krammer	PSEL	b	4,43	
	<i>Halamphora veneta</i> (Kütz.) Levkov <i>Brachysira vitrea</i> (Grun.) Ross in	HVEN BVIT	b b	3,94 1,48			<i>Planothidium lanceolatum</i> (Bréb. ex Kütz.) Lange-Bertalot	PTLA	b	0,49	
	Hartley Cocconeis euglypta Ehrenberg	CEUG	b	1,97			<i>Pseudostaurosira brevistriata</i> (Grun.) Williams & Round	PSBR	b	0,74	
	Cyclotella meneghiniana Kützing Cymbella affinis Kützing	CMEN CAFF	b b	3,45 0,25			<i>Reimeria sinuata</i> (Greg.) Kociolek & Stoermer	RSIN	b	0,74	
	Cymbopleura amphicephala Krammer Encvonema minutum (Hilse) Mann	CBAM ENMI	b b	0,99 0,25			<i>Rhoicosphenia abbreviata</i> (Ag.) Lange-Bertalot	RABB	b	1,23	
	<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.) Rabenhorst	EEXI	b	8,13			<i>Stauroneis kriegeri</i> Patrick <i>Staurosira venter</i> (Ehr.) Cleve & Moeller <i>Staurosirella pinnata</i> (Ehr.) Williams &		b b	1,72 1,48	
	Eunotia pectinalis (Kütz.) Rabenhorst Fallacia pygmaea (Kútz.), ssp	EPEC FPYG	b b	0,49 0,25					b	1 72	
	Pygmaea Lange-Bertalot	FGRA	~ h	1 07			Round Surirella angusta Kützing	SANG	~ h	0.49	
	Melosira varians Agardh	MVAR	b	1,48		<i>Ulnaria ulna</i> (Nitz.) Compère		UULN	b	0,99	
	Navicula cryptocephala Kützing Navicula gregaria Donkin	NCRY b NGRE b	1,23 0,49	M58		<i>Pinnularia aljustrelica</i> Luís, Almeida et Ector	PALJ	b	6,99	(6)(7)	
	Navicula recens (LangBert.) Lange-	NRCS	b	1,48			Otras especies		b	93,01	
	Bertalot <i>Navicula veneta</i> Kützing	NVEN	b	38,18		M59	<i>Pinnularia aljustrelica</i> Luís, Almeida et Ector	PALJ	b	62,25	(6)(7)
	Nitzschia capitellata Hustedt	NCPL	b	0,74			Otras especies		b	37,75	
	<i>Nitzschia dissipata</i> (Kütz.) Grunow <i>Nitzschia fonticola</i> Grunow	NDIS NFON	b b	0,25 0,49		M60	M60 Pinnularia aljustrelica Luís, Almeida et Ector		b	6,92	(6)(7)
	Nitzschia hantzschiana Rabenhorst	NHAN	b	1,48			Otras especies		b	93,08	
	Nitzschia inconspicua Grunow		b	1,23		M61	<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.) Rabenborst	EEXI	b	16,67	(14)
	linearis Nitzschia nalea (Kütz ) Smith		b	0,99			Gomphonema saprophilum (Lang	GSPP	b	9,94	
	Nitzschia pusilla Grunow	NIPU	b	0,25			Cocconeis placentula var. Lineata	CPLI	b	2,63	

Tabla A2 Especies de diatomeas de la FPI (pH= 1 – 5) (N=69) (Cont.)						Tabla A2 Especies de diatomeas de la FPI (pH= 1 – 5) (N=69) (Cont.)					
М	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.	М	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.
M61	<i>Cyclostephanos dubius</i> (Fricke) Round	CDUB	b	3,25	(14)	M64 Achnanthidium minutissimum (Kütz.) Czarnecki		ADMI	b	13,35	(2)
	Diatoma vulgaris Bory	DVUL	b	1,38			<i>Bacillaria paxillifera</i> (Müll.) Hendey	BPAX	b	0,24	
	Encyonema lange-bertalotii Krammer	ENLB	b	3,00			Brachysira vitrea (Grun.) Ross in	BVIT	b	14,08	
	Gyrosigma attenuatum (Kütz.)	GYAT	b	1,00			Hartley				
	Rabenhorst						Cocconeis pediculus Ehrenberg	CPED	b	0,73	
	<i>Melosira varians</i> Agardh	MVAR	b	2,00			Cocconeis euglypta Ehrenberg	CEUG	b	2,43	
	Navicula erifuga Lange-Bertalot	NERI	b	5,05			Cyclotella meneghiniana Kützing	CMEN	b	0,73	
	Navicula trivialis Lange-Bertalot		b	5,25			<i>Diatoma vulgaris</i> Bory	DVUL	b	0,24	
	<i>Nitzschia palea</i> (Kütz.) Smith	NPAL	b	10,42			Encyonema silesiacum (Blei.) Mann		b	3,40	
	Pinnularia subcapitata Gregory var. Subcapitata	PSCA	b	27,89			<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.) Rabenhorst		b	2,43	
	Pseudostaurosira brevistriata (Grun.)	PSBR	b	4,75			Fragilaria capucina Desmazières		b	1,46	
	Williams & Round						Fragilaria radians Hoffman Werum &	FRDS	b	0,49	
	<i>Rhopalodia gibba</i> (Ehr.) Müller	RGIB	b	1,00			Lange-Bertalot				
	Stauroneis kriegeri Patrick	STKR	b	3,91			Fragilaria tenera (Smith) Lange-		b	4,37	
	Ulnaria ulna var. Acus (Kütz.) Lange-	UUAC	b	1,88			Bertalot				
	Bertalot						<i>Mayamaea atomu</i> s (Kütz.) Lange-	MAAT	b	0,49	
M62	<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.)	EEXI	a, b, c	4,85	(3)		Bertalot				
	Rabenhorst						<i>Melosira varian</i> s Agardh	MVAR	b	0,97	
	Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	a, b, c	35,96			Navicula capitatoradiata Germain	NCPR	b	0,49	
	Otras especies		a, b, c	59,19			<i>Navicula gregaria</i> Donkin	NGRE	b	0,73	
M63	Achnanthidium minutissimum (Kütz.)	ADMI	С	0,90	(1)		<i>Navicula lanceolata</i> (Ag.) Ehrenberg	NLAN	b	0,49	
	Czarnecki						<i>Navicula veneta</i> Kützing	NVEN	b	1,21	
	Nitzschia sublinearis Hustedt	NSBL	С	3,70			Navicula rostellata Kützing	NROS	b	0,49	
	Nitzschia capitellata Hustedt	NCPL	С	51,40			<i>Nitzschia clausii</i> Hantzsch	NCLA	b	0,97	
	<i>Rhopalodia gibba</i> (Ehr.) Müller	RGIB	С	0,40			<i>Nitzschia dissipata</i> (Kütz.) Grunow	NDIS	b	0,49	
	Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	С	5,10			Nitzschia fonticola Grunow	NFON	b	0,73	
	Pinnularia subcapitata Gregory var.	PSCA	С	33,00			Nitzschia hantzschiana Rabenhorst	NHAN	b	1,46	
	Subcapitata						Nitzschia inconspicua Grunow	NINC	b	3,16	
	<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.)	EEXI	С	3,20			Nitzschia linearis (Ag.) Smith var.	NLIN	b	0,24	
	Rabenhorst						linearis				
	Cocconeis placentula Ehrenberg	CPLA	С	0,40			Nitzschia microcephala Grunow	NMIC	b	0,97	
	var. placentula						Nitzschia palea (Kütz.) Smith	NPAL	b	1,70	
	Otras especies		С	1.90		<u>.</u> . <u> </u>	Pinnularia acidophila Hoffman & Kram.	PACI	b	16,99	

Tabla A2 Especies de diatomeas de la FPI (pH= 1 – 5) (N=69) (Cont.)							Tabla A2 Especies de diatomeas de la FPI (pH= 1 – 5) (N=69) (Cont.)					
Μ	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.	М	Especies	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.	
M64	Pinnularia aljustrelica Luís, Almeida et	PALJ	b	0,97	(2)	M67	Melosira varians Agardh	MVAR	b	2,37	(14)	
	Ector						Navicula trivialis Lange-Bertalot		b	9,34		
	Pinnularia subcapitata Gregory var.	PSEL	b	10,44			Navicula radiosa Kützing	NRAD	b	4,61		
	<i>elongata</i> Krammer						<i>Nitzschia palea</i> (Kütz.) Smith	NPAL	b	9,59		
	Planothidium lanceolatum (Bréb. ex	PTLA	b	1,21			Nitzschia valdestriata Aleem &	NIVA	b	3,36		
	Kütz.) Lange-Bertalot						Hustedt					
	<i>Rhoicosphenia abbreviata</i> (Ag.) Lange-Bertalot	RABB	b	1,46			Pinnularia subcapitata Gregory var. Subcapitata	PSCA	b	13,20		
	Stauroneis kriegeri Patrick	STKR	b	0,49			Planothidium rostratum (Østrup)	PRST	b	4,73		
	Staurosira venter (Ehr.) Cleve &	SSVE	b	7,52			Lange-Bertalot					
	Moeller						Pseudostaurosira brevistriata (Grun.)	PSBR	b	5,11		
	<i>Ulnaria ulna</i> (Nitz.) Compère	UULN	b	2,43			Williams & Round					
M65	Eunotia exigua (Brébi. ex Kütz.)	EEXI	a, b, c	0,39	(3)		Sellaphora pupula (Kütz.) Mereschk	SPUP	b	3,11		
	Rabenhorst						Staurosira dubia Grunow	SRDU	b	4,23		
	Pinnularia acoricola Hustedt	PACO	a, b, c	2,21			Staurosirella oldenburgiana (Hust.)	SOLD	b	3,61		
	Otras especies		a, b, c	97,40			Morales					
M66	Achnanthidium minutissimum (Kütz.)	ADMI	b, c	31,95	(9)		Staurosira leptostauron (Ehr.)		b	1,49		
	Czarnecki						Kulikovsky & Genkal					
	Otras especies		b, c	68,05	(9)		Staurosira venter (Ehr.) Cleve &	SSVE	b	6,72		
M67	Achnanthidium exiguum (Grunow)	ADEG	b	1,74	(14)		Moeller					
	Czarnecki					M68	Achnanthidium minutissimum (Kütz.)	ADMI	b	0,43	(2)	
	Achnanthidium rivulare Potapova &	ADRI	b	2,62			Czarnecki					
	Ponader						<i>Brachysira vitrea (</i> Grun.) Ross in	BVIT	b	0,64		
	<i>Amphora pediculus</i> (Kütz.) Grunow	APED	b	1,87			Hartley					
	Cavinula cocconeiformis (Greg. ex	CCOC	b	1,99			<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.)	EEXI	b	6,81		
	Grev.) Mann & Stickle						Rabenhorst		_			
	Cyclotella ocellata Pantocsek	COCE	b	5,73			Nitzschia hantzschiana Rabenhorst	NHAN	b	0,43		
	Eunotia implicata Nörpel-Schempp	EIMP	b	1,37			Pinnularia acidophila Hoffman &	PACI	b	23,19		
	Alles & Lange-Bertalot						Krammer	<b></b>				
	Fistulifera saprophila (LangBert.)	FSAP	b	3,86			Pinnularia aljustrelica Luis, Almeida et	PALJ	b	1,06		
	Lange-Bertalot	<b>.</b>		<b>• - /</b>			Ector					
	Punctastriata lancettula (Sch.)	PULA	b	2,74			Pinnularia subcapitata Gregory var.	PSEL	b	67,45		
	Hamilton & Siver			4.00			elongata Krammer			0 70	(0)	
	Karayevia clevei (Grun.) Bukhtiyarova	KCLE	b	4,98		M69	Halamphora holsatica (Hust.) Levkov	HHOL	b	2,70	(2)	
	Luticola nivalis (Ehr.) Mann	LNIV	b	1,62			Bacıllarıa paxillitera (Müll.) Hendey	BPAX	b	2,70		

Tabla A2 Especies de diatomeas de la FPI (pH= 1 – 5) (N=69) (Cont.)											
М	Diatomea	Cod.	Sust.	Pi (%)	Ref.						
M69	<i>Cymatopleura elliptica (</i> Breb.) Smith <i>var. elliptica</i>	CELL	b	1,35	(2)						
	<i>Encyonema ventricosum</i> (Ag.) Grunow	ENVE	b	1,35							
	<i>Eunotia exigua</i> (Brébi. ex Kütz.) Rabenhorst	EEXI	b	4,05							
	Fragilaria capucina Desmazières	FCAP	b	1,35							
	Navicula cryptocephala Kützing	NCRY	b	4,05							
	Navicula veneta Kützing	NVEN	b	35,14							
	Nitzschia acicularis (Kütz.) Smith	NACI	b	5,41							
	Nitzschia fonticola Grunow	NFON	b	14,86							
	Nitzschia frustulum (Kütz.) Grunow	NIFR	b	5,41							
	<i>Nitzschia linearis</i> (Ag.) Smith <i>var.</i> <i>linearis</i>	NLIN	b	2,70							
	<i>Nitzschia valdestriata</i> Aleem & Hustedt	NIVA	b	2,70							
	Pinnularia subcapitata Gregory var. elongata Krammer	PSEL	b	5,41							
	Stauroneis kriegeri Patrick	STKR	b	2,70							
	Tryblionella apiculata Gregory	TAPI	b	6,76							
	Tryblionella levidensis Smith	TLEV	b	1,35							

Código OMNIDIA (Cod.); Sustrato (Sust.): a- bénticas epifíticas, b- bénticas epipsámmicas; c- bénticas epilíticas; Abundancia relativa (Pi).

#### MX\*: datos promedio.

Referencia (Ref): (1) Gerhardt et al., 2008; (2) Leiva-Sánchez, 2019; (3) Luís et al., 2008; (4) Luís et al., 2012; (5) Luís et al, 2016; (6) Luís et al., 2018; (7) Luís et al., 2019; (8) Luís, Alexander et al., 2013; (9) Luís et al., 2011; (10) Rivera et al., 2019; (11) Rivera et al., 2020; (12) Sabater et al., 2003; (13) Sarmiento et al., 2018; (14) Suárez-López, 2019; (15) Valente et al., 2015.
Tabla A	Tabla A3 Parámetros ambientales (N=69)												
Conj.	рН	EC [µS/Cm]	Eh (mV)	SO4= (mg/l)	Fe (mg/l)	Cd (mg/l)	Co (mg/l)	Cu (mg/l)	Ni (mg/l)	Pb (mg/l)	Zn (mg/l)	Σ Ficklin (mg/l)	Ref.
M1	1,40	8590,00	642,21	7446,00	1701,00	0,41	2,35	105,00	0,14	0,18	94,00	202,09	(14)
M2	1,48	7950,00	643,47	7677,00	1725,00	0,38	2,28	105,00	0,14	0,16	95,00	202,96	(14)
M3	1,50	20500,00			3325,00	0,01		34,90		1,80	82,10		(12)
M4	1,85												(3)
M5	1,90	17140,00		28239,00	6173,47	2,49		347,78	2,98	0,01	1201,54	1554,80	(8)
M6	2,00	17140,00		28239,00	6173,47	2,49		345,85		0,10	1201,54		(6)(7)
M7	2,00	7250,00		6372,00	110,71	0,23	3,88	7,37	1,75	1,00	106,00	120,23	(9)
M8	2,00												(3)
M9	2,08	14410,00		26183,75	5215,00	2,02		239,75		0,38	1012,50		(4)
M10	2,08	11759,00		21443,00	4562,30	2,08		249,01		0,00	830,00		(6)(7)
M11	2,20	11400,00		5383,00	2498,00	3,40		28,90		3,70	129,70		(12)
M12	2,20	12670,00		20169,00	4542,64	1,62		248,16	2,16	0,01	776,03		(8)
M13	2,20	12670,00		20169,00	4543,00	1,62		248,00		0,01	776,00		(4)
M14	2,20												(3)
M15	2,26	8560,00	645,33	7404,00	1704,00	0,38	2,23	105,00	0,13	0,15	95,00	202,89	(14)
M16	2,31												(3)
M17	2,31												(3)
M18	2,40	7800,00		9247,00	2630,00	0,80		43,80		0,70	168,10		(12)
M19	2,40	9230,00		8124,00	265,97	0,31	4,83	9,14	2,22	0,03	134,23	150,76	(9)
M20	2,40	7930,00		6708,00	202,30	0,26	4,07	8,09	1,89	0,06	109,21	123,59	(9)
M21	2,40	1436,00		582,00	20,59	0,02	0,28	1,29	0,11	0,02	9,79	11,50	(9)
M22	2,48	6249,00		3086,00	316,00			9,05	1,22	0,60	20,10		(15)
M23	2,48	15540,00	644,04	30707,00	4244,20	1,73	10,50	232,60	5,60	0,15	722,30	972,88	(2)
M24*	2,53	4111,65		2076,66	132,30	0,35	3,55	10,55	0,78		63,40		(10)(11)
M25	2,59												(3)
M26	2,60	3370,00		2064,00	97,73	0,14		16,57	0,19	0,02	57,38		(8)
M27	2,64	6430,00	657,04	8005,00	66,10	0,44	1,82	57,00	1,00	0,06	150,40	210,71	(2)

Tabla A	Tabla A3 Parámetros ambientales (N=69) (Cont.)													
Conj.	рН	EC [µS/Cm]	Eh (mV)	SO4= (mg/l)	Fe (mg/l)	Cd (mg/l)	Co (mg/l)	Cu (mg/l)	Ni (mg/l)	Pb (mg/l)	Zn (mg/l)	Σ Ficklin (mg/l)	Ref.	
M28	2,64	7710,00	647,62	7662,00	1703,00	0,39	2,27	110,00	0,13	0,19	93,00	205,98	(14)	
M29	2,65	2634,00		1416,00	34,20			6,31	0,45	0,39	9,50		(15)	
M30	2,71												(3)	
M31	2,77	2777,00		1383,00	138,40	0,00		6,91		0,07	138,30		(6)(7)	
M32	2,77	2767,00		2075,00	138,30	0,00		13,83		0,00	69,30		(6)(7)	
M33	2,80	5080,00	767,00	2556,00	274,00	0,05	0,16	7,24	0,26	0,03	15,40	23,14	(13)	
M34	2,80	5150,00		3846,00	1,00	0,08	2,69	2,76	1,16	0,57	65,86	73,12	(9)	
M35	2,89												(3)	
M36	2,90	3130,00		1638,00	184,69	0,08		8,30	0,13	0,02	38,36		(8)	
M37	2,91	5500,00	628,80	4794,00	1358,00	0,03	2,55	111,00	0,59	0,02	5,00	119,19	(14)	
M38	2,92	6360,00	641,04	5117,00	106,20	0,29	3,40	12,90	0,24	0,12	111,00	127,95	(2)	
M39	2,99	4230,00	682,04	3471,00	97,10	0,05	0,19	3,10	0,10	0,20	21,00	24,64	(2)	
M40	3,10	1491,00		744,00	0,25	0,02	0,38	0,54	0,16	0,02	10,97	12,09	(9)	
M41	3,15	5170,00	634,55	4614,00	1292,00	0,03	2,59	106,00	0,56	0,01	5,00	114,18	(14)	
M42	3,18	4960,00	639,80	4689,00	1298,00	0,03	2,56	106,00	0,56	0,01	5,00	114,17	(14)	
M43	3,21	1145,00		426,00	34,80			1,39	0,08	0,30	2,31		(15)	
M44	3,23	1890,00	673,35	1459,00	8,00	0,06	0,41	6,00	0,23	0,17	27,00	33,87	(14)	
M45	3,29												(3)	
M46	3,30	1200,00		1472,40	7,57	0,09	0,93	2,82		0,17	17,19		(1)	
M47	3,30	2420,00		1221,00	9,21	0,03	0,60	2,02	0,26	0,09	23,60	26,61	(9)	
M48	3,31	4450,00	646,00	4599,00	1309,00	0,03	2,53	108,00	0,56	0,02	5,00	116,13	(14)	
M49	3,38												(3)	
M50*	3,40	6553,50		8371,13	1032,00	0,67	1,60	7,19	0,67	0,74	343,91	354,77	(5)	
M51	3,41	893,00		324,00	496,00			2,32	0,13	0,33	3,89	6,67	(15)	
M52	3,42												(3)	
M53*	3,56	801,43		294,49	3,58	0,54	0,17	1,28	0,12		2,09		(10)(11)	
M54	3,60	2150,00		1035,00	10,77	0,03	0,54	0,96	0,23	0,04	16,43	18,22	(9)	

Tabla	Tabla A3 Parámetros ambientales (N=69) (Cont.)													
Conj.	рН	EC [µS/Cm]	Eh (mV)	SO4= (mg/l)	Fe (mg/l)	Cd (mg/l)	Co (mg/l)	Cu (mg/l)	Ni (mg/l)	Pb (mg/l)	Zn (mg/l)	Σ Ficklin (mg/l)	Ref.	
M55	3,96	735,00	513,04	347,00	5,30	0,02	0,21	1,70	0,06	0,01	4,40	6,39	(2)	
M56	3,98	5070,00	628,68	5010,00	1357,00	0,03	2,70	110,00	0,58	0,02	5,00	118,33	(14)	
M57	4,01	1276,00	570,04	878,00	16,70	0,05	0,38	5,80	0,16	0,00	12,60	18,99	(2)	
M58	4,15	3459,00		1383,00	0,01	0,00		6,91		0,07	69,10		(6)(7)	
M59	4,15	2075,00		1384,00	0,01	0,00		0,00		0,00	0,00		(6)(7)	
M60	4,15	4151,00		2762,00	0,01	0,00		0,00		0,14	0,00		(6)(7)	
M61	4,28	1535,00	670,95	1122,00	66,00	0,04	0,37	5,00	0,19	0,47	33,00	39,07	(14)	
M62	4,29												(3)	
M63	4,40	1400,00		3171,60	4,93	0,02	0,29	2,20		0,18	6,46		(1)	
M64	4,43	1065,00	418,04	589,00	0,10	0,03	0,24	3,50	0,11	0,00	7,90	11,79	(2)	
M65	4,44												(3)	
M66	4,50	1800,00		825,00	1,08	0,02	0,35	0,64	0,18	0,01	13,75	14,95	(9)	
M67	4,52	1500,00	635,38	1280,00	8,00	0,07	0,47	7,00	0,23	0,06	17,00	24,83	(14)	
M68	4,70	1882,00	508,04	85,00	0,50	0,05	0,68	5,10	0,36	0,11	6,80	13,10	(2)	
M69	4,90	947,00	807,04	309,00	0,40	0,02	0,25	1,60	0,11	0,04	2,20	4,21	(2)	

M\*: datos promediados.

Referencia (Ref): (1) Gerhardt et al., 2008; (2) Leiva-Sánchez, 2019; (3) Luís et al., 2008; (4) Luís et al., 2012; (5) Luís et al, 2016; (6) Luís et al., 2018; (7) Luís et al., 2019; (8) Luís, Alexander et al., 2013; (9) Luís et al., 2011; (10) Rivera et al., 2019; (11) Rivera et al., 2020; (12) Sabater et al., 2003; (13) Sarmiento et al., 2018; (14) Suárez-López, 2019; (15) Valente et al., 2015.

## 7.3. Anexo III: Diatomeas y parámetros ambientales (N=22)

La siguiente tabla deriva de la Tabla A2 y Tabla A3 y solo incluye los parámetros físico-químicos y biológicos empleados en el análisis estadístico realizado en el apartado 4.3 del presente trabajo.

Tabla A4	Tabla A4 Unidades de análisis – Especies de diatomeas abundantes a pH 1-5 (N=22)																
0		EC	Eh	SO4=	Fe	ΣFicklin	ABUNDANCIA RELATIVA (%)										
Grupos	рн	(µS/cm)	(mV)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	ADMI	BVIT	EEXI	NPAL	NVEN	PACI	PALJ	PSCA	PSEL		
M1	1,4	8590	642,21	7446	1701	202,09	0	0	0	0	0	100	0	0	0		
M2	1,48	7950	643,47	7677	1725	202,96	0	0	0	0	0	100	0	0	0		
M15	2,26	8560	645,33	7404	1704	202,89	0	0	0	0	0	100	0	0	0		
M23	2,48	15540	644,04	30707	4244,2	972,88	0	0	0	0	36,21	31,03	1,72	0	0		
M27	2,64	6430	657,04	8005	66,1	210,71	48,91**	0	0	0	10,92	20,52	0,44	0	0		
M28	2,64	7710	647,62	7662	1703	205,98	0	0	0	0	0	100	0	0	0		
M33*	2,8	5080	767	2556	274	23,14	0	61	22	0	0	7	0	0	0		
M37	2,91	5500	628,8	4794	1358	119,19	0	0	0	0	0	100	0	0	0		
M38	2,92	6360	641,04	5117	106,2	127,95	0	0	11,54	1,03	65,9	0	0	0	3,33		
M39	2,99	4230	682,04	3471	97,1	24,64	0	0	1,99	0	0	90,27	4,42	2,65	0		
M41	3,15	5170	634,55	4614	1292	114,18	0	0	0	5,37	0	47,65	16,11	25,17	0		
M42	3,18	4960	639,8	4689	1298	114,17	3,88	0	0	0	0	44,17	6,31	27,18	0		
M44	3,23	1890	673,35	1459	8	33,87	0	0	0	22,66	0	0	0	31,12	0		
M48	3,31	4450	646	4599	1309	116,13	0	0	0	0	0	100	0	0	0		
M55	3,96	735	513,04	347	5,3	6,39	15,92	9,95	8,46	1,99	1,49	10,95	0,25	0	29,35		
M56	3,98	5070	628,68	5010	1357	118,33	0	0	0	0	0	83,33	16,67	0	0		
M57	4,01	1276	570,04	878	16,7	18,99	9,36	1,48	8,13	0,49	38,18	4,43	0,25	0	4,43		
M61	4,28	1535	670,95	1122	66	39,07	0	0	16,67	10,42	0	0	0	27,89	0		
M64	4,43	1065	418,04	589	0,1	11,79	13,35	14,08	2,43	1,7	1,21	16,99	0,97	0	10,44		
M67	4,52	1500	635,38	1280	8	24,83	0	0	0	9,59	0	0	0	13,2	0		
M68	4,7	1882	508,04	85	0,5	13,1	0,43	0,64	6,81	0	0	23,19	1,06	0	67,45		
M69	4,9	947	807,04	309	0,4	4,21	0	0	4,05	0	35,14	0	0	0	5,41		

\*: Se descarta del cálculo de los índices de diversidad.

\*\*: Valor anormal.

ADMI- A. minutissimum; BVIT- B. vitrea; EEXI- E. exigua; NPAL-N. palea var. palea; NVEN- N. veneta; PACI- P. acidophila; PALJ- P. aljustrelica; PSCA-P. subcapitata; PSEL-P. subcapitata var. elongata.

104

Tabla A5	Tabla A5 Unidades de análisis – Especies de diatomeas abundantes a pH 1-5 (N=21)																
•		EC	Eh	SO4=	Fe	ΣFicklin	°N de Especies										
Grupos	рн	(µS/cm)	(mV)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	ADMI	BVIT	EEXI	NPAL	NVEN	PACI	PALJ	PSCA	PSEL		
M1	1,4	8590	642,21	7446	1701	202,09	0	0	0	0	0	25	0	0	0		
M2	1,48	7950	643,47	7677	1725	202,96	0	0	0	0	0	46	0	0	0		
M15	2,26	8560	645,33	7404	1704	202,89	0	0	0	0	0	37	0	0	0		
M23	2,48	15540	644,04	30707	4244,2	972,88	0	0	0	0	21	18	1	0	0		
M27	2,64	6430	657,04	8005	66,1	210,71	112*	0	0	0	25	47	1	0	0		
M28	2,64	7710	647,62	7662	1703	205,98	0	0	0	0	0	45	0	0	0		
M37	2,91	5500	628,8	4794	1358	119,19	0	0	0	0	0	28	0	0	0		
M38	2,92	6360	641,04	5117	106,2	127,95	0	0	45	4	257	0	0	0	13		
M39	2,99	4230	682,04	3471	97,1	24,64	0	0	9	0	0	408	20	12	0		
M41	3,15	5170	634,55	4614	1292	114,18	0	0	0	16	0	142	48	75	0		
M42	3,18	4960	639,8	4689	1298	114,17	8	0	0	0	0	91	13	56	0		
M44	3,23	1890	673,35	1459	8	33,87	0	0	0	75	0	0	0	103	0		
M48	3,31	4450	646	4599	1309	116,13	0	0	0	0	0	45	0	0	0		
M55	3,96	735	513,04	347	5,3	6,39	64	40	34	8	6	44	1	0	118		
M56	3,98	5070	628,68	5010	1357	118,33	0	0	0	0	0	125	25	0	0		
M57	4,01	1276	570,04	878	16,7	18,99	38	6	33	2	155	18	1	0	18		
M61	4,28	1535	670,95	1122	66	39,07	0	0	59	32	0	0	0	97	0		
M64	4,43	1065	418,04	589	0,1	11,79	55	58	10	7	5	70	4	0	43		
M67	4,52	1500	635,38	1280	8	24,83	0	0	0	77	0	0	0	106	0		
M68	4,7	1882	508,04	85	0,5	13,1	2	3	32	0	0	109	5	0	317		
M69	4,9	947	807,04	309	0,4	4,21	0	0	3	0	26	0	0	0	4		

## 7.4. Anexo IV: Tabla Pruebas NMDS y ANOSIM (N=21)

\*: Valor anormal.

ADMI- A. minutissimum; BVIT- B. vitrea; EEXI- E. exigua; NPAL-N. palea var. palea; NVEN- N. veneta; PACI- P. acidophila; PALJ- P. aljustrelica; PSCA-P. subcapitata; PSEL-P. subcapitata var. elongata.