

Universidad de Huelva

Departamento de Ingeniería Química, Química Física y
Ciencias de los Materiales



Modelos de funcionamiento hidrogeoquímico de embalses afectados por AMD en base a indicadores biológicos. Interés y relevancia de las diatomeas en el caso de la Faja Pirítica Ibérica

Memoria para optar al grado de doctora
presentada por:

María José González Rivera

Fecha de lectura: 27 de enero de 2022

Bajo la dirección de los doctores:

José Antonio Grande Gil

Ana T. Lopes Ferreira Luís

María Santisteban Fernández

Huelva, 2022



**MODELOS DE FUNCIONAMIENTO HIDROGEOQUÍMICO DE
EMBALSES AFECTADOS POR AMD EN BASE A
INDICADORES BIOLÓGICOS. INTERÉS Y RELEVANCIA DE
LAS DIATOMEAS EN EL CASO DE
LA FAJA PIRÍTICA IBÉRICA**



Autora: María José González Rivera

Tesis Doctoral 2021

Programa Doctorado: Ciencia y Tecnología Industrial y Ambiental

Directores: Dr. José Antonio Grande Gil

Dra. Ana T. Lopes Ferreira Luís

Dra. María Santisteban Fernández



Universidad de Huelva

MODELO DE FUNCIONAMIENTO HIDROGEOQUÍMICO
DE EMBALSES AFECTADOS POR AMD EN BASE A
INDICADORES BIOLÓGICOS. INTERÉS Y RELEVANCIA
DE LAS DIATOMEAS EN EL CASO DE LA FAJA PIRÍTICA
IBÉRICA

María José González Rivera

Tesis Doctoral

Ciencia y Tecnología Industrial y Ambiental

Departamento Física Aplicada

Universidad de Huelva

Directores:

Dr. José Antonio Grande Gil

Dra. Ana T. Lopes Ferreira Luís

Dra. María Santisteban Fernández

Huelva, 11 de septiembre de 2021

D. José Antonio Grande Gil, Catedrático de Universidad del Área de Prospección e Investigación Minera de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería de la Universidad de Huelva, Dña. Ana T. Lopes Ferreira Luís, Investigadora Senior del Departamento Geociencias de la Universidad de Aveiro (Portugal) y Dña. María Santisteban Fernández, Profesora Contratada Doctora de la Universidad de Huelva.

HACEN CONSTAR:

Que Dña. MARÍA JOSÉ GONZÁLEZ RIVERA, Licenciada en Ciencias Biológicas por la Universidad de Sevilla y Máster en Tecnología Ambiental por la Universidad de Huelva, ha desarrollado bajo su dirección y dentro del programa de doctorado de Ciencia y Tecnología Industrial y Ambiental, el trabajo de investigación correspondiente a su tesis doctoral titulado:

MODELO DE FUNCIONAMIENTO HIDROGEOQUÍMICO DE EMBALSES AFECTADOS POR AMD EN BASE A INDICADORES BIOLÓGICOS. INTERÉS Y RELEVANCIA DE LAS DIATOMEAS EN EL CASO DE LA FAJA PIRÍTICA IBÉRICA.

Revisado el presente trabajo, estiman que puede ser presentado al tribunal que ha de juzgarlo.

Y para que conste a efectos de lo establecido en el Real Decreto 1393/2007 de 29 de octubre, por el que se establece la ordenación de las enseñanzas universitarias oficiales y por el Reglamento de los estudios de doctorado de la Universidad de Huelva, autorizan la presentación a trámite de este trabajo.

Huelva, 11 de septiembre de 2021.

**GRANDE GIL
JOSE ANTONIO**
- 06952724P

Firmado digitalmente por
GRANDE GIL JOSE
ANTONIO - 06952724P
Fecha: 2021.09.29 09:15:13
+02'00'

Dr. José Antonio Grande Gil
(Director)

**SANTISTEBAN
FERNANDEZ
MARIA -
48953154T**

Firmado digitalmente
por SANTISTEBAN
FERNANDEZ MARIA -
48953154T
Fecha: 2021.09.28
23:39:55 +02'00'

Dra. María Santisteban Fernández
(Directora)

**LOPES
FERREIRA LUIS
ANA TERESA -
Y7113572P**

Assinado de forma
digital por LOPES
FERREIRA LUIS ANA
TERESA - Y7113572P
Dados: 2021.09.28
20:41:51 +01'00'

Dra. Ana T. Lopes Ferreira Luís
(Directora)

**GONZALEZ
RIVERA
MARIA JOSE
- 29491316A**

Firmado digitalmente
por GONZALEZ
RIVERA MARIA JOSE -
29491316A
Fecha: 2021.09.28
23:25:31 +02'00'

María José González Rivera
(Doctoranda)

*A mis padres, Manuel y Carmen,
por enseñarme con su ejemplo a tener paciencia
y trabajar con honestidad y tesón por lo que uno cree
a pesar de las dificultades*

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas que han hecho posible que esta Tesis Doctoral pueda ser una contribución a la ciencia. Sin ellos no hubiera sido posible y a todos debo agradecer tanto este hecho, como sus aportaciones a mi enriquecimiento personal.

Me gustaría mostrar mi más sincero agradecimiento a todas ellas.

Para empezar y de manera muy especial quisiera agradecer a mi director, el Maestro, el motor, el doctor D. José Antonio Grande Gil, la oportunidad que me brindó de formar parte de su gran equipo, de formar parte de su pasión por la investigación y de formar parte de los afortunados que a través de su dedicación y enseñanza hemos crecido no solo como profesionales sino como personas. Gracias José Antonio por mostrarme un mundo para mí tan desconocido y querido por ti. Yo venía de un mundo muy diferente pero tu paciencia ha sido infinita. Ni siquiera nuestros microscopios se parecían lo más mínimo. Gracias por no tirar la toalla. Gracias por todo.

Agradecer a mi tutora Dra. María Luisa de la Torre Sánchez por su disponibilidad y ayuda; y a la Dra. Teresa Maria Fernandes Valente de la Universidad de Minho (Portugal) por abrirme puertas y por su ayuda en los comienzos de este apasionante proyecto.

A mis directoras incansables, la Dra. María Santisteban Fernández y la Dra. Ana T. Luís por la paciencia, dedicación, enseñanza y consejos. Por guiarme y ayudarme a culminar este trabajo. Por “tirar del carro”. Sin ellas, no hubiera sido posible. Los conocimientos en Biología, particularmente en diatomeas de la doctora Luís, ha enriquecido y empujado este trabajo en su etapa final, aportando novedosos conocimientos al estudio. Será motivo de reconocimiento y agradecimiento por mi parte, siempre.

La unión de los conocimientos, pasión y capacidad de trabajo de mis directores es escuela y luz de un estilo de vida dedicado a la ciencia que no puedo ni debo pasar por alto. Es mi deseo que esta Tesis Doctoral, además de su aportación científica, sea un reconocimiento, mi humilde reconocimiento, a mis directores y a los investigadores que, al igual que ellos, ofrecen su vida a la ciencia.

Al Dr. Francisco Córdoba García, del Departamento de Ciencias integradas, por sus conocimientos y aportaciones a esta Tesis, por su disponibilidad y por qué no decirlo, por sus risas.

A las personas que integran el Departamento de Ingeniería Minera, Mecánica y Energética de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería, al Centro de Investigación para la Ingeniería en Minería Sostenible. Gran equipo, grandes personas.

A la profesora del Departamento de Biología y Geobiotecnología de la Universidad de Aveiro, Campus de Santiago (Aveiro, Portugal), la Dra. Salomé F.P. Almeida, muestro una profunda gratitud. Agradezco de manera muy especial la ayuda, la dedicación y disponibilidad, lo que aprendí y lo que viví en mis estancias en Aveiro, la acogida en su equipo y el hecho de que me presentara y me ofreciera a la Dra. Cristina Delgado Núñez para enseñarme. Con ella aprendí a montar muestras y a identificar una diatomea. Una fuente inagotable de conocimiento que no dudó en compartir conmigo para calmar mi sed. Con ella me sentí segura y acogida en un país extranjero, con ella me sumergí en el mundo de las diatomeas. Gracias Cristina, te estaré eternamente agradecida. Gracias Salomé por hablarme despacio para que pudiera entender el apasionante mundo de las diatomeas que tantísimo amas y respetas. Gracias Carmen, una chica pegada a un microscopio.

Al profesor Jesús Lago Macías por su ayuda y dedicación con el programa “Procli”, durante mis trabajos del estudio climático de la Tesis.

A los profesores Luís Domínguez Nevado e Isidro Sánchez Rubio, por la disponibilidad mostrada y por poner a mi disposición el laboratorio del Departamento de Ciencias Agroforestales donde pude desarrollar la larga etapa de identificación de diatomeas.

Ha sido un privilegio contar con el apoyo y la ayuda de tan grandes profesionales y tan grandes personas.

Quiero agradecer también el apoyo de mi familia, todos me han ayudado, cada uno ha estado cuando he tenido que tirar de ellos por uno u otro motivo. Mis padres, mis hermanos, mis sobrinos. Han sido muchas horas que coincidían con los turnos de papá.

Agradezco las sonrisas, las caritas de mis niños, Sebastián y Raquel, asomándose al estudio y aceptando con paciencia mis interminables horas de trabajo. Agradezco sus reconfortantes abrazos.

Y como no, agradezco a Diego, mi compañero de fatigas. Sin su apoyo y su fe en mí no hubiera sido posible. Realmente es el que se ha llevado la peor parte y sin embargo no ha dudado en remar conmigo y animarme a seguir. Gracias. Aquí está ya.

RESUMEN

La construcción de embalses en regiones sometidas a climas áridos es una técnica habitualmente empleada para almacenar aguas para posterior uso urbano, agrícola e industrial. En el escenario que nos ocupa, suroeste de España la precipitación media anual ronda los 650 mm y la ETP los 900 mm, lo que provoca un balance hídrico negativo que justifica la necesidad de construcción, control de calidad de las aguas y mantenimiento de estos embalses.

La calidad de estas aguas depende de las características físico-químicas y biológicas de cada presa, a su vez dependiente de los focos productores de contaminación presentes en cada cuenca vertiente y de variables climáticas que influyen además sobre la biota presente en los ecosistemas hídricos y sobre la propia físico-química de las aguas. En este sentido, la Directiva Marco del Agua, 2000/60/CE define límites y propone el empleo de diatomeas como bioindicadores del estado ecológico de las aguas superficiales por tratarse de los indicadores más eficaces.

En el SW peninsular, donde se centra esta Tesis Doctoral, encontramos más de 80 explotaciones de sulfuros, la mayor parte de ellas abandonadas y sin medidas de prevención ni corrección por tratarse de minas anteriores a la entrada en vigor de las normativas ambientales que actualmente imponen “vertido cero” a las minas de sulfuros. Estas minas abandonadas y clausuradas muchas hace decenas o miles de años, continúan hoy funcionando como focos contaminantes al carecer de medidas de prevención. Este hecho conforma un escenario hídrico singular donde el Drenaje Acido de Mina provocado por la oxidación de sulfuros para dar sulfatos con liberación de hidrogeniones provoca la aparición de aguas con extrema acidez que son capaces de disolver los metales presentes en el entorno.

El resultado final es un lixiviado con valores de pH muy bajo y altísimas concentraciones de sulfatos y metales pesados disueltos en sus aguas que las hacen no aptas para otro uso que no sea el minero.

En base a lo anterior, en este trabajo se aborda el estudio físico-químico y biológico de las aguas presentes en 23 embalses afectados en mayor o menor medida (dentro de la Faja Pirítica Ibérica), con el fin de identificar las diatomeas presentes en sus aguas, las variables que definen sus características físico-

químicas y el clima, modelizando a su vez las interrelaciones entre estos grupos de variables.

Para el logro de los objetivos descritos se ha procedido al muestreo y análisis de aguas de un total de 23 embalses representativos de la red fluvial que atraviesa la Faja Pirítica. Se han identificado en cada punto de muestreo igualmente las especies de diatomeas presentes y se han integrado estos datos, junto con los climáticos, en matrices compatibles con diferentes software.

La aplicación de herramientas estadísticas y de fuzzy logic de última generación ha permitido además la clasificación de los embalses de referencia en función del grado de afección a partir de los bioindicadores, las relaciones de interdependencia entre riqueza, diversidad de especies pH y metales disueltos, el contraste de esquemas y propuestas de otros autores para escenarios de extrema acidez mediante la implementación de tratamiento inicialmente gráfico, posteriormente estadístico y finalmente mediante lógica borrosa con el empleo de la herramienta PreFurGe, el rol fundamental del pH como pre-indicador de tolerancia específica de la biota con indicación precisa de los rangos de existencia/coexistencia de especies de diatomeas.

Además, queremos destacar que este es el primer trabajo descrito en la literatura científica sobre los embalses presentes en toda una provincia metalogenética en un país.

De esta tesis doctoral han sido publicados diferentes trabajos en revistas indexadas. Destacamos los siguientes: Valente *et al.*, 2013; Valente *et al.*, 2014; Valente *et al.*, 2016a,b; Rivera *et al.*, 2019; Rivera *et al.*, 2020.

ABSTRACT

The construction of dams in regions subject to arid climates is a technique commonly used to store water for later urban, agricultural and industrial use. In the study scenario, southwest of Spain, the average annual rainfall is around 600 mm and the ETP around 900 mm, which causes a negative water balance that justifies the need for construction, quality control and maintenance of these reservoirs.

The quality of these waters depends on the physical-chemical and biological characteristics of each dam, in turn dependent on the sources of pollution present in each catchment basin and on climatic variables that also influence the biota present in water ecosystems and on the physical-chemical of the water itself. In this sense, the Water Framework Directive, 2000/60/EC defines limits and proposes the use of diatoms as bioindicators of surface waters ecological status as it's said there, "they are the most effective indicators".

In the SW of the peninsula, where this Doctoral Thesis was realized, there are more than 80 sulfide exploitations, most of them abandoned and without prevention or correction measures because they began exploitation prior to the entry into force of the environmental regulations that currently impose "zero discharge" for the sulphide mines. These mines, abandoned and closed hundreds or thousands of years ago, continue to be polluting sources nowadays, due to lack of preventive measures. This fact forms an unique hydric scenario where the Acid Mine Drainage caused by the oxidation of sulphides into sulphates releases hydrogen ions (H^+) causing the appearance of waters of extreme acidity that are capable of dissolving the metals present in the environment. The end result is a leachate of very low pH and very high concentrations of sulphates and heavy metals dissolved in their waters, that make it unsuitable for any other use than mining.

Based on the above, this work addresses the physical-chemical and biological characteristics of the waters from 23 reservoirs, affected to a greater or lesser extent within the Iberian Pyrite Belt in order to identify the diatoms present in their waters, the variables that define their physical-chemical characteristics and the climate, in turn modeling the interrelationships between these groups of variables.

To achieve the objectives described, the sampling and analysis of water representative of the river network, from a total of 23 dams, crossing the Iberian Pyrite Belt, was done. The diatom species present at each dam were identified and these data was integrated, together with the climatic ones, in compatibles matrices done with different software.

The application of fuzzy logic tools allowed the classification of dams accordingly to the pollution degree based on bioindicators, the interdependence relationships between richness, diversity of species, pH and dissolved metals, the contrast with proposals of other authors for similar scenarios first, through the implementation of graphical treatment, followed by traditional statistic and finally through fuzzy logic with the use of the Pre-Fur-Ge tool, the fundamental role of pH as a pre-indicator of biota specific tolerance with a precise indication of existence/coexistence ranges of diatom species.

In addition, this work highlights the fact that is the first work in the scientific literature, describing the dams of an entire metallogenetic province in an all country.

Different works emerged from this doctoral thesis, published in indexed journals. We highlight the followings: Valente et al., 2013; Valente et al., 2014; Valente et al., 2015; Valente et al., 2016; Rivera et al., 2019; Rivera et al., 2020.

ÍNDICE

ÍNDICE

1.	Introducción.....	27
1.1.	Exposición del problema a abordar.....	29
1.2.	El drenaje ácido de mina. Un problema local, un problema mundial... 33	
1.3.	Marco ecológico del problema a abordar	39
1.3.1.	Papel de las diatomeas como bioindicadores.....	40
1.3.2.	Clasificación y características generales de las diatomeas	42
1.3.2.1.	Nutrición	43
1.3.2.2.	Forma e implicación en su taxonomía.....	43
1.3.2.3.	Reproducción	45
1.3.2.4.	Hábitat.....	45
1.4.	La Directiva Marco del Agua (2000/CE/60). Nueva perspectiva para la calidad de las aguas	45
1.5.	Las diatomeas como indicadores de afección por drenaje ácido de mina 47	
1.5.1.	Índices diatomológicos	48
1.6.	Objetivos	49
2.	Caracterización de la zona de estudio	51
2.1.	Localización geográfica.....	53
2.1.1.	Historia de la minería en la Faja Pirítica Ibérica.....	54
2.2.	Marco geológico.....	57
2.3.	Marco hidrológico	61
2.3.1.	Cuencas del Tinto y del Odiel. Ejemplo de contaminación minera 62	
2.3.2.	Embalses presentes en la zona de estudio	63
2.3.2.1.	Cuenca del Odiel.....	65
2.3.2.2.	Cuenca del Tinto	74
2.3.2.3.	Cuenca del Chanza.....	78
2.3.2.4.	Cuenca del Guadiamar	81
2.4.	Marco climático	82
3.	Revisión de antecedentes	87
3.1.	Antecedentes de la minería en la zona de estudio, la Faja Pirítica Ibérica y los procesos relacionados con el drenaje ácido de mina	89
3.2.	Antecedentes de las diatomeas como bioindicadores	91
3.2.1.	Utilidad de las diatomeas en medios afectados por AMD	91
3.2.2.	Índices diatomológicos para la evaluación de la calidad de las aguas afectadas por AMD	95
4.	Materiales y métodos	99
4.1.	Diseño de la red de muestreo y planificación.....	101
4.2.	Muestreo, tratamiento y análisis de las muestras de agua.....	103
4.2.1.	Muestreo de agua.....	103
4.2.2.	Tratamiento y análisis de las muestras de agua.....	104
4.2.2.1.	Selección de parámetros	104
4.2.2.2.	Tratamiento de las muestras de agua y medidas en campo 104	
4.2.2.3.	Tratamiento y métodos analíticos en laboratorio.....	105

4.3.	Muestreo, tratamiento e identificación de diatomeas	107
4.3.1.	Muestreo de diatomeas	107
4.3.2.	Tratamiento de las muestras de diatomeas	108
4.3.3.	Identificación de las comunidades de diatomeas	109
4.3.4.	Obtención de imágenes de las especies más relevantes	110
4.4	Muestreo, tratamiento y análisis de las muestras sedimento.....	110
4.5	Tratamiento gráfico-estadístico.....	111
4.5.1	Tratamiento gráfico-estadístico clásico	111
4.5.1.1	Resumen estadístico	112
4.5.2	Análisis multivariable.....	112
4.5.2.1	Análisis Cluster	112
4.5.2.2	Análisis dbRDA y SIMPER	113
4.6.	Fuzzy logic	114
4.6.1	Fuzzy clustering.....	114
4.6.2	Metodología PreFurGe	115
5.	Resultados y discusión.....	117
5.1.	Introducción	119
5.2.	Estudio previo de caracterización de los 4 embalses seleccionados... 120	
5.2.1.	Análisis hidroquímico	123
5.2.2.	Análisis de los sedimentos	125
5.2.3.	Análisis de la comunidad de diatomeas	128
5.3.	Distribución espacial de las variables ambientales	134
5.3.1.	Variables ecológicas: comunidades de diatomeas	134
5.3.2.	Variables físico-químicas	148
5.3.3.	Estudio estadístico.....	148
5.3.3.1.	Resumen estadístico.....	151
5.3.4.	Tratamiento gráfico inicial.....	155
5.4.	Caracterización biogeoquímica de parámetros físicoquímicos y biológicos a partir de tratamiento estadístico.	156
5.4.1	Análisis Cluster.....	156
5.4.2.	Análisis dbRDA.....	161
5.4.3.	Preferencias ecológicas de las comunidades de diatomeas: análisis SIMPER.....	163
5.5.	Lógica borrosa	168
5.5.1.	Análisis PreFuRGe.....	168
6.	Conclusiones.....	175
7.	Bibliografía	183

Índice de Tablas

Tabla 2.1 Localización y características de los embalses en estudio	64
Tabla 4.1 Coordenadas de los puntos de muestreo de los diferentes embalses	102
Tabla 5.1 Valores Hidroquímicos (n=15) (Valente et al., 2016)	123
Tabla 5.2 Composición química de los sedimentos en las dos fracciones (<2mm y <2µm) (Valente et al. 2016)	126
Tabla 5.3 Clases de abundancia de los diferentes taxones identificados en las muestras epipsámicas (en la superficie de los sedimentos) de los 4 embalses en estudio (Porcentaje de abundancia de cada taxon: (1) raro, <1.5%; (2) frecuente, 1.5–5%; (3) abundante, >5%.	128
Tabla 5.4 Número de valvas de diatomeas de especies identificadas y contadas en los cuatro embalses seleccionados	130
Tabla 5.5 Listado especies de diatomeas identificadas en marzo de 2012 en los 23 embalses de estudio. *Especie con abundancia > 1% al menos en una muestra	134
Tabla 5.6 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Andévalo Cobica	137
Tabla 5.7 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Andévalo Chorrito	138
Tabla 5.8 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Aguas Ácidas	138
Tabla 5.9 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Grande	138
Tabla 5.10 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Marismillas	139
Tabla 5.11 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Del Pino	139
Tabla 5.12 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Sancho	139
Tabla 5.13 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Cueva de la Mora	140
Tabla 5.14 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Gossan	140
Tabla 5.15 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Agrio	140
Tabla 5.16 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Chanza	141
Tabla 5.17 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Campanario	141
Tabla 5.18 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Garnacha	142
Tabla 5.19 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Lagunazo	143
Tabla 5.20 Especies de diatomeas identificadas en el embalse La Joya	143
Tabla 5.21 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Corumbel	144
Tabla 5.22 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Silillos I	144
Tabla 5.23 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Silillos II	145
Tabla 5.24 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Olivargas	145
Tabla 5.25 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Puerto León	146
Tabla 5.26 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Herrerías	146
Tabla 5.27 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Dique II	147
Tabla 5.28 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Dique I	147
Tabla 5.29 Parámetros físico y biológicos más sulfatos presentes en aguas de los 23 embalses en estudio (Rivera et al., 2020)	149
Tabla 5.30 Concentraciones de metales de las aguas de los 23 embalses en estudio. (Rivera et al., 2020)	150
Tabla 5.31 Resumen estadístico de las 18 variables analizadas en los 23 puntos de muestreo	151

Índice de Figuras

Figura 1.1 Tonalidades en el embalse Marismillas.....	32
Figura 1.2 Ritmo de oxidación de la pirita (Singer y Stumm, 1970).....	37
Figura 1.3 Rapidez de oxidación y su dependencia con la relación Fe ³⁺ /Fe ²⁺ (Espinosa et al., 2010).....	38
Figura 1.4 A. Macroalgas en el embalse Herrerías. B. Macroalgas en el embalse Aguas Ácidas.....	39
Figura 1.5 Detalle de macroalgas verdes filamentosas en el embalse Marismillas	40
Figura 1.6 Especies de diatomeas vistas a microscopio óptico (Leitz Biomed 20 EB, objetivo de inmersión 100X y apertura numérica 1.32)	42
Figura 1.7 Partes constituyentes del frústulo de una diatomea con simetría bilateral (Luís et al., 2017).....	44
Figura 1.8 Pinnularia subcapitata vista a microscopía óptica (Leitz Biomed 20 EB, objetivo de inmersión 100X y apertura numérica 1.32)	44
Figura 2.1 Localización de la Faja Pirítica Ibérica (Modificado de Santisteban, 2015)	54
Figura 2.2 Corte general de la Zona Surportuguesa, a escala cortical. La arquitectura de la corteza está basada en el perfil sísmico IBERSEIS (Simancas et al., 2003)	58
Figura 2.3 Lavas almohadilladas observadas en el río Odiel al norte de El Villar.....	60
Figura 2.4 Columna Estratigráfica General de la FPI (Schermerhorn, 1971).....	61
Figura 2.5 Embalse del embalse El Sancho (SEPREM)	67
Figura 2.6 Embalse del Pino	68
Figura 2.7 Embalse La Joya	69
Figura 2.8 Embalse Garnacha	70
Figura 2.9 Embalse Grande	71
Figura 2.10 Embalse Aguas Ácidas	71
Figura 2.11 Embalse Olivargas (Fernández-Palacios et al., 2014).....	72
Figura 2.12 Embalse Puerto León.....	73
Figura 2.13 Embalse Gossan (Fernández-Palacios et al., 2014)	74
Figura 2.14 Embalse Marismillas (Fernández et al., 2011)	76
Figura 2.15 Embalse Corumbel (Fernández-Palacios et al., 2014)	77
Figura 2.16 Embalse Silillos I.....	77
Figura 2.17 Embalse de Herrerías	78
Figura 2.18 A. Embalse Dique I. B. Embalse Dique II	79
Figura 2.19 Embalse Andévalo (Fernández-Palacios et al., 2014).....	79
Figura 2.20 Embalse Chanza (Fernández-Palacios et al., 2014)	80
Figura 2.21 Embalse Lagunazo	81
Figura 2.22 Climodiagrama de Walter y Lieth (Modificado de Santisteban 2015).....	84
Figura 4.1 Punto de muestreo en el embalse (Santisteban, 2015).....	101
Figura 4.2 Red de muestro	103
Figura 4.3 Equipo multiparamétrico CrisonMM40	105
Figura 4.4 Calibrado del equipo en campo.....	105
Figura 4.5 Fotómetro para análisis de sulfatos.....	106
Figura 4.6 Absorción Atómica Perkin-Elmer AAS (AAnalyst 800)	106
Figura 4.7 Recogida de muestras de diatomeas	108
Figura 4.8 Proceso el montaje de las muestras en Naphrax	109
Figura 4.9 Cámara para microscopio óptico.....	110

Figura 4.10 Ejemplo gráfico de las reglas difusas	115
Figura 5.1 Mineralogía de los sedimentos (fracción de arcilla) (Valente et al., 2016)	126
Figura 5.2 Fotografías de diatomeas obtenidas mediante microscopio óptico. Escala 10µm (Valente et al., 2016 erratum.....)	129
Figura 5.3 Número de especies de diatomeas identificadas en diferentes condiciones geoquímicas: a. diferentes valores de pH, b. diferente valor del \sum concentraciones de metales del sedimento	132
Figura 5.4 Morfología de especies del género Pinnularia con frústula normal: a,b- Pinnularia subcapitata; c,d- Pinnularia aljustrellica	133
Figura 5.5 Diagrama circular representativo de los metales analizados en los diferentes embalses	155
Figura 5.6 Dendograma resultante de la agrupación de las variables fisicoquímicas y biológicas utilizando el método Ward, Método del Cuadrado Euclideo	157
Figura 5.7 Dendograma resultante de la agrupación de los puntos de muestreo utilizando el método Ward Euclideo	159
Figura 5.8 Análisis de redundancia basado en la distancia (dbRDA) para la matriz de semejanza de diatomeas que evidencia la disposición de las muestras y las variables ambientales que explican el 32.7% + 9.4% de la variación total ajustada.	162
Figura 5.9 Fotografías de especies del género Pinnularia obtenidas en estos 2 primeros grupos de embalses y observadas bajo el microscopio óptico (Zeiss Axioplan 2 Imaging). De la izquierda para la derecha: Pinnularia acidophila, Pinnularia c.f. acoricola, Pinnularia.....	164
Figura 5.10 Fotografías de Eunotia exigua obtenidas en estos dos primeros grupo de embalses y observadas bajo el microscopio óptico (Zeiss Axioplan 2 Imaging). Barra de escala 10 µm	164
Figura 5.11 Fotografías de especies del género Navicula obtenidas en este grupo de embalses y observadas bajo el microscopio óptico (Zeiss Axioplan 2 Imaging). Barra de escala 10 µm	165
Figura 5.12 Fotografías de especies del género Nitzschia obtenidas en este grupo de embalses y observadas bajo el microscopio óptico (Zeiss Axioplan 2 Imaging). Barra de escala 10 µm	165
Figura 5.13 Fotografías de diferentes especies de diatomeas que muestran la diversidad de este grupo de embalses, observadas bajo el microscopio óptico (Zeiss Axioplan 2 Imaging). Barra de escala 10 µm	166
Figura 5.14 Tratamiento gráfico que muestra el porcentaje de contribución de cada especie a la similitud observada entre muestras de cada grupo de pH.....	167
Figura 5.15 Reglas borrosas tomando el pH como el consecuente y el resto de las variables como el antecedente	170
Figura 5.16 Reglas borrosas que toman % \sum Pin como el consecuente y el resto de las variables como el antecedente	171
Figura 5.17 Reglas borrosas tomando \sum n° de especies como consecuente y el resto de las variables como antecedente.....	172

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Exposición del problema a abordar

El agua constituye el medio básico de todos los procesos de vida. Aunque se trata de un recurso natural a priori abundante, la creciente demanda de uso, está provocando que su disponibilidad sea cada vez más limitada debido al incremento de población y desarrollo urbano, agrícola e industrial. El agua como recurso, depende no solo de las cantidades disponibles sino también de la calidad de la misma, que frecuentemente se ve afectada por una mala gestión inherente a los procesos asociados fundamentalmente a los sectores primario y secundario. En efecto, son cada vez más frecuentes las descargas de contaminantes en acuíferos y cursos superficiales de agua con el consiguiente deterioro de la calidad de las mismas, provocando de esta manera daños ecológicos en muchas ocasiones irreversibles.

El agua siempre está presente en las labores mineras siendo imprescindible en casi todas las operaciones asociadas a las fases de extracción y posterior tratamiento mineralúrgico lo que provoca la aparición de un nuevo fluido ya contaminado que denominamos “aguas de contacto”. Así, en escenarios mineros las aguas pueden tener diferentes orígenes, volúmenes y diferentes características fisicoquímicas, una vez han entrado en contacto con los materiales resultantes de las fases del proyecto minero referidas en el párrafo anterior.

El impacto que pueden sufrir por esta causa puede variar desde mínimo hasta grave, severo o irreversible, dicho impacto va a depender del tamaño de la explotación, la paragénesis mineral de las menas en beneficio, la naturaleza de la roca encajante, la climatología, la existencia o no de acuíferos y sobre todo de las acciones inherentes a los proyectos minero metalúrgicos y mineralúrgicos asociados a cada escenario. Efectivamente la reducción del tamaño de grano de las especies minerales objeto de beneficio va a comportar una mayor capacidad de interacción agua-aire-roca, esta reducción tiene lugar durante las fases de mineralurgia (tratamiento mecánico de minerales y carbones).

La reducción del tamaño de partículas necesarias para transformación de menas en materiales industriales, comporta indefectiblemente la generación de residuos. Hemos de considerar dos tipos de residuos; sólidos y líquidos. Los residuos sólidos procedentes de un grupo minero son generalmente

almacenados en escombreras, entendiéndose como tal la acumulación no sólo de material no reactivo, sino también de fragmentos de rocas de diferentes granulometrías que son abandonados en las escombreras al contener mineral reactivo y contaminante con bajas leyes de concentración que, no siendo rentable su beneficio sí constituyen un pasivo ambiental como foco contaminante.

En cuanto a los residuos líquidos, estos suelen ser en muchos casos recogidos en “presas de cola”, se trata en este caso de fluidos extraordinariamente contaminados no sólo porque ya han estado en contacto con minerales objeto de beneficio sino porque además han sido receptoras de diferentes productos químicos para el funcionamiento de las técnicas de separación diferencial mena-ganga (xantatos, cianuros, espumantes, colectores...).

De todas las causas de contaminación de los cursos fluviales, quizás el drenaje ácido de mina (acid mine drainage o AMD, en la literatura sajona), sea una de las más graves, por su naturaleza, extensión y dificultad de resolución. Se trata de un problema global que afecta a los cinco continentes sin que hasta ahora se haya encontrado una solución universal. Los ríos afectados por este tipo de contaminación se caracterizan por su acidez, alto contenido en sulfatos y metales de sus aguas, así como, por el contenido metálico de sus sedimentos (Grande *et al.*, 2003a; Azcue, 1999; USEPA, 1994).

El AMD se origina cuando un mineral sulfuroso entra en contacto con el oxígeno y la humedad atmosférica (Grande *et al.*, 2000), en la superficie del mineral comienza entonces un complejo mecanismo que se inicia con la oxidación de los sulfuros que se transforman en sulfatos, liberando hidrogeniones al medio, lo que produce la acidificación de las aguas. La cinética de esta oxidación por oxígeno es muy lenta, pudiendo aumentar su velocidad hasta cien veces por la presencia de ion férrico (Dogan, 1999) y por la actuación de bacterias catalizadoras (Nicholson, 1994). De esta manera, el AMD lo encontraremos a priori, asociado fundamentalmente a la minería de sulfuros y a una escala mucho menor, a minería de carbón.

Junto a la oxidación de los sulfuros, finalmente se producen reacciones secundarias entre los productos de las reacciones anteriores y los restantes minerales presentes en la roca (Förstner y Wittmann, 1983), que se desarrollan con más detalle en el apartado 1.2. El resultado final, es un conjunto de contaminantes solubles depositados sobre el mineral, que posteriormente son disueltos y arrastrados por el agua de lluvia o de escorrentía, produciéndose un caudal líquido contaminante que lleva su acidez, su contenido en sulfatos y metales pesados hasta los cursos de agua (Grande, 2016).

Especialmente por el carácter ácido, el elevado contenido de iones metálicos, la presencia de coloides de hierro, la turbidez del agua y la deficiencia en carbono y fósforo inorgánico, aparecen condiciones de estrés para los organismos que habitan en esas aguas (Gray, 1998). Estas aguas afectadas por AMD suponen, por tanto, un serio riesgo para la salud humana y la biodiversidad.

La influencia de estas condiciones en la disminución de la diversidad biológica está ampliamente documentada, así, los ecosistemas existentes en las aguas contaminadas por AMD presentan una estructura simple, dominado por organismos acidófilos y ácidos-tolerantes (Luís *et al.*, 2012, 2013, 2016, 2018; Tornos *et al.*, 2019; Amils, 2016).

Estos organismos, tanto procariotas como eucariotas, juegan un papel importante, asegurando la producción primaria e interfiriendo en la movilidad de las especies químicas disueltas en el medio acuático (Valente y Gomes, 2007). La contaminación por drenaje ácido de mina es, por tanto, objeto de una creciente atención.

Las descargas relacionadas con la minería constituyen una de las principales causas de contaminación de un elevado número de afluentes fluviales en ríos y arroyos de la Faja Pirítica Ibérica, donde se centra el presente trabajo, que presentan altísimos grados de afección visibles (Figura 1.1)



Figura 1.1 Tonalidades en el embalse Marismillas

La intensa actividad minera llevada a cabo durante más de 4500 años en la Faja Pirítica Ibérica, sumada a la ausencia de legislación o a una legislación poco exigente con la conservación del medio, hacen de este espacio un lugar único en el mundo, siendo los ríos Tinto y Odiel dos de los cauces afectados más citados en la literatura científica (Grande, 2011a).

La creciente preocupación por los impactos ambientales de la actividad minera y el estado de las aguas, es relativamente reciente. En el apartado 1.4. de esta tesis doctoral se detalla el marco normativo minero y ambiental que regula las potenciales interacciones causa-efecto entre la actividad minera y, para nuestro caso de especial interés, el medio hídrico. Cabe no obstante en este punto advertir de que hasta los años 60 del pasado siglo, los ríos Tinto y Odiel fueron catalogados como “ríos vertedero”. Al amparo de esta ausencia de legislación orientada a la preservación del medio hídrico y de una gran demanda de minerales de cobre hasta final de los años 80, nuestro marco de estudio constituye un claro ejemplo de cómo no debe hacerse una minería sostenible, y con ello un evidente deterioro de la red fluvial y de los embalses ubicados en la Faja Pirítica Ibérica.

Gracias a esta sensibilización y a la regulación legislativa fruto, en parte, de esa toma de conciencia y movimiento social, cobra importancia la necesidad de conocer el estado de las aguas y con ello, se desarrolla la Directiva Marco del

Agua (Directiva 2000/60/CE – Directiva Marco del Agua - DMA - publicada el 22-12-2000 en el Boletín Oficial de la Comunidad Europea), donde aparece por primera vez legislado en Europa, el papel de los bioindicadores para conocer el estado ecológico de una masa de agua. Bioindicadores en la flora acuática (macrófitos, fitobentos y fitoplancton), invertebrados bentónicos y fauna piscícola.

1.2. El drenaje ácido de mina. Un problema local, un problema mundial

El drenaje ácido, como se adelantaba en el apartado anterior, es un proceso que tiene lugar cuando un mineral sulfuroso entra en contacto con el oxígeno y la humedad atmosférica, produciendo la oxidación de los sulfuros, un aumento de la acidez de las aguas, así como de su contenido en elementos trazas y sulfatos hasta valores extremos (USEPA, 1994; Lyew y Sheppard, 2001; Grande *et al.*, 2005a).

Este proceso de oxidación puede tener su origen de forma natural en los yacimientos de sulfuros, cuando éstos afloran en superficie, denominándose en este caso drenaje ácido de roca o ARD (iniciales anglosajonas de Acid Rock Drainage). Los minerales se ven expuestos constantemente al oxígeno y al agua por procesos naturales, como la erosión y la actividad tectónica. Bajo condiciones naturales, el suelo que cubre la roca y el agua subterránea minimizan el contacto de los sulfuros con el oxígeno, y aunque los procesos de oxidación tienen lugar, la velocidad de reacción es tan baja, que, en ocasiones, el efecto sobre la calidad general del agua es insignificante o indetectable. Sin embargo, bajo condiciones antropogénicas tales como obras civiles, construcción de vías, y en especial, por la actividad minera, se acelera la velocidad de generación de drenaje ácido, ya que este material sulfuroso pasa a la superficie, quedando en contacto directo con el oxígeno y la humedad atmosférica. En este caso, el proceso es denominado como drenaje ácido de mina o AMD (iniciales en inglés de Acid Mine Drainage) (Santisteban, 2015a).

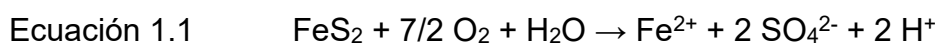
El drenaje ácido de mina (AMD) es uno de los principales problemas hidrológicos y geoquímicos derivado de la intrusión de la humanidad en la Geosfera (Banks *et al.*, 1997; Dol y Fontboté, 2002), que afecta a muchos países con una intensa historia minera (Wang, 2010).

En este sentido el hombre, mediante la actividad minera, incrementa el proceso contaminante esencialmente por medio de tres fenómenos (Sainz *et al.*, 2000):

- Afloramiento de sulfuros, bien sea de minerales piríticos o de los millones de toneladas de rocas extraídas en las explotaciones mineras, tanto a cielo abierto como en minería subterránea, para acceder al mineral. Este material junto a minerales de baja ley, rechazos de las plantas de tratamiento y concentración, se depositan cerca de la explotación, siendo algunos de gran envergadura, en lo que se conoce como escombreras.
- Aumento de la superficie específica de los minerales: por trituración del mineral arrancado, hasta alcanzar un diámetro entre 0 y 6 mm, y en algunos casos hasta reducirlos a granulometrías con un 80% de partículas menores de 20 micras. De esta forma, la superficie de oxidación aumenta miles de veces, incrementándose su capacidad contaminante.
- Aumento de factores oxidantes y extractivos: en el interior de las minas, en las grandes extensiones de las paredes creadas en zonas de alta mineralización, las rocas sulfurosas procedentes del relleno o de los hundimientos, constituyen ambientes de fuerte reactividad, que se ve favorecida por la circulación forzada de aire y agua, provocada por la ventilación y por el drenaje subterráneo.

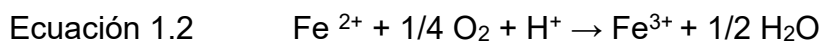
De manera general, el proceso de producción de acidez, se explica mediante el ejemplo de la oxidación de la pirita, que es uno de los sulfuros más abundantes en la naturaleza y que se encuentra en numerosas explotaciones mineras.

El desarrollo de la reacción de oxidación fue propuesto por Singer y Stumm (1970) en cuatro etapas:

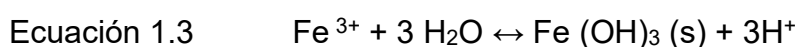


Por tanto, la oxidación de un mol de pirita por oxígeno atmosférico produce un mol de hierro ferroso, dos moles de sulfatos y dos moles de hidrogeniones (Ecuación 1.1.)

La liberación del hierro ferroso, sulfatos y protones, provoca un incremento de la concentración de sólidos disueltos totales y un descenso del pH. Si hay suficiente oxígeno en el medio, el Fe(II) disuelto, puede ser oxidado a Fe(III) consumiendo acidez en este proceso (Ecuación 1.2.).

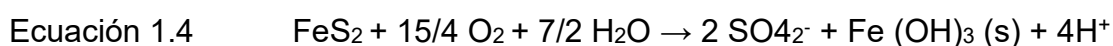


En medios con valores de pH inferiores a 3,5, pueden existir cantidades significativas de ion férrico en solución, pero si el pH aumenta, el ion férrico se hidroliza y precipita como hidróxido férrico (Ecuación 1.3) con lo que el pH desciende aún más, debido a la generación de protones.

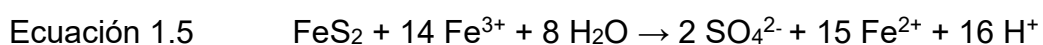


En medios ácidos ricos en sulfatos, en presencia de hierro, se producen reacciones asociadas a la hidrólisis del ion férrico que dan lugar a la formación de sulfatos de hierro hidratado (oxihidroxisulfatos) como la schwertmannita, la jarosita y la goethita.

Si se suman las tres reacciones, se obtiene la reacción global (Ecuación 1.4) de la que resulta que, por cada mol de pirita oxidada se liberan al medio 4 moles de protones. Por cada gramo de pirita se generan aproximadamente tres gramos de ácido sulfúrico. Esto puede dar una idea del nivel de acidificación que puede alcanzar el agua debido a este proceso.



Los sulfuros metálicos que intervienen en la generación de aguas ácidas presentan distintos grados de reactividad. Inicialmente la oxidación de la pirita está basada en la adsorción del O₂ y el H₂O por el Fe(II) de la superficie del mineral. Como resultado se forman en su superficie, oxihidróxidos intermedios dependiendo del pH. En condiciones ácidas, el mayor oxidante de la pirita es el Fe(III) según la ecuación 1.5 (Singer y Stumm, 1970), mientras que, en condiciones cercanas a la neutralidad, lo es el oxígeno.



Por tanto, la formación de oxihidróxidos en la superficie del mineral procedente de la oxidación de pirita por oxígeno, favorece que los sulfuros sigan oxidándose, esta vez por Fe(III).

El Fe(II) procedente de la ecuación 1.5 puede ser re-oxidado por el oxígeno disuelto disponible, perpetuando el ciclo representado. Si el oxígeno se agota, la ecuación 1.5 puede proseguir porque la ecuación 1.3 está en equilibrio, de manera que en la solución puede resultar la especie Fe(II) como la predominante (Younger *et al.*, 2002).

En aguas muy ácidas, la oxidación del hierro ferroso puede verse incrementado por bacterias acidófilas, principalmente *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, que actúan como catalizadores de la oxidación del ion ferroso (Leduc *et al.*, 2002).

La actividad de estas bacterias se desarrolla de forma óptima en ambientes ácidos, mientras que la oxidación química es más rápida en ambientes neutros y alcalinos. Una vez desencadenado el proceso, como en las distintas reacciones que lo componen se liberan protones que acidifican progresivamente el ambiente, la oxidación biológica se acelera, mientras que la química se ralentiza (Singer y Stumm, 1970) (Figura 1.2). El pH y la temperatura son dos factores de control de la velocidad de reacción muy relacionados con la actividad bacteriana. En general, el máximo rendimiento de la reacción se produce a temperaturas medias y altas, entre 15 y 35°C (Blowes *et al.*, 2004) y en un rango de pH de entre 2,5 y 3,5 (Sarmiento, 2007).

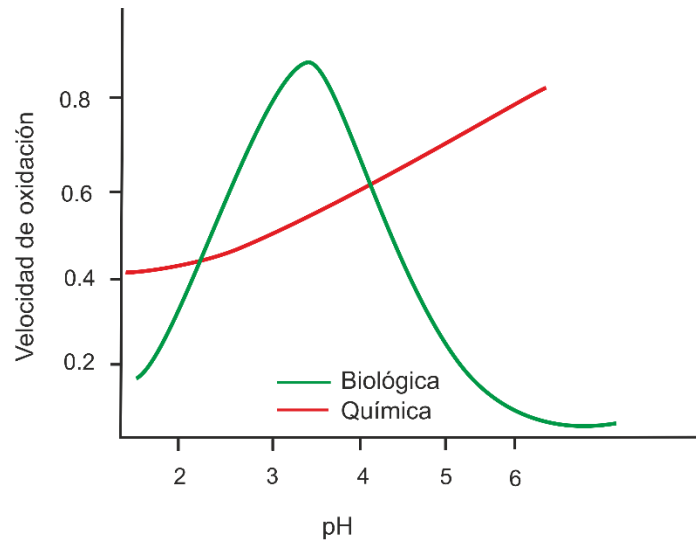


Figura 1.2 Ritmo de oxidación de la pirita (Singer y Stumm, 1970)

Según Espinosa *et al.* (2010), existen además otros factores que afectan a la rapidez de oxidación de la pirita y por tanto al control de la generación ácida (Figura 1.3):

a) Área superficial de exposición. Ésta es una de las variables más importantes que controlan la rapidez de la oxidación. Al disminuir el tamaño de partícula se incrementa la velocidad de reacción. Hay una relación lineal entre el tamaño de partícula y la velocidad de reacción.

b) pH y concentración de oxígeno. La concentración de oxígeno afecta a la oxidación de la pirita. La siguiente relación empírica muestra la velocidad de oxidación de la pirita en la que se relacionan el pH y la concentración de oxígeno (Ecuación 1.6):

$$\text{Ecuación 1.6} \quad \text{Velocidad} = 10^{-8.19} [\text{O}_2]^{0.5} / [\text{H}^+]^{0.11}$$

Donde $[\text{O}_2]$ y $[\text{H}^+]$ son las concentraciones de oxígeno e hidrógeno en solución.

c) Concentración de ion férrico. La velocidad de oxidación de la pirita por Fe^{3+} depende de la presencia de oxígeno en la solución. Con una alta relación de $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ y en presencia de oxígeno, la velocidad de oxidación se incrementa. El ion férrico es más efectivo en la oxidación de la pirita que el oxígeno, según indica la Figura 1.3.

Esto puede ser debido a que el ion férrico puede unirse directamente a la superficie de la pirita realizándose más fácilmente la transferencia de electrones. Además, las especies intermedias oxidantes del azufre como el ion sulfoxilo ($S_2O_3^{2-}$) es más fácilmente oxidado por el ion férrico que por el oxígeno.

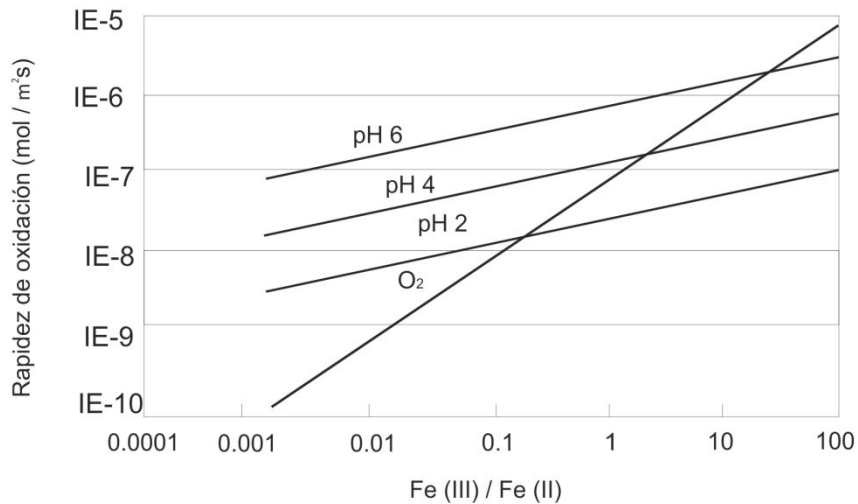


Figura 1.3 Rapidez de oxidación y su dependencia con la relación Fe^{3+}/Fe^{2+} (Espinosa et al., 2010)

d) Temperatura y energía de activación química requerida para iniciar la generación ácida. Es importante recordar que la oxidación de la pirita produce una fuerte reacción exotérmica, por lo que esta velocidad de reacción está vinculada con la ecuación de Arrhenius (Ecuación 1.7):

Ecuación 1.7 $k(T) = A e^{-E_a/RT}$

donde:

$k(T)$: Constante cinética (dependiente de la temperatura).

A: Factor pre-exponencial o factor de frecuencia. Indica la frecuencia de las colisiones.

E_a : Energía de activación, expresada en J/mol.

R: Constante universal de los gases. Su valor es $8,3143 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{Mol}^{-1}$.

T: Temperatura absoluta [°K].

1.3. Marco ecológico del problema a abordar

Los ecosistemas están constituidos por un componente abiótico y un componente biótico, comunidad de seres vivos que se adaptan a las características ambientales y que pueden modificar sus adaptaciones según los cambios del entorno ambiental.

Cabe señalar en estos medios afectados por AMD, la presencia de algas como la biota más adaptada a este entorno. Aunque hay problemas inherentes a la heterogeneidad espacial y temporal de las macroalgas en comparación con la comunidad de microalgas (diatomeas), los géneros *Klebsormidium* y *Euglena* (Figura 1.4) que suelen ser individualmente clasificados como microalgas, pueden ser utilizados como indicadores efectivos en los análisis del impacto provocado por los procesos AMD en el medio hídrico, una vez que son visibles en el lecho de los ríos, ya que se agrupan en filamentos (Hargreaves *et al.*, 1975; Whitton, 1984) dando un aspecto macroscópico.



Figura 1.4 A. Macroalgas en el embalse Herrerías. B. Macroalgas en el embalse Aguas Ácidas

Las referencias a los procesos de participación de las algas acidófilas (Luís *et al.*, 2009, 2012, 2016, 2018) en los procesos de AMD son más escasas que en la de otros aspectos como por ejemplo la biomineralización (Mann *et al.*, 1987; Brake *et al.*, 2001, 2002), o la contaminación metálica sin estar asociada a pH ácidos (Cattaneo *et al.*, 2004; Denicola, 2000; Sabater *et al.*, 2003; Takamura *et al.*, 1998).

Las aguas afectadas por AMD, constituyen un ecosistema muy peculiar que independientemente de la hidrología, vegetación de ribera, nivel de ramoneo, etc, o de la zona, se caracterizan por una flora particular: crecimientos elevados de macroalgas verdes, por ejemplo, las clorofíceas filamentosas de los géneros *Klebsormidium*, *Microspora* o *Mougeotia*, algunas especies solitarias del género *Euglena* (Division Euglenozoa) que se pueden o no agrupar en filamentos (figura 1.5) y diatomeas (Division Bacillariophyta) (Martín *et al.*, 2004; Valente y Gomes, 2007; Bray *et al.*, 2008; Brake *et al.*, 2014, Luís *et al.*, 2009, 2011, 2018, 2019). La abundancia relativa de estos taxones, así como la de otros, podrá variar en función de los metales dominantes, el pH y la severidad de los procesos AMD, pero, en general, la flora se moverá dentro de un ambiente peculiar compuesto por estas y pocas especies más (Delgado, 2011; Luís *et al.*, 2009, 2016).



Figura 1.5 Detalle de macroalgas verdes filamentosas en el embalse Marismillas

1.3.1. Papel de las diatomeas como bioindicadores

Las diatomeas (figura 1.6) abundan en prácticamente todos los hábitats donde se encuentre presente el agua, como los océanos, los lagos, las plantas, los musgos e incluso en la corteza de los árboles. Poseen aproximadamente unas 200.000 especies (<http://www.algaebase.org>) y tienen una amplia distribución mundial, constituyendo el grupo más importante del fitoplancton.

Las diatomeas, que pueden ser consideradas microalgas bentónicas (viven sobre sustratos) o planctónicas (en el plancton), reúnen una serie de características fisiológicas y ecológicas en las que se profundiza más adelante y, que las convierten en organismos idóneos para su empleo como indicadores ecológicos. En este estudio, se abordarán apenas las diatomeas bentónicas. Las características que hacen de este grupo excelente bioindicador, son:

- Son cosmopolitas. Se trata de un grupo de organismos muy diversificado que se distribuyen por casi la totalidad de los ecosistemas acuáticos.
- Poseen ciclos de vida cortos que les permiten colonizar sustratos con facilidad.
- Reaccionan con rapidez y sensibilidad a los cambios en la química del agua (Margalef, 1955. Lange-Bertalot, 1979; Sabater et al., 1988; Stevenson y Pan, 1999).
- Son fáciles de recoger, de manipular y de conservar debido a la presencia del frústulo que es muy resistente.
- Las características morfológicas del frústulo constituyen la base para la identificación de las diferentes especies.
- Las técnicas de recuento son rápidas y se obtienen resultados comparables y reproducibles a largo plazo.

Estas características hacen que las diatomeas puedan ofrecer información sobre las propiedades hidroquímicas y sobre la calidad de los sedimentos en los sistemas afectados por AMD (Delgado, 2011; Luís *et al.*, 2009, 2016, 2019).

En concreto el análisis de la estructura y funcionamiento de estos organismos resulta de sumo interés para interpretar tanto el balance energético fluvial como aspectos relacionados con la calidad del agua (Capítulo y Gómez, 2003).

Está ampliamente descrito en la literatura científica que las especies de diatomeas están muy vinculadas a las características químicas de la masa de agua donde habitan y que, además, en muchas ocasiones crecen en rangos

determinados de pH y salinidad, teniendo tolerancia específica para éstas y otras variables ambientales como la concentración de nutrientes, régimen fluvial y perturbaciones antrópicas como las procedentes de explotaciones mineras.

Las diatomeas son los organismos autótrofos más abundantes dentro de la comunidad de algas bentónicas fluviales y su relevancia como parte importante del biofilm se debe, a que representan un recurso energético fácilmente disponible para los consumidores (Petersen y Boulton, 1999).

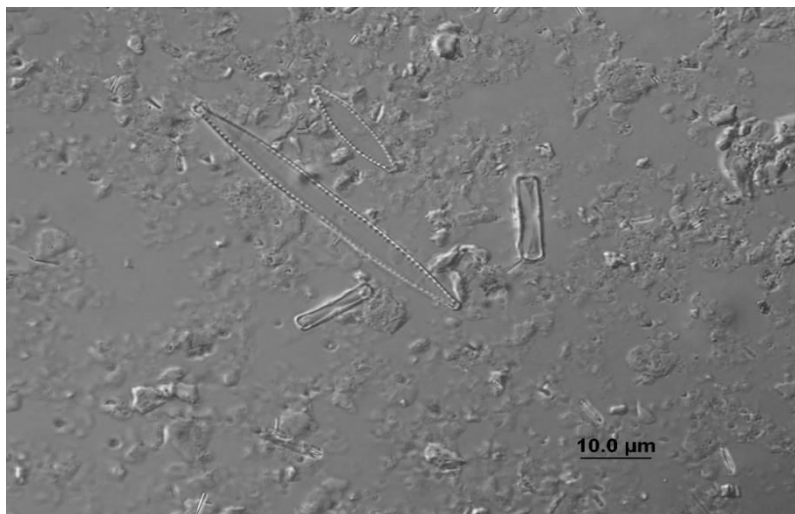


Figura 1.6 Especies de diatomeas vistas a microscopio óptico (Leitz Biomed 20 EB, objetivo de inmersión 100X y apertura numérica 1.32)

1.3.2. Clasificación y características generales de las diatomeas

Las diatomeas son organismos unicelulares eucariotas pertenecientes a la división *Bacillariophyta* (*sensu* Round *et al.*, 1990). Del griego δία (dia) = “a través” + τέμνειν (temnein)= “cortar”, i.e., “cortado a la mitad”, debido a que están formadas por dos valvas. Dominio: Eukaryota. Reino: Chromalveolata. División: Heterokontophyta.

Clase: Bacillariophyceae (Haeckel, 1878). Pertenecen al grupo de las algas pardodoradas; (cuyo nombre científico es *Bacillariophyta* y se relaciona filogenéticamente con el filo *Chrysophyta* y otros del conjunto *Chromista*. Se trata de organismos unicelulares; diploides; sin flagelo durante la fase vegetativa; fotosintéticos; de tamaño variable planctónicos o bentónicos, móviles o fijos a un

sustrato; solitarios o desarrollándose en colonias; el producto de almacenamiento es la fucoxantina.

Los frústulos de las diatomeas se sedimentan por gravedad en los fondos oceánicos, cuando es digerida o muere la célula, dando origen a la roca sedimentaria diatomita.

1.3.2.1. Nutrición

Las Diatomeas son autótrofas. Estos organismos fotosintetizadores tienen cloroplastos, lamelas con tres tilacoides y cuatro membranas alrededor del cloroplasto; poseen un color dorado gracias a sus pigmentos fotosintéticos principales (clorofilas a y c (c1 y c2), fucoxantina) y como pigmentos accesorios: β -caroteno, diatoxantina, y diadinoxantina. Suelen contener gotas de lípidos que, que además de servir de reserva, contribuyen a su flotabilidad.

1.3.2.2. Forma e implicación en su taxonomía

La taxonomía de este grupo se basa en dos aspectos fundamentales: la simetría y las características de su pared celular.

En lo que se refiere a su pared celular, ésta es una estructura rígida constituida por sílice hidratada y proteínas, y se denomina frústulo o teca. La sílice les confiere rigidez y origina patrones de estrías y de trama complicada, que suelen servir como rasgos para su identificación. El frústulo se encuentra formado por dos valvas que se unen como las piezas de una caja de Petri. La valva superior de talla más grande, se llama epivalva y la inferior, más pequeña hipovalva. La región de unión de las dos valvas es la pleura.

Respecto a la simetría que presentan, las diatomeas se dividen en dos grupos:

- Las de simetría radial (orden Biddulphiales o Centrales).
- Las de simetría bilateral (orden Bacillariales o Pennales).

El frústulo presenta en la superficie valvar estructuras como estrías, perforaciones, puntuaciones, espinas y otros rasgos ornamentales diferentes entre géneros y especies que constituyen la base de su clasificación morfológica (figuras 1.7, 1.8) (Round et al., 1990).

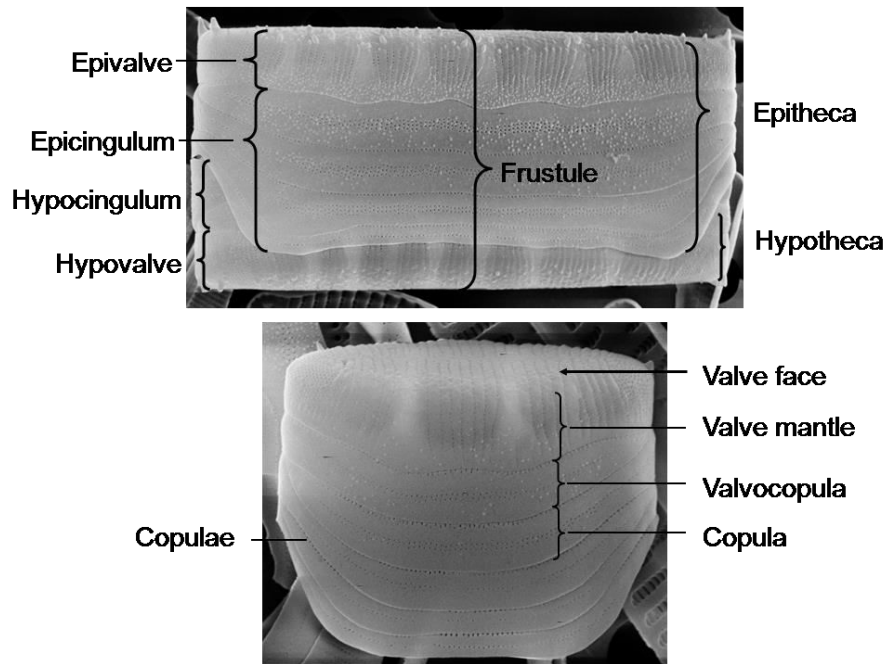


Figura 1.7 Partes constituyentes del frústulo de una diatomea con simetría bilateral (Luís et al., 2017)

También es común la presencia de estructuras accesorias o externas como membranas; setas o espinas que sirven para la unión de las células en cadenas. En algunas especies de diatomeas con simetría bilateral existe una estructura central que recorre toda la célula denominada rafe (fisura a lo largo del eje longitudinal implicado en los movimientos realizados por la diatomea).

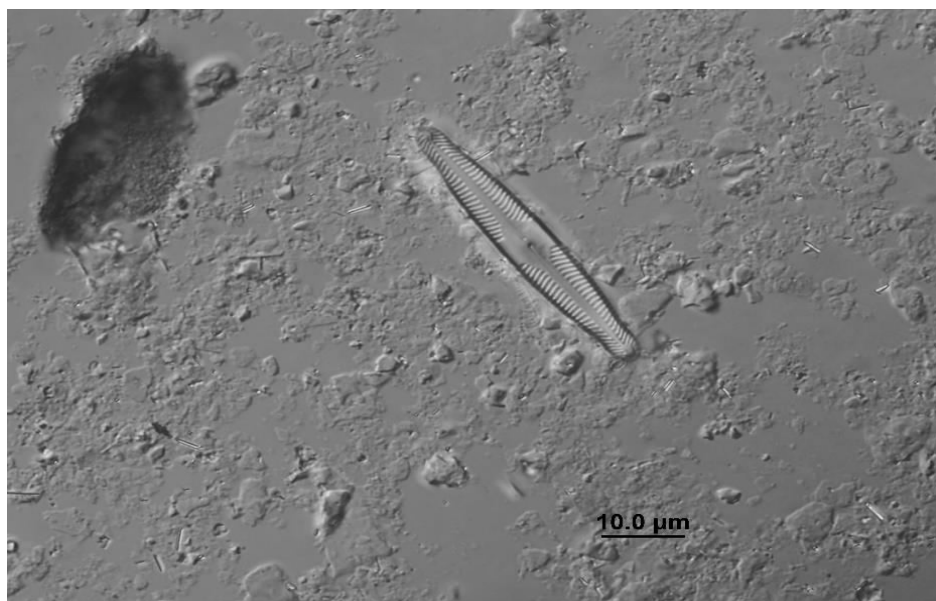


Figura 1.8 *Pinnularia subcapitata* vista a microscopía óptica (Leitz Biomed 20 EB, objetivo de inmersión 100X y apertura numérica 1.32)

1.3.2.3. Reproducción

Su reproducción es asexual por fisión binaria. Al dividirse una de ellas se queda con la epiteca y debe sintetizar la hipoteca que es de menor tamaño. La que se queda con la hipoteca debe fabricar una más diminuta aún, para terminar de conformar el frústulo. Este factor puede llegar a peligrar la existencia del individuo y es, en ese momento que acontece la reproducción sexual, para reestablecer el tamaño normal de la especie mediante auxosporas. La parte heredada funciona siempre como epiteca, y cada célula genera una nueva hipoteca.

1.3.2.4. Hábitat

Estos organismos habitan en lugares extremos, desde hielos polares hasta aguas termales o de mina. Además, se localizan tanto en mares como en ambientes dulciacuícolas.

Sólo las diatomeas con simetría bilateral, o pennales, son capaces de moverse, pero sobre todo lo hacen a través de las superficies donde se adhieren, como por ejemplo los sedimentos (epipsámicas) o plantas (epifitas), y lo hacen gracias al rafe. Las diatomeas céntricas, que tienen una simetría radial, son inmóviles y normalmente plactónicas, aprovechando el movimiento del agua para moverse.

Son unicelulares, pero pueden unirse en colonias o cadenas con forma de tallo o ramificadas. En este caso, las diferentes especies presentan distintas estrategias o formas de unión entre las células.

1.4. La Directiva Marco del Agua (2000/CE/60). Nueva perspectiva para la calidad de las aguas

El aumento de la población, el incremento de las demandas de agua y su mala gestión, han provocado un impacto mayor de las fuentes de contaminaciones puntuales y difusas en las últimas décadas, produciendo la alteración de los sistemas fluviales y, por tanto, alterando la estructura de las comunidades biológicas que los habitan. Es por este motivo, por el que surge la necesidad de tomar medidas para proteger los recursos hídricos y garantizar su uso sostenible, siendo para ello necesaria la planificación de su uso.

Así, en el año 2000, se aprueba la Directiva Marco del Agua 2000/60/CE (European Union, 2000). Esta Directiva establece un marco de acción comunitaria respecto a la política del agua, donde por primera vez, se usan los indicadores biológicos para evaluar la calidad de éstas. Siendo su objetivo principal, alcanzar un “buen estado” ecológico y químico de todas las aguas comunitarias para 2015. La Directiva Marco del Agua (DMA), establece un marco para la protección de todas las aguas europeas superficiales (ríos, lagos, aguas costeras y de transición), que, entre otros, debe prevenir las aguas de todo deterioro adicional y promover su uso sostenible, proteger y mejorar el estado de los ecosistemas acuáticos reduciendo la progresiva contaminación y evitando nuevas contaminaciones, y contribuir a paliar los efectos de inundaciones y sequías.

La DMA incorpora objetivos medioambientales y criterios ecológicos que hasta este momento no existían para la determinación del estado de las aguas. De este modo se introduce el concepto de Estado Ecológico, que integra la ecología y la química del agua, obligando de esta manera a todos los Estados Miembros a desarrollar métodos para evaluar el estado ecológico de sus aguas.

Una masa de agua estará en buen estado si su estado ecológico y químico es bueno (European Union, 2000), estableciéndose las desviaciones en la calidad ecológica como las diferencias entre las condiciones de referencia observadas frente a las esperadas (Nijboer *et al.*, 2004). Los Estados Miembros están obligados a determinar la situación y los límites aceptables de las masas de agua superficiales, así como sus características en base a la tipología de la categoría del agua correspondiente; establecer las condiciones de referencia para los distintos tipos de ríos; así como identificar las presiones a las que están sometidos y evaluar el impacto generado en estas masas de agua (European Union, 2000).

La DMA contempla el perifiton para el monitoreo de los ríos, y la detección y seguimiento de presiones debidas por ejemplo a la eutrofización, los incrementos de materia orgánica, la acidificación y la salinidad. Las algas del perifiton, debido a su rápido crecimiento y ubicuidad, son las principales responsables de la producción primaria en ríos pocos profundos.

En esta línea, dicha Directiva Marco, propone el uso de las diatomeas como componente del fitobento, y por lo tanto como indicador del estado ecológico de las aguas superficiales, además de otros elementos biológicos (macrófitos, invertebrados bentónicos y peces).

1.5. Las diatomeas como indicadores de afección por drenaje ácido de mina

Las comunidades de diatomeas del bentos (comunidad que vive sobre la superficie de sustratos (rocas, plantas o sedimentos) sumergidos en el agua) (Aloi, 1990; Wetzel 1993) son buenas indicadores de la calidad del medio, porque al vivir adheridas a un sustrato van integrando las alteraciones ambientales a la que están sujetas, respondiendo a esas alteraciones con cambios en la estructura y la composición taxonómica de la propia comunidad. En cursos de agua temporales son las comunidades más dominantes, porque no hay volumen de agua suficiente para el desarrollo de las comunidades planctónicas.

Las aguas contaminadas por AMD son ambientes muy específicos que soportan comunidades biológicas donde la diversidad y los nutrientes son bajos. Los ambientes acuáticos ácidos ($\text{pH} < 6$) sufren fluctuaciones rápidas de pH, a menudo impulsadas por la concentración de sulfato. Tienen alta conductividad y baja alcalinidad. El proceso de acidificación promueve la disolución e ionización de metales que son tóxicos para la mayoría de los organismos acuáticos (Mulholland *et al.*, 1986; Planas, 1996; Verb y Vis, 2000). Por lo tanto, en estos ecosistemas únicos, la riqueza específica es generalmente baja y las comunidades están restringidas a organismos que pueden tolerar estas condiciones. En consecuencia, hay cambios en el ciclo y la disponibilidad de nutrientes, junto con otros cambios abióticos que tienen un fuerte impacto en las relaciones bióticas, incluida la extinción o la sucesión de especies (Kwandrans, 2007).

Así, las diatomeas son utilizadas para evaluar diferentes situaciones de impacto por la acidificación (Bao *et al.*, 2007; Zalack *et al.*, 2010, Luís *et al.*, 2009, 2018) y por la contaminación metálica (Cattaneo *et al.*, 2004; Denicola, 2000; Sabater *et al.*, 2003; Van Dam *et al.*, 1981; Takamura *et al.*, 1998, Luís *et al.* 2014, 2016, 2018, 2019).

La existencia de especies que pueden sobrevivir en un amplio o pequeño rango de condiciones ambientales, que resisten o no a diferentes tipos de contaminantes o la presencia de especies en aguas que han sufrido procesos de contaminación por AMD, como el ocurrido en Aznalcóllar en 1998, y que sobreviven en este medio frente a otras especies que han desaparecido ante semejantes condiciones, ofrecen mucha información acerca del estado ecológico de una masa de agua.

1.5.1. Índices diatomológicos

Las diatomeas son usadas a nivel mundial como indicadoras de la calidad del agua, pero para ello, hay que convertir la respuesta de la comunidad de diatomeas en gradientes de presión sobre el ecosistema (Kelly *et al.*, 2008), gradientes definidos por diferentes variables con un determinado valor medible, variables como los índices saprobios, índices tróficos, índices de diversidad, etc, o métricos de diatomeas, simplificando de esta manera la complicada ecología de los sistemas fluviales (Delgado, 2011).

Así, índices como: IPS, Specific Polluosensitivity Index (CEMAGREF, 1982); IBD, Biological Diatom Index (Prygiel y Coste, 2000); CEE [(CEC) Commission for Economical Community Index] (Descy y Coste, 1991); TDI, Trophic Diatom Index (Kelly, 1998), EPI-D, Diatom-based Eutrophication/Pollution Index (Dell'Uomo *et al.*, 1999), y el último el IBD (Biological Diatom Index) propuesto por (Prygiel y Coste, 2000). Es el más reciente y ha sido creado con propósito de ser usado como rutina por técnicos no expertos en taxonomía por lo que cuenta solamente con 209 taxa en su base de datos. El IPS es aquel que incorpora el mayor número de taxa en su base de datos, y se encuentra en constante actualización a través de la inclusión de información autoecológica, siempre que ésta va apareciendo, y es normalmente considerado como el índice de referencia (Almeida y Gil, 1998).

En Europa se utilizan con éxito algunos de estos índices diatomológicos para evaluar la calidad del agua (Montesanto *et al.*, 1999; Sabater, 2000; Prygiel, 2002; Eloranta y Soininen, 2002; Ács *et al.*, 2005; Cappelletti *et al.*, 2005; Torrisi y Dell'Uomo, 2006, entre otros) al igual que en otras partes del mundo (Wu, 1999;

Gómez, 1999; Gómez y Licursi, 2001; Wu y Kow, 2002; Jüttner *et al.*, 2003; Wong *et al.*, 2006; Atazadeh *et al.*, 2007).

A pesar de la utilidad de estos índices, normalmente no pueden ser aplicados con carácter global sin adaptaciones (Prygiel *et al.*, 1999). Por esta razón algunos países han desarrollado o están desarrollando índices adaptados a las características de sus regiones geográficas (Taylor, 2007), incluso a nivel europeo (Kupe *et al.*, 2007).

Más recientemente se han ido desarrollando algunos índices de diatomeas en España: en 2010 se desarrolló un índice de diatomeas para los ríos gallegos, el MDIAT (Delgado *et al.*, 2010). En Delgado (2012), otro específico para aguas temporales de las Islas Baleares, el DIATMIB, incorporado muy recientemente a la legislación (R.D. 817/2015, del 11 de septiembre) para ser aplicado sólo en los arroyos baleáricos para los que fue diseñado (Delgado *et al.*, 2012). Posteriormente, en 2013, se publicó el índice DDI para la cuenca del Duero (Álvarez-Blanco *et al.*, 2013). Actualmente, la legislación española obliga a que las diferentes cuencas españolas sean monitorizadas para determinar si alcanzan los requerimientos de la DMA.

A pesar de que hay muchos estudios sobre la toxicidad de metales y acidez en diatomeas (Sabater, 2000; Hirst *et al.*, 2002; Sabater *et al.*, 2003; Nakanishi *et al.*, 2004; Falkenhayn, 2007; Kim *et al.*, 2008; Guasch *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2013; Luís *et al.*, 2013; Masmoudi *et al.*, 2013, etc), el desarrollo de índices diatomológicos específicos para la contaminación por metales en zonas afectadas por AMD son muy recientes (Fernández *et al.*, 2018), necesitando un desarrollo considerable. Las diatomeas responden bien a los cambios en los niveles tróficos y saprobios del agua, así como a los cambios en el pH, pero no puede diferenciar aguas con distintas concentraciones de metales: la peor calidad de agua dada por los índices no siempre es donde se registraron las concentraciones más altas de metales (Luís *et al.*, 2009).

1.6. Objetivos

El objetivo central de esta tesis doctoral se concreta en la definición del grado de afección por procesos AMD en 23 embalses localizados FPI (Suroeste de España), así como en la propuesta de modelos de funcionamiento

biogeoquímico a partir de las relaciones causa-efecto entre la biota y las variables hidrogeoquímicas en estudio, mediante el empleo de indicadores biológicos (diatomeas).

Para el logro de este objetivo central, se contemplan los siguientes objetivos específicos:

- Identificación y cuantificación de las especies de diatomeas presentes en los embalses en estudio.
- Establecimiento de relaciones de interdependencia entre los valores relativos a abundancia y diversidad de comunidades de diatomeas con los parámetros físico-químicos relativos a las aguas en estudio.
- Propuesta de modelos de respuesta de la biota, a los estímulos provocados por las variaciones físico-químicas inducidas por la presencia de explotaciones mineras en las cuencas vertientes.

2. CARACTERIZACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

2.1. Localización geográfica

La Faja Pirítica Ibérica constituye uno de los mayores depósitos mundiales de sulfuros. Esta formación geológica, con una anchura media de 50 km y una longitud de 230 km se extiende desde el noroeste de la provincia de Sevilla, cruza la provincia de Huelva y penetra en Portugal por el Alentejo, hasta el sur de Lisboa (Leistel *et al.*, 1998).

En la provincia de Huelva, y asociado a la Faja Pirítica Ibérica, pueden encontrarse vestigios de una antigua e intensa actividad minera, que ha dejado, en las cuencas de los ríos afectados un legado de 87 minas abandonadas (Grande *et al.*, 2015), de forma que encontramos en el suroeste peninsular un enjambre de antiguas explotaciones cuyos residuos yacen esparcidos por el terreno, en la mayoría de las ocasiones sin medidas preventivas o correctoras, y provocando un fuerte impacto ambiental, tanto en el paisaje como en la atmósfera, en las aguas, sedimentos, flora y fauna. Las surgencias de las aguas interiores que salen por los socavones, los lixiviados de las escombreras, acopios de cenizas, balsas, canaleos y teleras, y las escorrentías de lavados, alcanzan los arroyos y ríos más próximos, provocando su contaminación.

El problema crece en importancia cuando estas aguas contaminadas por AMD llegan a los embalses, reduciendo sus posibilidades de uso. La Sociedad Española de Presas y Embalses (SEPREM) reconoce oficialmente la existencia de unas 30 presas y embalses en la Faja Pirítica Ibérica, de titularidad pública y privada, para uso agrícola, industrial o urbano. Muchos de estos embalses se ubican en cauces afectados por procesos de drenaje ácido de mina, lo que supone la llegada a las presas de agua con bajo pH y elevada carga metálica y de sulfatos (Santisteban, 2015)

La zona en la que se desarrolla este trabajo se localiza en la Faja Pirítica Ibérica, comprendiendo las provincias de Huelva y Sevilla, abarcando diferentes embalses repartidos entre las cuencas hidrográficas del Guadiana, Guadiamar, Tinto y Odiel (Figura 2.1), siendo estos embalses los que presentan diferentes grados de contaminación por AMD.

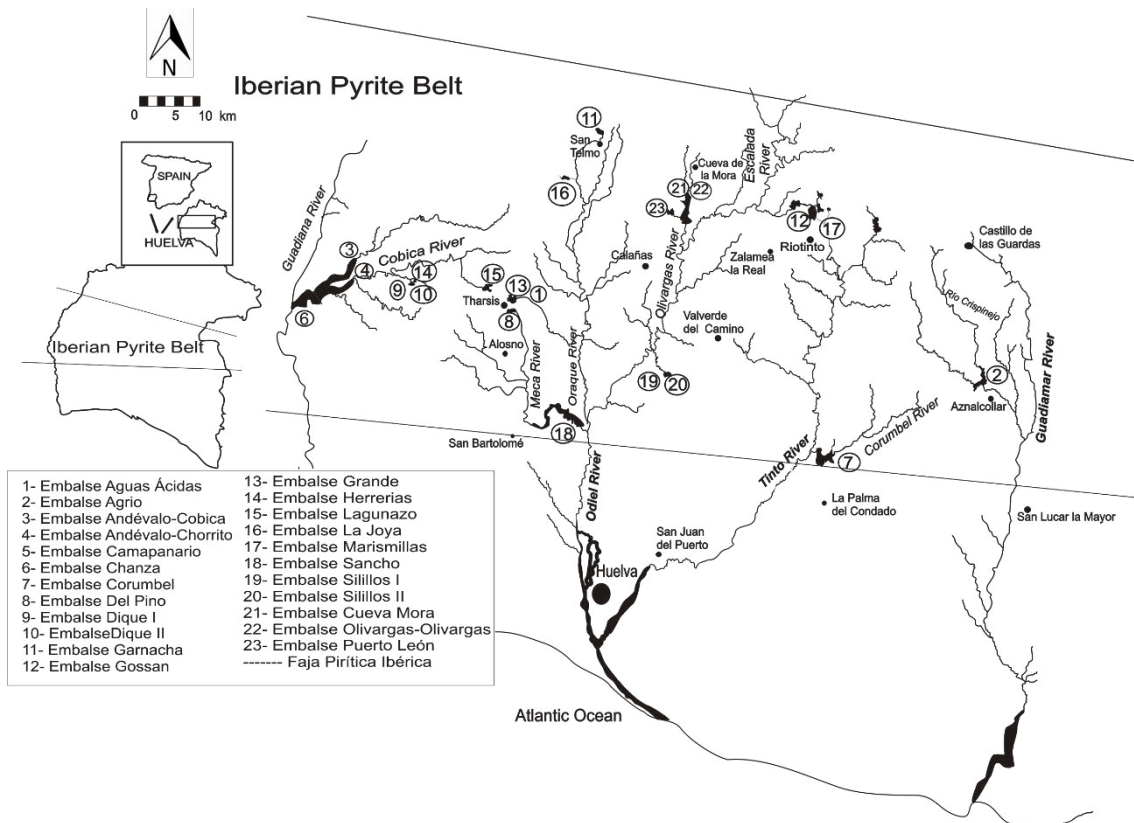


Figura 2.1 Localización de la Faja Pirítica Ibérica (Modificado de Santisteban, 2015)

2.1.1. Historia de la minería en la Faja Pirítica Ibérica.

La Faja Pirítica Ibérica viene siendo explotada por el hombre desde hace más de 4000 años (Leblanc *et al.*, 2000). Tartessos, fenicios, cartagineses y romanos, fueron pueblos que llevaron a cabo labores mineras, aunque el mayor auge de la actividad extractiva tuvo lugar en los siglos XIX y XX con la llegada de capital inglés y francés, principalmente (Caballero, 1983; Carrasco, 2000, Grande, 2016).

Las primeras actividades minero-metálicas se remontan al periodo Calcolítico (3000 a.C.) (Nocete y Linares, 1999), donde ya existía una actividad especializada en la producción de cobre a partir de los minerales carbonatados (azurita y malaquita), óxidos (cuprita y tenorita) e incluso sulfuros (calcosina y covellina) (Sáez *et al.*, 2003; Nocete *et al.*, 2005).

Las actividades mineras y metalúrgicas vivieron en el Bronce Final (1200-900 a.C.) un gran florecimiento con la implantación de un fuerte comercio que fue controlado paulatinamente por los mercaderes fenicios (Blanco y Rothemberg, 1981). Este auge tecnológico y cultural se concretó con la

civilización tartésica, que basó su economía en la producción de metales, alcanzando grandes cotas de desarrollo (Carrasco, 2000).

Dos de las explotaciones históricas mayores de la FPI son Riotinto y Tharsis. Hacia la primera mitad del siglo VI a.C., se observan signos de decadencia en Riotinto, que coincide temporalmente con un auge en las producciones de Tharsis, que se prolongan hasta principios del siglo V a.C. (Carrasco, 2000).

La llegada de los romanos, atraídos por las minas de la península, provocó largos años de luchas que dificultaron la minería en toda la región, la cual no se recuperó hasta el siglo III a.C. Con la llegada de la paz, el Suroeste Ibérico vivió una era de esplendor. La dominación romana comporta un gran desarrollo de la minería y la metalurgia en la FPI, siendo la plata el principal metal a explotar durante los primeros años y la minería del cobre más tardía, datada en el s. I d.C. Este impulso tecnológico hizo posible la explotación de los yacimientos a una escala desconocida hasta entonces (Carrasco, 2000). Casi todas las minas explotadas en la FPI durante los dos últimos siglos mostraban indicios de haber sido trabajadas en tiempos romanos (Pinedo Vara, 1963).

Hasta entonces, el resultado de la intensa explotación tartésica y romana fue más de 20 millones de toneladas de escorias de las que casi un 80% se encontraban en Riotinto, el 20% en Tharsis y el resto repartidas entre otras minas. Se ha estimado que estas escorias proceden de la fundición de unos 30 millones de toneladas de mineral, el 90% de las cuales se extrajeron en la época romana (Caballero, 1988).

A partir del siglo II d.C. la actividad minera cae progresivamente y se mantiene en mínima proporción respecto a la agricultura. Es a partir del siglo XVIII cuando las minas son rehabilitadas y recuperan importancia en el sector socioeconómico.

Durante los s. XIX y XX, la minería de la FPI tiene su época de mayor producción debido a que el cobre deja de ser utilizado para fines únicamente bélicos y a ser empleado para la nueva industria eléctrica por sus excelentes propiedades conductoras.

La llegada en 1873 de The Riotinto Company Ltd., compañía inglesa que se establece como la de mayor importancia en el sector minero-metalúrgico en su época, supuso que el complejo minero Riotinto se transformase en pocos años en uno de los grandes centros industriales del mundo por su producción, envergadura y proyección nacional e internacional (Avilés-Palacios, 2008), estimándose que en los 82 años en los que la empresa inglesa es la propietaria del yacimiento se extrajeron 110 Mt de mineral pirítico (Harvey, 1981 en Avilés-Palacios, 2008). A su vez, la apertura del mercado americano hizo posible que en 1909, el 84% del ácido americano se produjera en Riotinto (Carrasco, 2000).

Las cenizas producto de la tostación de las piritas se vendían para obtener cobre, plomo, zinc y otros metales. El residuo final obtenido, denominado *mineral púrpura*, una vez acondicionado se vendía como mena de hierro. En las dos primeras décadas del siglo XX el hierro contenido en el mineral púrpura era aproximadamente el 3% de la producción mundial y el 22,5% de la española (Carrasco, 2000).

El precio del cobre descendió en 1908 por la apertura de nuevos yacimientos en Chile y EEUU y se incrementó de nuevo en 1916 a causa de la I Guerra Mundial (López-Pamo *et al.*, 2009). Sin embargo, en la década de 1920 bajaron los precios del azufre, debido a la recesión, provocando el cierre de algunas minas.

A lo largo de las tres primeras décadas del siglo fueron introduciéndose los procesos de flotación. Esta técnica mineralúrgica permitió que se explotaran minerales de leyes inferiores a las que habían sido beneficiadas hasta entonces. A principios de los años 30 comenzó la explotación de una nueva mena de cobre donde se instaló el primer concentrador para minerales de este tipo en Riotinto. Asimismo, ciertos minerales piríticos empezaron a considerarse como una posible fuente de otros metales además del cobre (Sarmiento, 2007).

La Guerra Civil Española (1936-1939), seguida de la II Guerra Mundial (1939-1945), redujo la actividad minera. Tras finalizar la guerra, con la reconstrucción europea se aumentó la demanda de materias primas, reactivándose la minería.

En la década de los 50 se produjo la revitalización del mercado internacional de la pirita como consecuencia de la escasez de azufre, hecho que elevó el precio del cobre.

En la década de los 60 se vivió el desarrollo económico español, favorecido por una política aperturista de la dictadura. En Huelva se llevó a cabo, a partir de 1964, la construcción en terrenos aledaños al puerto, del Polo Industrial de Promoción y Desarrollo (Polo Químico), donde se trasladaron la fundición de cobre y la fábrica de ácido sulfúrico de Riotinto en 1970. Esta decisión política significó para la Cuenca Minera el desmantelamiento de su gran complejo industrial y el inicio de su declive.

A partir de finales de los 60, se produce el declive de la minería en la FPI, cerrando numerosas explotaciones como consecuencia de la crisis energética mundial, la entrada en el mercado de nuevos materiales como el aluminio o la cerámica, y el reciclaje, que causaron un receso en la demanda del cobre y la consiguiente depreciación a partir de 1982, que culminaría con la gran crisis de 1986 (Carrasco, 2000), así como por el endurecimiento de la legislación ambiental, obligando, entre otros, a la eliminación del azufre de los productos a las empresas de hidrocarburos.

En la actualidad como respuesta a la demanda de cobre desde los países asiáticos, el cobre ha vuelto a superar el precio de 7000 dólares por tonelada. Este hecho ha provocado un explosivo resurgir de explotaciones nuevas que en estos casos ya si se han desarrollan en el marco normativo ambiental con “vertido cero” a la red fluvial.

2.2. Marco geológico

La Península Ibérica se segmenta en diferentes unidades geológicas (Vera, 2004): Macizo Ibérico; Cordillera Pirenaica; Cordillera Bética; Cordilleras Ibérica y Costero-Catalana y Cuencas Cenozoicas.

Dentro del Mácizo Ibérico podemos distinguir la Zona Cantábrica, la Zona Asturoccidental-Leonesa, la Zona de Galicia Tras-os-Montes, la Zona

Centroibérica, la Zona de Ossa Morena y la Zona Surportuguesa (ZSP) (figura 2.2).

En la Zona Surportuguesa (ZSP) (figura 1.6) se distinguen tres dominios con características litológicas, estructurales, y paleogeográficas diferentes. De norte a sur son (Vera, 2004): Grupo Pulo do Lobo, Faja Pirítica Ibérica (FPI) y Dominio del Suroeste Portugués (SP).

La Faja Pirítica Ibérica constituye una banda de 200 km de largo por 40 km de ancho que se extiende desde Lousal, Alentejo, hasta las inmediaciones de Sevilla (Moreno *et al.*, 2003; Sáez *et al.*, 2005). Así, la FPI ocupa un amplio sector de la provincia de Huelva que se extiende por el este hasta las proximidades de Sevilla en su zona norte y por el oeste hasta el interior de Portugal. Está formada por materiales devónicos y carboníferos que reflejan los cambios acontecidos desde una situación preorogénica hasta la etapa sinorogénica de la evolución varisca (Moreno y González, 2004).

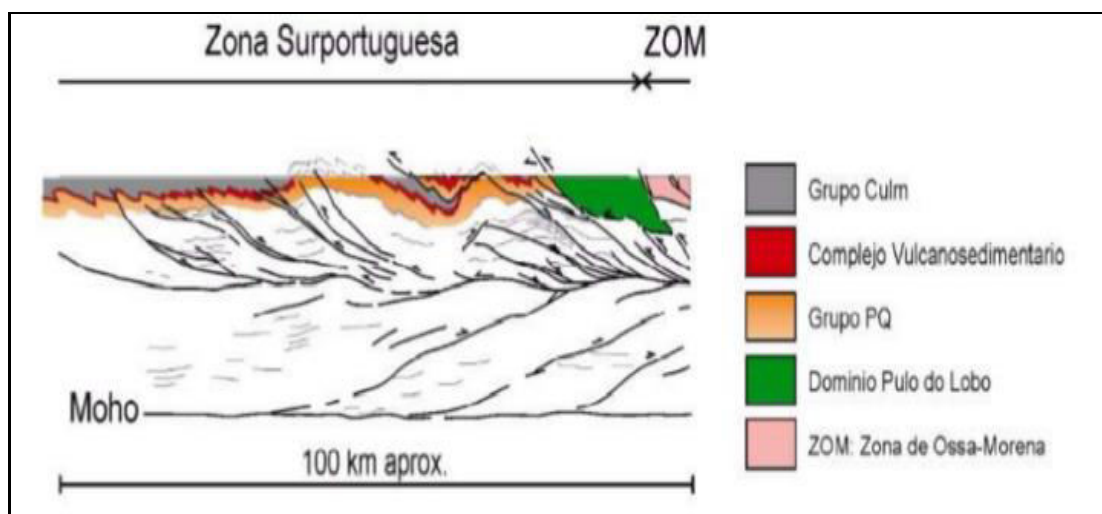


Figura 2.2 Corte general de la Zona Surportuguesa, a escala cortical. La arquitectura de la corteza está basada en el perfil sísmico IBERSEIS (Simancas *et al.*, 2003)

Esta formación geológica, constituye uno de los mayores depósitos mundiales de sulfuros (Leistel *et al.*, 1998) y está considerada como una de las mayores reservas de sulfuros polimetálicos del mundo (Franklin *et al.*, 1981) (figura 2.3).

La FPI está caracterizada por una serie geológica relativamente sencilla (Schermerhorn, 1971) con una secuencia que incluye al menos 1000-5000 m de

rocas del Paleozoico Superior. Schermerhorn (1971), propone una división estratigráfica regional de la FPI en tres unidades principales (figura 2.4), que de muro a techo quedarían representadas por:

- El Grupo Pizarroso Cuarzítico (PQ), al que Strauss (1970) atribuye una potencia superior a los 2000 metros quedando el techo de esta formación datado como Fameniense Superior. Las rocas más antiguas se agrupan en el Grupo PQ de edad Frasnense a Fameniense superior. La potencia mínima es de unos 2000 m y consiste en una monótona secuencia detrítica con una alternancia de pizarra y arenisca con características de haberse depositado en una plataforma epicontinental estable. Cerca de la parte más alta aparece además una sedimentación heterogénea, que da lugar a una serie de facies exóticas, indicadoras de ambientes altamente energéticos (IGME, 1991).
- El Complejo Vulcano-Sedimentario (CVS) que alberga las mineralizaciones de sulfuros y potencias variables. El CVS se compone de una alternancia de rocas volcánicas félsicas y máficas, con una secuencia sedimentaria esencialmente detrítica con areniscas volcánicas. Esta secuencia ha sido datada de edad Fameniense Superior o Viseense Inferior temprano (Oliveira, 1990). El Complejo Vulcano-Sedimentario no muestra una exposición continua y está confinado a varias áreas independientes, ocupando sólo el 25% de la superficie total de la FPI (Tornos, 2008).
 - La presencia de un afloramiento discontinuo, la alteración hidrotermal variable pero localmente intensa, y la deformación tectónica impiden conocer en detalle las relaciones y la distribución de las facies volcánicas. La secuencia global se ha agrupado tradicionalmente en tres ciclos volcánicos félsicos separados por dos máficos.
 - La potencia del CVS es muy variable, entre 0 y 1300 metros e incluye varias diferencias significativas entre los dominios meridional y septentrional. En el modelo de Quesada (1996) el área más meridional se caracteriza por la abundancia de pizarra y de sedimentos siliciclásticos, depositados en un ambiente con

influencia continental. El área septentrional está formada por una potente secuencia volcánica con pocos niveles de pizarra. Ambos dominios estarían separados por un dominio rico en sedimentos vulcanoclásticos e interpretado como un depósito en condiciones subaéreas en un alto topográfico.



Figura 2.3 Lavas almohadilladas observadas en el río Odiel al norte de El Villar

- El grupo Culm, de edad Carbonífero Inferior y frecuentes cambios laterales de facies, está formado por una secuencia alternante de pizarras, litoarenitas y conglomerados con características de turbiditas.
 - Tiene una potencia de hasta 3000 m y su edad es del Viseense Superior al Pensilvaniense Medio-Superior. Representa un flysch sinorogénico de antepaís relacionado con la colisión y la inversión tectónica Varisca (Moreno, 1993).
 - El Grupo Culm comprende tres unidades estratigráficas volumétricamente diferenciadas (Moreno, 1987, 1993; Moreno y González, 2004; Sáez, 2010):
- La Serie Pizarrosa Basal: de edad Viseense superior (Oliveira y Wagner-Gentis, 1983). Secuencia mixta de vulcanoclásticas y pizarras negras con abundantes fósiles de posidonia y goniatites, y concreciones ricas en fosfatos y con potencia variable, alcanzando en algunos puntos valores próximos a 50 m y estando ausente en otros.

- La formación turbidítica de facies Culm: secuencia turbidítica de pizarras, litoarenitas y escasos conglomerados, de varios miles de metros de potencia, que representa el flysch de la Orogenia Varisca en la región. Su edad está comprendida entre el Viseense superior y el Westfaliense (Schermerhorn, 1971).
- La Unidad arenosa de plataforma severa: formada por una alternancia de pizarras y areniscas cuarzosas que se disponen en una secuencia de grano y estratocreciente hacia el techo. Esta unidad presenta escasos afloramientos.

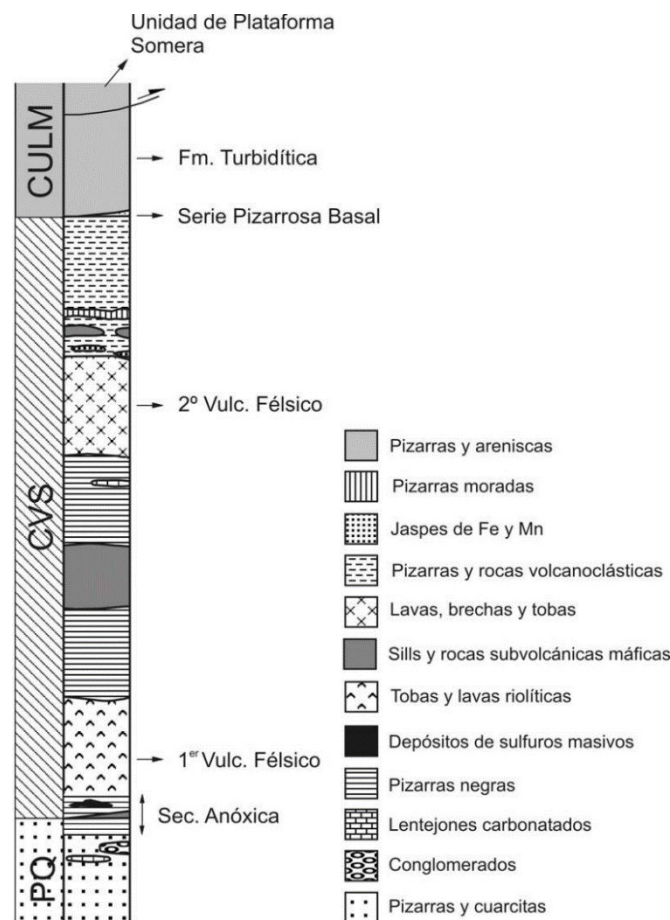


Figura 2.4 Columna Estratigráfica General de la FPI (Schermerhorn, 1971)

2.3. Marco hidrológico

El sector español de la Faja Pirítica Ibérica se encuentra limitado por dos grandes cursos fluviales, el Guadiana al Oeste y el Guadalquivir al Este. Entre ambos se encuentran las cuencas del Tinto y del Odiel (Figura 2.1). En este

marco, casi un centenar de explotaciones mineras sin restaurar se encuentran repartidas por toda la zona de estudio, provocando la afección de buena parte de la red fluvial.

2.3.1. Cuencas del Tinto y del Odiel. Ejemplo de contaminación minera

Los ríos Tinto y Odiel son los principales cauces colectores de AMD. Éstos atraviesan de Norte a Sur la Faja Pirítica Ibérica y desembocan en el Océano Atlántico formando un estuario conocido como La Ría de Huelva.

La contaminación de los ríos Tinto y Odiel representa uno de los problemas más graves de afección por procesos de drenaje ácido de mina (AMD) en todo el mundo, afectando no solo a la red hidrológica de estos ríos y sino también a la Ría de Huelva (Sainz *et al.*, 2002).

Las aguas del Tinto y del Odiel descienden aguas abajo con valores de pH próximo a 2,5, hasta la zona de influencia mareal, con una enorme carga metálica disuelta (de la Torre *et al.*, 2013). En un sólo día el río Odiel transporta más metales pesados a la plataforma Atlántica, que el total de los vertidos por el desastre de Aznalcollar (Sáinz *et al.*, 2003a).

La cantidad de metales, sulfatos y metaloides aportados a la ría de Huelva está directamente relacionada con el caudal de agua fresca, dado que este caudal aumenta con la lluvia, en los años lluviosos aumenta la contaminación aportada por los ríos al estuario pudiendo ser casi ocho veces superior a la aportada durante los años secos (Sáinz *et al.*, 2004).

Los ríos Tinto y Odiel, pese a la proximidad geográfica y similitud climatológica de sus cuencas, presentan características distintas: el Odiel tiene mayor caudal que el Tinto pero menor concentración de metales pesados en sus aguas. El Tinto es un río en casi permanente estado de estiaje, y la acidez de sus aguas y la concentración de metales pesados disueltos en ellas, es extraordinariamente alta, especialmente en hierro. Tradicionalmente, las mayores concentraciones de metales pesados encontradas en las aguas del río Tinto motivaron a que se considerase este río, de forma errónea, el principal

contaminante del estuario en estos elementos. No obstante, el río Odiel es el más contaminante del estuario, introduciendo en la Ría de Huelva el 82% de los metales pesados más tóxicos (Arsénico, Cadmio y Plomo) y el 68.2% del total de elementos de origen fluvial, frente a tan solo un 31,8% del río Tinto (Sáinz *et al.*, 2004).

La acidez y la concentración de metales de estos ríos han causado la pérdida de la mayoría de las formas de vida acuática, con excepción de algunos tipos de organismos adaptados a estos ambientes extremos (Sánchez-España *et al.*, 2005; Valente *et al.*, 2013; Sarmiento *et al.* 2019).

2.3.2. Embalses presentes en la zona de estudio

Como se ha expuesto con anterioridad, este trabajo de investigación se ha centrado en los embalses contaminados, en mayor o menor medida, por AMD, situados en las distintas cuencas o subcuencas hidrográficas de la FPI española. En la tabla 2.1 se muestra la localización de cada uno de los embalses estudiados, así como, sus principales características.

Estos embalses reciben aguas con bajos valores de pH y elevada concentración de carga metálica y de sulfatos debido a la ocurrencia de fenómenos AMD en los cauces que los alimentan. Con carácter general, estas aguas ácidas cargadas de sulfatos y metales, al llegar a los embalses receptores, ante el volumen de agua de la cuenca receptora sufren un efecto inmediato de neutralización ascendiendo el pH hasta valores cercanos a la neutralidad. Con ello, la mayor parte de la materia disuelta transportada precipita mientras que la materia particulada decanta o flocula. Este fenómeno, aun siendo la tónica general, no es una regla de total aplicación, ya que hay elementos como el arsénico, procedente del lixiviado de la arsenopirita y muy común en las paragénesis de sulfuros en la FPI, que se incorporan al agua como As^{3+} en el interior de las escombreras y que al salir al exterior de ella se especifica a As^{5+} . Esto condiciona la presencia de As^{5+} en las aguas de los embalses, ya que para precipitarlo deberían alcanzar las aguas valores de pH próximos a 12, lo que nunca va a suceder de forma espontánea en nuestro escenario al no encontrarse rocas carbonatadas en el medio que produzcan un aumento en el valor del pH de las aguas contaminadas por AMD. En cualquier caso, los precipitados

metálicos se acumularán en forma de sedimento en el lecho de la presa quedando siempre sujeta a las variaciones de pH del medio y potencial redox, lo cual puede llevar a la colmatación del medio sedimentario (Grande et al., 2005b).

Tabla 2.1 Localización y características de los embalses en estudio

Cuenca	Sub-Cuenca	Río	Embalse	Mina aporte contaminante	Usos
Odiel	Meca	Água Agria	Aguas Acidas	Grupo Minero Tharsis	Industrial-minero
Guadimar	-	Agrio	Agrio	Castillo de las Guardas	Industrial y abastecimiento
Chanza		Malagón	Andévalo Cobica	Herrerías Lagunazo	y Abastecimiento urbano y agrícola
Chanza		Cobica	Andévalo Chorrillo	Herrerías Lagunazo	y Abastecimiento urbano y agrícola
Odiel	Odiel	Aguas Agrias	Campanario	Mina Campanario	Recreo y pesca
Chanza	-	Chanza	Chanza	Santo Domingo, Vuelta Falsa, el Cura, La Condesa, Sta Ana	Abastecimiento, pesca y riego
Tinto	-	Corumbel	Corumbel	Grupo Minero Corumbel	Abastecimiento y riego
Odiel	Meca	Meca	Del Pino	Grupo Minero Tharsis	Industrial
Chanza	-	Chorrillo	Dique I	Herrerías	Industrial
Chanza	-	Chorrillo	Dique II	Herrerías	Industrial
Odiel	Oraque		Garnacha	San Telmo	Industrial-abastecimiento
Odiel	Odiel		Gossan	Grupo Minero Río Tinto	Industrial y Minero
Odiel	Oraque	Água Agria	Grande	Grupo Minero Tharsis	Minero
Chanza	-	Chorrillo	Herrerías	Herrerías	Industrial
Chanza	-		Lagunazo	Lagunazo	Industrial
Odiel	Oraque	La Joya	La Joya	La Joya	—

Tinto	-	Tinto	Marismillas	Grupo Minero Río Tinto	Industrial
Odiel	Meca	Meca	Sancho	Grupo Minero Tharsis	Industrial-abastecimiento
Tinto	-	Buitrón	Silillos I	Silillos	Abastecimiento
Tinto	-	Buitrón	Silillos II	Silillos	Abastecimiento
Odiel	Olivargas	Olivargas	Cueva de la Mora	Cueva de la Mora	Abastecimiento, industrial y agrícola
Odiel	Olivargas	Olivargas	Olivargas	Cueva de la Mora, Valdelamusa, Sorpresa	Abastecimiento, industrial y agrícola
Odiel	Olivargas	Naranjo	Puerto León	Grupo Minero La Zarza-El Perrunal	Abastecimiento-industrial

La colmatación de embalses da lugar a una serie de efectos bien conocidos, desde la pérdida de su capacidad de almacenamiento de aguas, hasta la alteración de la pendiente longitudinal del cauce, la formación de humedales, la limitación del uso recreativo o la propensión a la eutrofización de sus aguas (Santisteban et al., 2015), pero, además, la colmatación de un embalse supone una clara pérdida de eficiencia por sí mismo con el correspondiente coste que afecta tanto a rentabilidad de la inversión inicial de la propia obra hidráulica, como a las cuentas de explotación (Palau, 2002).

Pero no sólo radica la importancia en la colmatación de los embalses, sino que el daño puede ir más allá, ya que la carga disuelta (incluida la fracción coloidal) puede llegar a ser transportada fuera del embalse por el agua liberada por éste, propagándose la contaminación del medio hídrico (Grande et al., 2013b).

2.3.2.1. Cuenca del Odiel

El río Odiel, con 140 km de longitud, nace en la Sierra de Aracena, al Norte de la provincia de Huelva, y recibe por su margen derecha las aportaciones de la rivera de Santa Eulalia, rivera de Olivargas, río Oraque y de la rivera de Meca, y las del arroyo Agrio y de la rivera del Villar por la izquierda. Recorre la provincia

de Norte a Sur y desemboca formando el Paraje Natural de las Marismas del Odiel, que incluye las reservas del Burro y de la Isla de Enmedio, hasta llegar al Océano Atlántico.

Sus aguas tienen un excelente índice general de calidad en sus primeros 24 km de recorrido, a partir de ese punto pasa por Mina Concepción donde comienza el proceso de contaminación por AMD e inmediatamente aguas abajo, recibe aportes de otras explotaciones vecinas como San José, San Platón, Esperanza, Poderosa o El Soldado, que incrementan el nivel de contaminación. Algo más al sur, recibe los aportes de buena parte de la explotación minera de Riotinto (Santisteban, 2015).

La cuenca del Odiel tiene una superficie de 2333 km², y su red hidrográfica presenta una longitud total de cursos fluviales cercana a los 1000 km (Sáinz *et al.*, 2000a).

Dentro de la cuenca del Odiel podemos distinguir cuatro subcuencas diferentes: la subcuenca del Meca, la del Oraque, la del Olivargas, y la propia subcuenca del Odiel en cabecera. Cabe señalar que en trabajos anteriores al de Santisteban (2015) la subcuenca del Olivargas no ha sido considerada como subcuenca independiente, sino como parte de la cuenca del Odiel (Grande *et al.*, 2013a,b; Sarmiento, 2007), pero desde ese momento, es considerada como una subcuenca independiente por sus características hidrodinámicas e hidroquímicas particulares.

La subcuenca del Meca es la que presenta la menor extensión de todas con 314 km², al igual que su red hidrográfica con 178 km de longitud, siendo la rivera de los Agustanos, la rivera del Aserrador, la de la Dehesa-Boyal, el arroyo de las Multas, y el río Meca los cauces más importantes. Esta subcuenca de Meca recoge la mayor parte de los lixiviados procedentes del Grupo Minero Tharsis.

El río Meca, inmediatamente antes de su confluencia con el río Oraque y el río Odiel queda represado por el embalse de El Sancho (Figura 2.5). Este embalse, que fue construido en 1962, posee una capacidad de 58 hm³. Se nutre de las aguas del río Meca, el cual recibe a través de diferentes afluentes subsidiarios aguas contaminadas por procesos AMD procedentes del Grupo

Minero de Tharsis y en menor medida, de Mina La Lapilla y Mina Vulcano. Las aguas embalsadas ocupan una superficie de 427 ha. La longitud de coronación del muro es de 224 metros (SEPREM; Santisteban, 2015).



Figura 2.5 Embalse El Sancho (SEPREM)

De menor envergadura, el embalse del Pino (figura 2.6) también se encuentra ubicado en esta subcuenca, el cuál recibe aportes del Grupo Minero de Tharsis. Fue construido en 1866 para el suministro de agua a la explotación minera.



Figura 2.6 Embalse del Pino

La subcuenca del río Oraque posee una superficie de 612 km², con una red de drenaje de 357 km, siendo sus mayores tributarios las riveras de la Fresnera, Aguas Agrias y de la Pelada, y el arroyo Tamujoso. Esta subcuenca se muestra intensamente afectada por drenaje ácido de mina desde la cabecera, donde recibe aportes de las minas San Telmo, Lomero-Poyatos y La Joya, entre las más importantes.

El río Oraque es el que actualmente presenta una menor regulación, sin embargo, se ha iniciado en la confluencia de este río con el Odiel, la construcción de la presa de la Alcolea (300 hm³), que se convertirá en el mayor embalse de toda la cuenca (Cerón *et al.*, 2013b). Las estimaciones realizadas sobre la calidad del agua de la presa de la Alcolea prevén para el futuro embalse, aguas con bajo pH y elevadas concentraciones de metales tóxicos, por lo que estas aguas no podrían ser utilizadas directamente en la agricultura ni para ningún otro fin (Olías *et al.*, 2011), aunque por otro lado, la Declaración de Impacto Ambiental de la presa de Alcolea (BOE nº 33 de 8 de febrero de 2000) presupone que la carga contaminante se reducirá, inicialmente por dilución y posteriormente por decantación.

En la actualidad esta subcuenca no contiene grandes obras de infraestructura hidráulica, constatándose la presencia de pequeños embalses como el embalse de La Joya, Garnacha y Grande

El embalse La Joya (figura 2.7), cuya presa tiene una longitud de coronación de 166 m y recoge las aguas que provienen del Arroyo de la Joya.



Figura 2.7 Embalse La Joya

El embalse Garnacha (figura 2.8) fue construido en 1910. Presenta una longitud de Coronación de 76 m y una capacidad de 0.10 hm³. Su superficie es de 3 ha y su uso es industrial.



Figura 2.8 Embalse Garnacha

El embalse Grande (figura 2.9), ubicado en Tharsis, recoge las aguas de la rivera del Agua Agria. Este embalse recibe aportes de unas escombreras pertenecientes al Complejo Minero de Tharsis, situadas en uno de sus márgenes. Para la recogida de los lixiviados ácidos de las escombreras existe una regola perimetral que los conduce hasta una pequeña presa artificial a la que se ha denominado Aguas Ácidas (figura 2.10) por no tener ningún nombre conocido (Santisteban, 2015).



Figura 2.9 Embalse Grande



Figura 2.10 Embalse Aguas Ácidas

La subcuenca de Olivargas se localiza en el sector noroccidental de la cuenca del Odiel, de la que es tributaria y se encuentra muy intensamente afectada por la presencia de importantes explotaciones mineras como Cueva de la Mora, Aguas Teñidas o el Grupo La Zarza-Perrunal.

Dos embalses se ocupan de regular las aguas en esta cuenca. Por orden de magnitud encontramos el embalse Olivargas y Puerto León.

La presa de Olivargas (figura 2.11) fue construida en 1982 en el término municipal de Almonaster la Real. El embalse tiene una capacidad máxima de almacenamiento de 29 hm³ y una superficie de 240 ha. El uso de estas aguas es industrial, agrícola y doméstico. Su longitud de coronación es 191.11 m.



Figura 2.11 Embalse Olivargas (Fernández-Palacios et al., 2014)

La presa de Puerto León (figura 2.12) es una obra antigua, construida en 1887 en el término municipal de Almonaster la Real. Almacena agua del arroyo Naranjo con una capacidad máxima de 1 hm³ y sus aguas ocupan una superficie de 19 ha. El uso es de abastecimiento doméstico e industrial. La longitud de la coronación es de 139 m (Santisteban, 2015; SEPREM).



Figura 2.12 Embalse Puerto León

La subcuenca del Odiel tiene una extensión de 1404 km². Su red hidrográfica tiene una longitud de 614 km y presenta como principales afluentes las riveras de Santa Eulalia, Seca y Escalada por su margen izquierdo, y la rivera del Villar y el arroyo Agrio por su margen derecho (Santisteban, 2015).

El carácter fluvial del río Odiel llega hasta el municipio de Gibraleón donde se pierde. A partir de ahí, se crea un complejo estuario donde se ubica el Paraje Natural Marismas del Odiel, declarado en 1983 como Reserva de la Biosfera dentro del Programa MAB de la UNESCO, teniendo una gran importancia ecológica al ser un lugar de interés comunitario (Directiva de Habitats 92/43/CEE) y una zona de especial protección para las aves (ZEPA), según la Directiva de Aves 79/409/CEE (Cánovas, 2008). Su caudal, totalmente irregular, se ha estimado entorno a los 460 hm³/año, pero con grandísimas variaciones interanuales, presentando características casi torrenciales.

Esta subcuenca alberga algunas de las mayores explotaciones de la Faja Pirítica Ibérica, como son Riotinto, Concepción, Esperanza, Poderosa, Angostura, San Miguel, El Soldado en zona de cabecera, además de, Tinto-Santa Rosa, El Buitrón, Los Bueyes, Almagrera, Sotiel, Torerera, Cibeles, Descamisada y Campanario.

En esta subcuenca nos encontramos el embalse Campanario y el embalse Gossan.

El embalse Gossan (figura 2.13) se sitúa al norte de las explotaciones mineras de Riotinto, constituye un depósito de almacenamiento de estériles procedentes de la planta mineralúrgica de Riotinto. Éste ocupa una superficie superior a 400 ha, y vierte a través de una salida de emergencia que dejaba escapar aguas en las épocas lluviosas para evitar el desbordamiento hasta la reapertura de la Mina Cerro Colorado (Santisteban, 2015). Esta presa debe su construcción a la actividad minera de la zona. Se encuentra dividida por la carretera que une Minas de Riotinto y Campofrío.



Figura 2.13 Embalse Gossan (Fernández-Palacios et al., 2014)

El embalse Campanario se encuentra ubicado en el término municipal de Valverde del Camino, en el río Pajarrón. Se trata de un antiguo embalse de agua limpia, las obras son de 1911, convertido hoy en zona de baño, recreo y pesca.

2.3.2.2. Cuenca del Tinto

El río Tinto nace en la Sierra del Padre Caro (Nerva), al Norte de la provincia de Huelva y posee una longitud de 101 km hasta llegar a la ría de Huelva donde confluye con el río Odiel. Desde su nacimiento, sus aguas llevan río abajo la contaminación recibida de las explotaciones Minas de Riotinto y Mina Peña del Hierro. Sus afluentes principales son los ríos Jarrama y Corumbel en su margen izquierda y, el arroyo Candón y rivera Nicoba, por su margen derecha

(Cánovas *et al.*, 2005). En su cuenca existen un gran número de arroyos estacionales que sólo transportan agua en el periodo húmedo. Entre estos arroyos se distinguen por su margen izquierda el arroyo del Barranco seco, arroyo del Gallego, rivera de Hornueca, Barranco de la Higuera, arroyo Giraldo y el arroyo del Fresno. Por su margen derecha confluyen el arroyo Tamujoso, rivera de Cachán, rivera del Manzano, rivera de Casa de Valverde, arroyo de Buenavista, arroyo Helechoso, arroyo de Lavapiés, arroyo Salinero y arroyo Canillas.

La cuenca minera de Riotinto viene explotándose desde hace más de 4000 años (Ortiz, 2003). En la actualidad, 11 de sus explotaciones mineras se encuentran inactivas y, solamente una, Riotinto, se encuentra en estos momentos en fase explotación (Grande, 2016).

De forma global, y en comparación con la cuenca del Odiel, cabe decir que el río Tinto recoge aguas afectadas por AMD de un número mucho menor de explotaciones, quedando prácticamente restringida al área minera de Riotinto, en sus explotaciones de Levante y Peña del Hierro, aunque aguas abajo recoge lixiviados de otras minas de menor envergadura.

El río Tinto, así como alguno de sus afluentes, están regulados por obras hidráulicas. Algunas de ellas se crearon debido a las actividades mineras realizadas en la cuenca, para el lavado de minerales, el suministro para la población o para las diferentes labores mineras que se llevaban a cabo. La severa contaminación de las aguas del río Tinto y la ausencia de acuíferos de importancia debido a la baja permeabilidad de la cuenca, han podido influir en que algunos de los afluentes del río Tinto estén regulados por obras hidráulicas cuyo fin es satisfacer la demanda de agua para consumo de la población y las actividades agrícolas, ganaderas e industriales.

En la Cuenca del Tinto se ubican los embalses Marismillas, Corumbel, Silillos I y II.

La presa minera de Marismillas (figura 2.14) tiene una superficie de 4,24 ha. Fue construida en 1878, para dar cabida a las aguas que fueron utilizadas posteriormente para la precipitación del cobre en las plantas de tratamiento del mineral del grupo minero Riotinto. Recibe la entrada de aguas del río Tinto,

encontrándose muy afectada por el drenaje ácido de mina (Grande *et al.*, 2010a). En la actualidad se encuentra colmatada debido a los procesos de precipitación de la carga metálica que recibe.



Figura 2.14 Embalse Marismillas (Fernández *et al.*, 2011)

El embalse Corumbel (figura 2.15) se encuentra muy próximo a la confluencia del río Corumbel con el Tinto. Este embalse fue construido con el fin de abastecer de agua potable a los núcleos urbanos próximos.



Figura 2.15 Embalse Corumbel (Fernández-Palacios et al., 2014)

En el embalse de Silillos fue construido un dique artificial que produjo la subdivisión de éste en dos: Silillos I, al Sur, y Silillos II, al Norte (Figura 2.16). El embalse está situado en la población de Valverde del Camino y su uso está destinado al abastecimiento de agua, a la pesca y al baño. La longitud de coronación es de 309,50 m.



Figura 2.16 Embalse Silillos I

2.3.2.3. Cuenca del Chanza

La cuenca hidrográfica del Chanza comprende una superficie de 66890 km². En ella se distinguen las subcuencas del Chanza, del Cobica y del Malagón.

Los dos embalses más importantes son el embalse del Andévalo y del Chanza. También existen otros menores como son el embalse Lagunazo y el embalse Herrerías.

En el embalse Herrerías (Figura 2.17) se construyeron dos diques artificiales que produjeron la subdivisión de éste en tres: el propio embalse Herrerías, que es como se conoce a todo el conjunto, y los embalses Dique I de Pedrianes y Dique II de “En Medio” (Figura 2.18).

El embalse Herrerías, se construyó en 1900. Su uso es industrial. Tiene una capacidad de 0.20 hm³ y una longitud de Coronación de 106 m.



Figura 2.17 Embalse de Herrerías



A

B

Figura 2.18 A. Embalse Dique I. B. Embalse Dique II

La presa del Andévalo (Figura 2.19), se sitúa en el término municipal de Paymogo (SW de España) muy cerca de la frontera con Portugal. Esta presa fue construida en 2003 y presenta una capacidad de almacenamiento de 630 millones de metros cúbicos (López Zafra *et al.*, 2001). Su entrada en funcionamiento supuso un aumento importantísimo de los recursos disponibles orientados al abastecimiento urbano y agrícola del sector occidental de Andalucía (Grande *et al.*, 2010c). El embalse se nutre de aguas del río Malagón como cauce principal, recibiendo como afluentes principales, antes de la presa, al arroyo Albahacar por su margen derecha y a los arroyos Cobica y Viguera por la izquierda.



*Figura 2.19 Embalse Andévalo (Fernández-Palacios *et al.*, 2014)*

La presa del Chanza (Figura 2.20), situada aguas abajo de la anterior, fue construida en el año 1989 para fines de riego y abastecimiento urbano, ocupando sus aguas una superficie máxima de 2239 ha y permitiendo una capacidad máxima de almacenamiento de 341 hm³. Nos encontramos ante una presa que recoge los excedentes de la presa del Andévalo, al tiempo que se nutre de las escorrentías procedentes de la cuenca vertiente del río Chanza, por encima de la unión con el Cobica. La unión de ambos cauces tiene lugar en el paso fronterizo conocido como vado de Volta Falsa, en el carril que une las localidades de Paymogo con Corte Pinto. Este embalse recoge aguas contaminadas procedentes de mina Sao Domingos (Portugal) además de las aguas ácidas procedentes de las explotaciones españolas de Nuestra Señora del Carmen, Volta Falsa, Trimpancho y La Condesa.



Figura 2.20 Embalse Chanza (Fernández-Palacios et al., 2014)

El embalse Lagunazo (Figura 2.21) se nutre de las aguas del río Cobica justo en su nacimiento. Las obras de la presa fueron terminadas en 1880. El embalse dispone de una capacidad de 0.120 hm³ y una superficie de 18.01 ha. Su longitud de coronación es de 145 m. Su uso es industrial.



Figura 2.21 Embalse Lagunazo

2.3.2.4. Cuenca del Guadiamar

La cuenca del río Guadiamar ocupa la parte más occidental de la provincia de Sevilla, con origen en Sierra Morena, cerca de la localidad de Castillo de las Guardas, aunque algunos de los tributarios por la margen derecha nacen en la provincia de Huelva. Desemboca en el Guadalquivir, en las proximidades del Parque Nacional de Doñana (Ferrera-Romer *et al.*, 2003). La superficie total de la cuenca del Guadiamar es de 1880 km².

Esta cuenca, conocida por el desastre ambiental provocado por la rotura de la presa de Aznalcóllar en el año 1998, recoge aportes mineros en la parte más oriental de la Faja Pirítica Ibérica. Tan solo tres explotaciones se enmarcan dentro de esta cuenca: Castillo de las Guardas al Norte, y Aznalcóllar y Cobre Las Cruces al Sur de la anterior, esta última en explotación actualmente y con medidas preventivas y correctoras en el marco de la legislación actual.

En relación con las obras hidráulicas, cabe destacar el embalse del Agrío construido en el año 1977 sobre el río del mismo nombre, en el término municipal de Aznalcóllar y cuyas aguas ocupan una superficie de 278 ha. Este embalse se encuentra afectado por AMD debido a que recoge los lixiviados del complejo

minero de Castillo de las Guardas. Su uso es industrial y de abastecimiento. Tiene una longitud de Coronación de 231.5 m y su capacidad es de 306 km³.

2.4. Marco climático

La incidencia del clima sobre los procesos de interacción agua-biota son evidentes, en el caso que nos ocupa, donde la presencia, abundancia y diversidad de diatomeas en relación con la físico-química del agua constituyen el eje central de la investigación, es aún más patente la aseveración anterior.

Diferentes autores han evaluado los condicionantes climáticos en relación con la presencia de diatomeas, cabe destacar el trabajo de Peszek (2021) en el que mediante un exhaustivo tratamiento gráfico-estadístico sobre una masa de datos de Los Cárpatos concluye que “during drought periods, the share of diatoms from the motile guild and terrestrial species increased significantly in the streams. Drought had positive effects on the increased biodiversity of benthic diatom communities. Diatom index values showed statistically significant differences between drought-free and drought periods. In the present study, the differences observed were small enough to not affect the final ecological status classification”.

Otros autores en diferentes países han trabajado en esta misma línea de investigación, destacamos los trabajos de Almeida (2001), Calapez et al (2014), Elias et al (2015), Stubbington et al (2019), entre otros, quedando patente en todos ellos la importancia del clima como condicionante de la abundancia y diversidad espacial y sazonal de diatomeas, evidenciando un alto potencial para actuar como indicadores de calidad tanto de la sequía como de la estación lluviosa.

En relación con el otro factor determinante de la presencia de diatomeas en el medio hídrico, la química del agua, existen innumerables trabajos que interrelacionan la hidroquímica con las condiciones climáticas, siendo éstas condiciones el detonante para la producción de AMD que constituye el escenario de trabajo de esta tesis Doctoral y al mismo tiempo el vector de transmisión y de la propia existencia de las diatomeas. Un resumen de estos trabajos sobre las interrelaciones agua-clima en medios afectados por AMD lo encontramos en el trabajo de Grande (2016).

Lo anteriormente expuesto justifica la redacción de este apartado de la Tesis donde, de forma resumida, se recogen las condiciones climáticas del área en estudio.

Como primera cuestión hemos de entender que para centrarnos en el escenario que aquí se describe, nos encontramos en una zona donde la precipitación media interanual es de 645 mm y una ETP próxima a 900 mm, con ello, la mayor parte de los cauces permanecen secos durante el periodo estival y tan solo transportan agua los cauces que reciben aportes procedentes del esponjamiento de las escombreras mineras presentes en la Faja Pirítica Ibérica. Ambos fenómenos condicionan las relaciones agua-química-biota.

En efecto, durante los meses de verano se observa un aumento de producción de acidez (McGinness y Johnson, 1993; Backes *et al.*, 1993), atribuyéndose a un aumento de la velocidad de oxidación de la pirita en esta época del año, debido al aumento de actividad que experimentan las bacterias oxidantes del hierro. Backes *et al.*, (1993) se estima que la velocidad de oxidación durante los meses de verano era entre 5 y 10 veces más elevada que en los meses de invierno. Estos autores mostraron, además, un aumento de concentración del hierro y el sulfato, junto con el aumento de producción de acidez (Santisteban 2015).

Según Santisteban (2015) la zona de estudio muestra unas características propias del clima mediterráneo semiseco, con precipitaciones anuales en torno a los 630 mm/año; temperaturas suaves con valores medios anuales de 17,1°C y una amplitud térmica de 49 °C. Las precipitaciones se localizan principalmente en las estaciones de otoño e invierno, produciendo situaciones de sequía en verano y parte de la primavera a partir de una serie de 33 años localizada en el centro del área de trabajo (Alosno), idónea para este estudio.

Los datos registrados con periodicidad mensual, permiten concluir lo siguiente para la estación meteorológica de referencia:

- Altitud: 286 metros.
- Número de años observados: 32.
- Temperatura media anual: 17,2 °C.
- Precipitación anual: 645,7 mm.

- Media de las mínimas del mes más frío: 5,2 °C.
- Mínima absoluta: -5 °C.
- Media de las máximas del mes más cálido: 31,0 °C.
- Máxima absoluta: 45°C.

A partir de esta masa de datos el climodiagrama de Walter y Lieth (figura 2.22) ofrece una valiosa información relativa a los intervalos e intensidad de las épocas secas del año hidrológico así como de los periodos de helada como condicionantes de la supervivencia de las diatomeas en el medio estudiado.

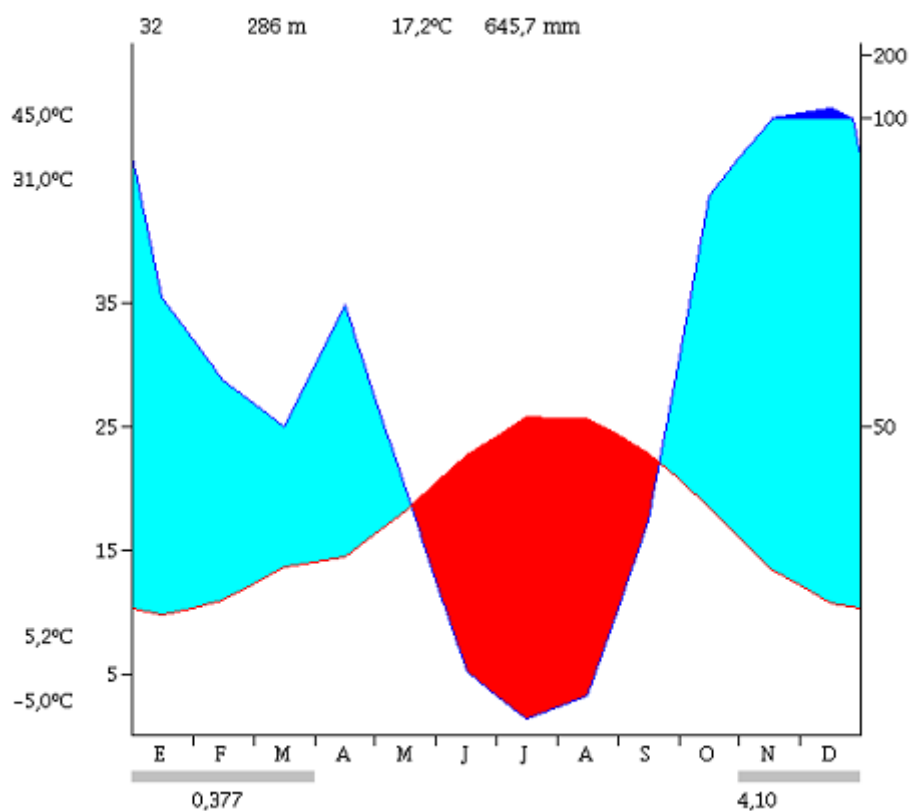


Figura 2.22 Climodiagrama de Walter y Lieth (Modificado de Santisteban 2015)

Comprobamos como entre los meses de mayo a septiembre queda patente el déficit de agua, No existe así mismo intervalo de helada segura, esto es el número de meses en los que la media de las mínimas es menor a cero, existiendo un intervalo de helada probable desde diciembre hasta marzo (ambos inclusive), referido este intervalo a los meses en que la media de las mínimas es superior a 0 °C pero la mínima absoluta se mantiene inferior a 0 °C. (Santisteban, 2015).

Esta misma autora propone un diagrama de balance hídrico de Thornwaite para una capacidad de campo de 100 mm que recogemos en la figura 2.22 donde cabe destacar que según estos cálculos encontramos un índice de humedad de -33,2 y un índice de eficacia térmica de 869,8 lo que se corresponde con clasificaciones de clima sub-húmedo C1 en relación con la humedad y de clima mesotérmico B'3 en relación con el índice de eficacia térmica.

3. REVISIÓN DE ANTECEDENTES

3.1. Antecedentes de la minería en la zona de estudio, la Faja Pirítica Ibérica y los procesos relacionados con el drenaje ácido de mina

La Faja Pirítica Ibérica es un clásico ejemplo a escala mundial de provincia minera asociada a sulfuros metálicos, y está considerada como una de las más grandes provincias de sulfuros masivos del mundo con unas reservas originales estimadas en 1700 millones de toneladas (Sáez *et al.*, 1999). También es mundialmente conocida por ser un distrito minero con una antiquísima historia de explotación, la cual comenzó hace aproximadamente 4000 años (Leblanc *et al.*, 2000; Nocete *et al.*, 2005). Las cifras sobre reservas más recientes, tras las actuales campañas de investigación de reservas han modificado sustancialmente estos datos incrementándolos hasta valores muy superiores. En todo caso, la minería actual interfiere poco sobre la biota acuícola ya que debe abordarse la actividad minera desde la premisa legal de “vertido cero a la red fluvial”.

La ausencia de controles ambientales y buenas prácticas de explotación empleadas actualmente en minería, dio lugar a una ingente acumulación de residuos mineros y al abandono de las instalaciones una vez que dejaba de ser rentable su explotación, sin tomar ninguna medida correctora de cara a posibles problemas de contaminación. Como consecuencia los antiguos pozos, túneles, galerías, cortas, escombreras, balsas de lodos, residuos de fundición y un largo etcétera, se encuentran, muchos de ellos, aún hoy en día en estado de (Pérez-Ostalé, 2014).

La incorporación de drenajes ácidos procedentes de estas explotaciones mineras, en su mayor parte abandonadas y sin restaurar a la red de drenaje, producen la modificación de las características físico-químicas de los cauces, aumentando la acidez de las aguas, así como su contenido en metales pesados y sulfatos, y la concentración de metales de sus sedimentos, hasta valores extremos (USEPA, 1994; Lyew y Sheppard, 2001; Grande *et al.*, 2005b).

La literatura científica está repleta de numerosos estudios encaminados a cuantificar los efectos ambientales del AMD en el medio hídrico, desde el punto de vista de los procesos que tienen lugar en las aguas afectadas (Cánovas *et al.*, 2015, 2019, 2020; Cerón *et al.* 2013a,b; de la Torre *et al.*, 2009, 2010,

2014a,b,c; Egal *et al.*, 2010; Grande *et al.*, 2000a,b, 2003a,b, 2005a,b, 2010a,b,c,d,e, 2011a,b, 2013a,b, 2014a,b, 2015, 2016, 2017a,b, 2018a,b,c,d, 2019; Hinton y Veiga, 2001; Hubbard *et al.*, 2009; Jiménez *et al.*, 2009; Macías *et al.*, 2012a,b,c, 2017a,b; Nieto *et al.*, 2003, 2007, 2013; Ochieng *et al.*, 2010; Pérez-Ostalé 2014; Santisteban *et al.*, 2015, 2016, 2019; Santofimia *et al.*, 2013a,b,c, 2015, 2016; Sarmiento *et al.*, 2004, 2006, 2011, 2016, 2018, 2019; Sáinz *et al.*, 2003a-b, 2004, 2005; Valente *et al.*, 1996, 2009, 2012, 2014; Younger, 2001, 2002); Dávila *et al.*, 2020).

Aunque los más frecuentes ejemplos de contaminación por AMD proceden de EE.UU. y Canadá, este problema afecta igualmente a numerosos países de Sudamérica, África, Europa, Oceanía y en general a aquellas regiones con una alta actividad minera en yacimientos con presencia de sulfuros, pudiendo ocurrir no sólo en la minería de la pirita, sino en la minería del oro, plata, cobre, zinc, plomo, uranio y carbón, en menor medida. Con respecto a España, en Galicia, Asturias y País Vasco se encuentran ejemplos relacionados con minas de carbón (Monterroso y Macías, 1998) y de mercurio (Loredo *et al.*, 2005). Sin embargo, los principales problemas de drenaje ácido de mina están asociados a la presencia del Cinturón Pirítico Ibérico o Faja Pirítica Ibérica que constituye una de las comarcas metalogenéticas más importantes del mundo. La intensa actividad minera, superficial y subterránea, ha dejado, en las cuencas de los cauces afectados, un legado de 87 minas abandonadas, de las cuales varias se encuentran en proyecto de reapertura, y 5 minas en actividad, con una superficie total de afección próxima a 4850 ha (Pérez-Ostalé, 2014). Esta intensa actividad minera ha acelerado el proceso natural de desulfuración de la pirita, al aumentar la superficie de contacto por las labores mineras y disminuir la granulometría. La actividad extractiva genera un volumen de minerales, residuos y efluentes que constituyen las causas antrópicas de la contaminación de los ríos Tinto y Odiel y sus afluentes (Sáinz *et al.*, 2003, Grande, Ed. 2016)).

Se han realizado muchos estudios relacionados con la calidad del agua en los ríos Tinto y Odiel. Entre otros, se pueden consultar los trabajos de: Cánovas *et al.*, 2008; de la Torre *et al.*, 2009, 2010, 2014 a,b,c; Grande *et al.*, 2000a,b, 2003a,b, 2005a,b, 2010a,b,c,d,e, 2011ab,c, 2013a,b, 2014a,b, 2015, 2016, 2017a,b, 2018 a,b,c,d, 2019; Hudson-Edwards *et al.*, 1999; Jiménez *et al.*,

2009; López-Archilla, 1999; Olías *et al.*, 2004; Sáinz *et al.*, 2000a,b, 2002, 2003a,b, 2004, 2005; Santisteban *et al.*, 2015, 2016a, 2019; Sarmiento *et al.*, 2004, 2006, 2011, 2016, 2018, 2019; Vicente-Martorell *et al.*, 2008.

Respecto a los embalses objeto de estudio en esta tesis doctoral, destacan el trabajo de Grande *et al.* (2013b), donde se evaluó el grado de contaminación de los diferentes embalses de la FPI que se encuentran afectados por procesos AMD, confeccionándose un mapa de riesgo de afección global; el trabajo de Cerón *et al.* (2013a) y Grande *et al.* (2014a) donde se estudiaron las relaciones hidroquímicas existentes en profundidad en un embalse presente en la red fluvial de la FPI que se encontraban afectados por procesos AMD, describiéndose la estratificación del agua en la vertical; el trabajo de la Torre *et al.* (2014a,b) donde se caracterizaron los cambios hidroquímicos que tenían lugar en un embalse contaminado por AMD en la FPI mediante el estudio del cauce del cual se nutría el embalse y del punto de entrada de estas aguas en él; el trabajo de Santisteban *et al.* (2015) donde se caracterizaron las aguas de aquellos embalses presentes en la red fluvial de la FPI que se encontraban afectados por AMD, estudiando las posibles relaciones de interdependencia entre estos embalses; el trabajo de Santisteban *et al.* (2015) y (2016) donde se estudiaron los procesos de atenuación natural existentes en un embalse contaminado por AMD en la FPI, y se propuso un modelo de tránsito de la carga contaminante desde el punto de entrada de agua en el embalse hasta un punto localizado en la presa de éste; y el trabajo de Valente *et al.* (2014) donde se realizó un estudio hidrogeoquímico y mineralógico, así como de los procesos de enriquecimiento y formación de fases minerales secundarias en los sedimentos acumulados en un embalse colmatado en la FPI debido a procesos AMD.

3.2. Antecedentes de las diatomeas como bioindicadores

3.2.1. Utilidad de las diatomeas en medios afectados por AMD

Debido a la implementación de la Directiva Marco del Agua (DMA) en los Estados Miembros de la Unión Europea (EC, 2000), ha habido una obligatoriedad del uso de comunidades del perifiton (o fitobentos) para la evaluación de la calidad ecológica de los hábitats lacustres (Hofmann, 1994; King

et al., 2002; DeNicola *et al.*, 2004), además de las macrófitas, la fauna piscícola y los macroinvertebrados bentónicos. Por ello, y de acuerdo con la DMA, el estado ecológico de un cuerpo de agua debe definirse en relación con la desviación de su composición de especies y abundancia, de la condición de referencia, así como de la calidad ecológica esperada en ausencia de influencia antropogénica (Schaumburg *et al.*, 2004; Ector y Rimet, 2005). Obviamente en ríos afectados por AMD esta reposición a condiciones ideales es utópica, pero hay que minimizar y contener los efectos en la biota.

Las diatomeas bentónicas (adherentes a una superficie) son el grupo taxonómico que más se ha utilizado en los estudios de evaluación ambiental en ríos europeos (Almeida, 1998; Almeida y Gil, 1998; Kwandrans *et al.*, 1998; Kelly y Whitton, 1998; Kelly *et al.*, 2008, 2009; Luís *et al.*, 2013) y específicamente en España (Gomà *et al.*, 2004; Leira y Sabater, 2005; Delgado *et al.*, 2010).

Así, las diatomeas son empleadas como herramienta para la biomonitorización de la contaminación de las aguas, ofreciendo ventajas frente al uso de macroinvertebrados, debido a su gran diversidad (King *et al.*, 2000), su rápido ciclo de vida, su elevado número de especies, su poder de colonización en prácticamente cualquier sustrato sumergido.

De este modo, las diatomeas son de los pocos organismos presentes en ambientes ácidos con contaminación metálica que se encuentran regulados en la DMA. Hay numerosos estudios sobre los efectos del Drenaje Ácido de Mina en las comunidades de diatomeas. Así, la distribución de las comunidades de esos microorganismos puede explicarse significativamente por los indicadores dominantes de AMD, como el pH, la conductividad, el sulfato y los metales (por ejemplo en, Ferreira da Silva *et al.*, 2009; Gray y Vis, 2013; Oberholster *et al.*, 2013; Zalack *et al.*, 2010; DeNicola, 2000; Ciniglia *et al.*, 2007; Álvarez-Blanco *et al.*, 2013; Luís *et al.* 2009, 2011, 2013, 2016, 2018, 2019; Tolotti *et al.*, 2019), que debido a estas condiciones físico-químicas adversas, estos ambientes contienen poca diversidad de organismos, tales como algunas bacterias, hongos, algas verdes (aún no incluidos en la DMA) y pocos macroinvertebrados.

Particularmente en la Faja Pirítica Ibérica, se han realizado estudios previos de la calidad del agua utilizando las diatomeas como bioindicadores de

afección (Urrea-Clos y Sabater (2009), Aguilera *et al.* (2013), Fernández *et al.* (2018) y Luís *et al.* (2009, 2011, 2012, 2016, 2018, 2019; Sarmiento *et al.* 2018; Rivera *et al.* 2019, 2020; Valente *et al.* 2016a,b).

El AMD tiene influencia en el tipo y número de diatomeas presentes, por ejemplo, las diatomeas acidobiontes *Pinnularia acoricola* Hustedt, *Pinnularia acidophila* Hofmann & Krammer y *Pinnularia aljustrellica* Luís, Almeida et Ector, son un ejemplo de especies bien adaptadas a estos medios (Luís *et al.* 2009, 2011, 2012, 2016; Schowe *et al.* 2013), respondiendo a un rango de pH ácido (1.5-3.5), presentando así estrategias para superar el alto concentración en H⁺ que puede conducir a una rápida acidificación del citosol (Gross y Robbins, 2000).

Sin embargo, las especies de diatomeas pueden ser diferentes y responder de manera distinta en otras áreas mineras, por ejemplo, en las minas de extracción de metales sin generación de AMD, y por supuesto, sin generación de acidez, presentando mayor susceptibilidad a los metales, como por ejemplo *Fragilaria capucina* var. *rumpens* (Ferreira da Silva *et al.*, 2009).

Así, la susceptibilidad de las comunidades de diatomeas a los metales, ha sido comprobada tanto en campo como en experimentos laboratoriales (Say, 1978; Leland y Carter, 1984; Deniseger *et al.*, 1986; Genter *et al.*, 1987; Gray y Hill, 1995; Gustavson y Wängberg, 1995; Genter, 1996; Medley y Clements, 1998; Paulsson *et al.*, 2000).

Las diatomeas responden a las perturbaciones por metales no solo por un cambio en los taxa (géneros, especies) dominantes al nivel de la comunidad (Gustavson y Wängberg, 1995; Hirst *et al.*, 2002), como también en alteraciones en la diversidad (Medley y Clements, 1998); al nivel del individuo a través de alteraciones en la morfología de la pared celular y en particular en la reducción de su tamaño (Gensemer, 1990; Cattaneo *et al.*, 2004, Luís *et al.*, 2011) y en las deformaciones en el frústulo (McFarland *et al.*, 1997; Dickman, 1998; Gold *et al.*, 2003; Hill, 2003; Nunes *et al.*, 2003; Cattaneo *et al.*, 2004, Luís *et al.*, 2016) que han sido asociadas a las altas concentraciones de metales.

La correlación entre contaminación por metales pesados y la presencia de formas teratológicas está sobradamente contrastado (Saboski, 1977, Cattaneo

et al., 2004; Couillard *et al.*, 2004; Morin *et al.*, 2008a,b; Ferreira da Silva *et al.*, 2009; Luís *et al.*, 2011; Olenici *et al.* 2017; Gonçalves *et al.*, 2019; Luís *et al.*, 2016).

Las formas teratológicas, se entienden como un efecto accidental ante situaciones de estrés y medios contaminados tanto físicos como químicos. Lo más frecuente es que las diatomeas presenten las valvas anormales (falta de simetría, doblado, hinchado, perfil dentado), inusual sistema de rafe (fragmentado, desplazado, bifurcado), anomalía en las estrías (irregular, alteradas, fragmentadas y ramificadas) e inusual cambio en el sistema de rafe (curvado) (Falasco *et al.*, 2009, Lavoie *et al.*, 2017).

Sin embargo, los modelos de respuesta de las diatomeas a los metales han sido difíciles de establecer, una vez que la contaminación por metales está frecuentemente asociada a la acidificación *per se* (Dixit *et al.*, 1991) o afección por AMD (Luís *et al.*, 2009, 2011, 2013, 2016, 2018, 2019; Sarmiento *et al.*, 2018; Rivera *et al.* 2019, 2020).

Estudios sobre los efectos de altas concentraciones de Fe y SO₄²⁻ y pH ácido, concluyen que el ambiente ácido limita el crecimiento de algas y ejerce una fuerte presión de selección sobre la composición de la comunidad, que a su vez es más tolerante a la exposición al metal (Luís *et al.*, 2014; DeNicola *et al.*, 2018).

En los lugares afectados por AMD se ha demostrado que existe un desequilibrio en las comunidades, lo que se traduce en un predominio de apenas de 2 a 4 especies de diatomeas (Van Dam, 1994; Luís *et al.*, 2009, 2016).

Tanto es así que, para condiciones similares de acidez, las diferencias en diversidad, abundancia y formas teratológicas de diatomeas se pueden explicar por los niveles de metales/metaloides. Las especies acidófilas, *Pinnularia aljustrellica* y *Pinnularia acidophila*, se adaptan perfectamente a las condiciones adversas (Luís *et al.* 2012, 2016, 2018, 2019; Rivera *et al.* 2019, 2020); en contraste, cuando la toxicidad por metales afecta a otras especies menos tolerantes, esto puede deberse a la surgencia de formas teratológicas (deformadas), por ejemplo, *Eunotia exigua* (Greenaway *et al.*, 2012; Luís *et al.*, 2016).

Sería importante también evaluar la recuperación de los ríos después de trabajos de remediación de áreas mineras, a través del uso de las diatomeas (Smucker y Vis, 2013, DeNicola y Stapleton, 2014, Riato *et al.*, 2018), verificándose si las especies de las comunidades cambian de encuentro a las condiciones de referencia, previas a los trabajos de explotación minera.

A pesar de las condiciones físicas y químicas extremas, algunos otros tipos de algas crecen bien en este ambiente y permite la formación de algunas comunidades. La división *Chlorophyta* incluye especies como *Klebsormidium* sp., *Mougeotia* sp., *Zygnema* sp., *Ulothrix* sp., *Euglena mutabilis*, típicamente dominante en aguas afectadas por AMD (Niyogi *et al.*, 2002; Aguilera 2013; Johnson y Aguilera, 2016).

Organismos superiores son raros en estos sistemas, con la excepción de algunos invertebrados (Havas y Hutchinson, 1983), plantas vasculares (Fyson, 2000; Márquez-García *et al.*, 2012; Canalejo *et al.*, 2011), y sólo un reducido número de bacterias, hongos, y especies de algas resistentes (Whitton y Diaz, 1981; DeNicola, 2000; Gross y Robbins, 2000; Robbins, 2000).

3.2.2 Índices diatomológicos para la evaluación de la calidad de las aguas afectadas por AMD

Como ya ha sido dicho en este capítulo, las diatomeas son utilizadas a nivel global como bioindicadoras de la calidad del agua. Pero, hay que convertir la respuesta de estas comunidades en gradientes de presión (Kelly *et al.*, 2008), gradientes definidos por diferentes variables con un determinado valor medible, como, por ejemplo, variables importantes como los índices de diversidad y índices saprobios, simplificando de esta manera la compleja ecología de los sistemas fluviales (Delgado, 2011).

El índice de diversidad de Shannon-Wiener Index (H') (que varía métricamente entre 0 a 5) es el más simple y más extensamente usado para cuantificar la diversidad de una comunidad, siendo también útil para caracterizar las comunidades de diatomeas en ambientes afectados por Drenaje Ácido de Mina, como son ejemplo los trabajos de Reiss y Krönche (2005), Urrea-Clos y Sabater (2009), Luís *et al.* (2009), donde el índice H' ha presentado valores bajos.

Los índices saprobios más importantes son, IPS, IBD, TDI. Permiten el cálculo de variados índices basados en la composición de especies y su relación con las variables físico-químicas. IPS, Specific Polluosensitivity Index (CEMAGREF, 1982); CEE [(CEC) Commission for Economical Community Índex] (Descy y Coste, 1991); TDI, Trophic Diatom Index (Kelly, 1998), EPI-D, Diatom-based Eutrophication/Pollution Index (Dell'Uomo *et al.*, 1999), y el más reciente el IBD (Biological Diatom Index) propuesto por (Prygiel y Coste, 2000) y es lo más rutinariamente usado en las agencias de monitorización de aguas.

A pesar de la utilidad de estos índices, algunas veces no pueden ser aplicados con carácter global sin adaptaciones, ya alertada hace dos décadas, Prygiel *et al.* (1999).

Por esta razón algunos países han desarrollado o están desarrollando otros índices diatomológicos adaptados a sitios contaminados por AMD en sus regiones geográficas, como por ejemplo en Australia, donde Schowe y Harding (2014) han desarrollado los índices, *single biotic index* (pHBI) y *multimetric index* (*Diatom Mine Pollution Score* [DMPS]). Otros autores como Dong *et al.*, (2015), han desarrollado un índice de integridad biótica basado en diatomeas (AMD-DIBI) para evaluar las condiciones ecológicas, cuantificar la afección del AMD y medir la efectividad de la restauración.

Para España, se han ido desarrollando algunos índices de diatomeas. En 2010 se desarrolló un índice de diatomeas para los ríos gallegos, el MDIAT (Delgado *et al.*, 2010), que es basado en la similitud de la composición de especies en los locales de referencia. En 2012, otro específico para aguas temporales de las Islas Baleares, el DIATMIB para ser aplicado sólo en los arroyos baleáricos (Delgado *et al.*, 2012). Posteriormente, en 2013, se publicó el índice DDI para la cuenca del Duero (Álvarez-Blanco *et al.*, 2013).

Sin embargo, y a pesar de que se ha escrito mucho acerca de cómo las taxocenosis de diatomeas pueden indicar una perturbación por AMD (Sabater, 2000; Sabater *et al.*, 2003; Nakanishi *et al.*, 2004; Falkenhayn, 2007; Morin *et al.*, 2008, 2012; Hirst *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2008; Guasch *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2013; Luís *et al.*, 2013; Masmoudi *et al.*, 2013), los estudios en el desarrollo de índices de diatomológicos específicos para la contaminación por AMD son muy

recientes (Fernández *et al.*, 2018), necesitando un desarrollo considerable. Pues las diatomeas responden bien a los cambios en los niveles tróficos y saprobios del agua, así como a los cambios en el pH, pero no puede diferenciar aguas con diferentes niveles de metales: la peor calidad de agua dada por los índices comunes (IPS, IBD, TDI) ni siempre es donde se registraron las concentraciones más altas de metales (Luís *et al.* 2009). Por esto y a pesar de ser mencionados en este capítulo de revisión de antecedentes, los índices sapróbicos no serán calculados, en este trabajo.

Así siendo, el estrés metálico no se puede detectar con los métodos estándares europeos actuales que utilizan bioindicadores para la evaluación ambiental, por lo que es necesario desarrollar nuevas herramientas de uso de otros componentes celulares para evaluar la toxicidad metálica (Gonçalves *et al.*, 2019), los cuales ya no se encuentran en el ámbito de este estudio.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño de la red de muestreo y planificación

Delimitada la zona de estudio y conocidas las relaciones hídricas, se seleccionaron los puntos y los períodos en los que se tomarían las muestras. Para el diseño de la red de muestreo, se parte de una serie de embalses ubicados en la Faja Pirítica Ibérica ya estudiados y descritos desde el punto de vista estrictamente hidrogeoquímico por Santisteban (2015) debido a su afección por procesos AMD.

En un primer estudio previo, se ha hecho un muestreo de aguas, sedimentos y diatomeas de 4 embalses (Aguas Ácidas, Gossan, Sancho y Andévalo) de 2 en 2 semanas, entre octubre de 2011 y mayo de 2012, partiendo de la hipótesis de que en estos embalses existe una marcada variabilidad en las condiciones químicas de las aguas.

Posteriormente, la red de muestreo ha sido ampliada para 23 puntos (tabla 4.1). Los puntos de muestreo se han establecido en aquellas zonas del embalse donde el sustrato se encontraba cubierto por las aguas (Figura 4.1). Una vez identificados los puntos de muestreo, se fijaron sus posiciones tomando las coordenadas geográficas con un GPS (Garmin GPSMAP 76 CX) para facilitar la localización posterior. A continuación, se elaboró un mapa mediante el programa informático ArcMap 10.1 y el sistema de coordenadas ETRS89 Zone 29N (coordinate system) para identificar cada punto en la red de muestreo diseñada (figura 4.2).

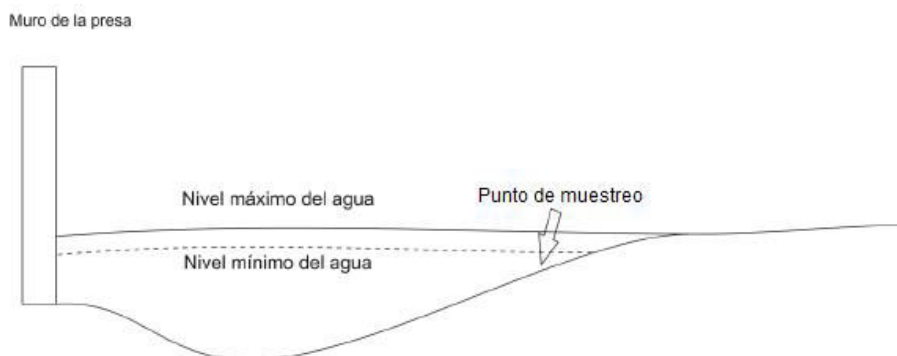


Figura 4.1 Punto de muestreo en el embalse (Santisteban, 2015)

La toma de muestras se desarrolló en una campaña que abarcó la primavera del año hidrológico 2011/2012, realizándose el muestreo los días 5, 6, 7 y 9 de marzo de 2012.

Tabla 4.1 Coordenadas de los puntos de muestreo de los diferentes embalses

Embalses	Huso 29	Embalses	Huso 29
Andévalo-Cobica	650803-4167417	Herrerías	651471-4165235
Andévalo-Chorrito	649240-4165762	Garnacha	678806-4186885
Agrio	738737-4161112	Grande	666764-4163634
Aguas Ácidas	666964-4163520	Lagunazo	662731-4165639
Chanza	637578-4173754	La Joya	673647-4180222
Campanario	691692-4155967	Marismillas	715238-4175219
Corumbel	717217-4147612	El Sancho	670111-4147929
Dique II	651387- 4165068	Olivargas	692476-4182511
Silillos I	700515- 4162637	Cueva de la Mora	693586-4180337
Silillos II	701078 -4161423	Puerto León	689958-4176833
Dique I	651528- 4164736	Gossan	712690-4179052
Del Pino	6667841- 4162493		

Algunas consideraciones a tener en cuenta para la definición de los puntos de muestreo fueron:

Los embalses denominados “Andévalo-Cobica” y Andévalo-Chorrito” corresponden a dos puntos de muestreo del embalse del Andévalo correspondientes a la confluencia con el Arroyo Cobica y con el Arroyo Chorrito, respectivamente (figura 4.2).

En el embalse Olivargas se han establecido dos puntos de medida, uno de ellos justo en la confluencia del río Olivargas con el embalse Olivargas, al que se le ha denominado en el presente estudio como embalse “Olivargas”, y otro punto, en la confluencia del Barranco de la Malena con el mismo embalse, al que se le ha denominado embalse “Cueva de la Mora” (figura 4.2).

El embalse Grande recibe aportes de unas escombreras situadas en uno de sus márgenes, pertenecientes al complejo minero de Tharsis. Para la recogida de los lixiviados ácidos de las escombreras, existe una regola perimetral

que los conduce hasta una pequeña presa artificial a la que se ha denominado “Aguas Ácidas” por no poseer nombre conocido (figura 4.2).

En el embalse Herrerías existen dos diques artificiales que produjeron la subdivisión de éste en tres: el propio embalse “Herrerías”, como se conoce al conjunto completo, y los embalses “Dique I” de Pedrianes y “Dique II” de En Medio. Todos ellos han sido muestreados (figura 4.2).

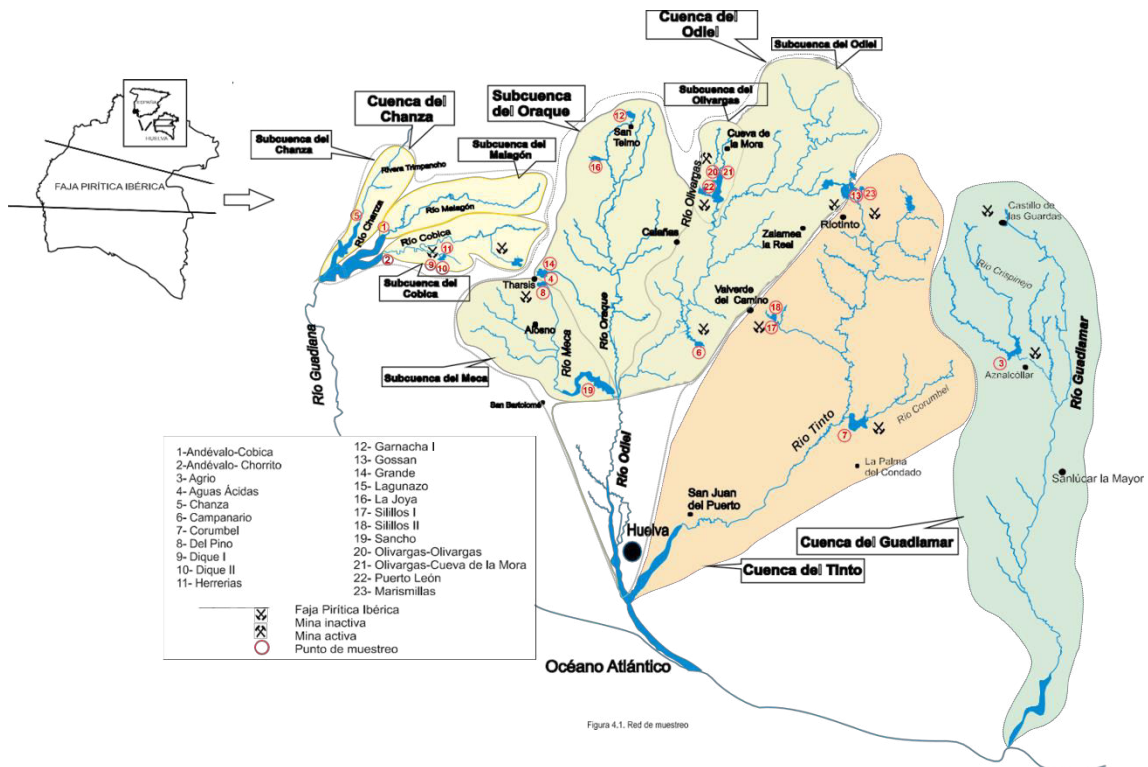


Figura 4.2 Red de muestreo

4.2. Muestreo, tratamiento y análisis de las muestras de agua

4.2.1. Muestreo de agua

En cada uno de los puntos de muestreo definidos, se tomaron dos muestras de agua en botes de 100 ml de polietileno esterilizados, una para la determinación de sulfatos y otra para la determinación de metales pesados y metaloides (Al). Ambas muestras fueron filtradas en campo y, además, la muestra tomada para la determinación de la carga metálica fue acidulada con HNO₃ mediante una pipeta Pasteur hasta conseguir un pH < 2 para evitar la

precipitación de los metales durante el transporte hasta laboratorio para su posterior análisis. Este transporte se realizó en un refrigerador portátil a 4°C.

4.2.2. Tratamiento y análisis de las muestras de agua

4.2.2.1. Selección de parámetros

En las muestras de agua recogidas se determinaron los siguientes parámetros:

- pH, conductividad, total de sólidos disueltos (TSD), oxígeno disuelto (OD) y potencial redox (EH), como indicadores de las características físicas y químicas de las aguas. Son de gran valor para dar una idea general de la afección que el drenaje ácido de mina produce en cada punto.
- Metales y metaloides, por tratarse de elementos de gran toxicidad a partir de ciertas concentraciones, que se encuentran asociados a la contaminación por AMD, ya que son los elementos que conforman la mayor parte de las formas minerales presentes en los sulfuros masivos de la Faja Pirítica Ibérica. Los elementos analizados fueron: Fe, Cu, Co, Ni, Cd, Pb, Zn, Mn, As, Sb, Al.
- Sulfatos, como uno de los principales productos generados en los procesos geoquímicos de tipo AMD. Se trata en estos casos del anión predominante, y su concentración puede ejercer gran influencia sobre las reacciones químicas que se generan.

4.2.2.2. Tratamiento de las muestras de agua y medidas en campo

En el mismo momento de la recogida de la muestra de agua, se determinaron *in situ* los parámetros de pH, conductividad, temperatura y total de sólidos disueltos (TSD) mediante el uso de un equipo multiparamétrico portátil (CrisonMM40) (figura 4.3). Antes de su utilización, los electrodos se calibraron y testaron, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (figura 4.4).



Figura 4.3 Equipo multiparamétrico CrisonMM40

Todas las muestras de agua ya filtradas fueron almacenadas en botes de polietileno herméticamente cerrados, transportadas, mantenidas en la oscuridad y refrigeradas a una temperatura de entre 1 y 4°C hasta su análisis.



Figura 4.4 Calibrado del equipo en campo

4.2.2.3. Tratamiento y métodos analíticos en laboratorio

En el laboratorio, todos los reactivos empleados fueron de grado analítico o de calidad Suprapure (Merck, Darmstadt, Germany). Las soluciones estándar fueron Merck Certificado AA (Merck). En todos los experimentos se utilizó agua Milli-Q (Distiller AC-L4. Optic Ivymen System).

Para la determinación de la concentración de sulfatos se empleó un fotómetro de Macherey-Nagel (Fotómetro FP-11) (figura 4.5). La determinación

se basa en el método turbidimétrico, según el cual el sulfato contenido en una muestra reacciona con cloruro bórico en medio ácido. La precipitación en forma de cristales de sulfato de bario es susceptible de ser medida por la absorbancia lumínica que produce.



Figura 4.5 Fotómetro para análisis de sulfatos

El equipo empleado para la realización de los análisis de los metales fue un Espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin-Elmer AAS (AAAnalyst modelo 800) equipado con un atomizador de llama de aire-acetileno y con un horno de grafito (figura 4.6). El arsénico fue determinado con generador de hidruros. La introducción de las muestras se llevó a cabo utilizando el inyector automático Perkin-Elmer (modelo AS800). Las lámparas de cátodo hueco (HCL) y de descarga de electrones (EDL) se utilizaron como fuentes de radiación (Perkin-Elmer Lumina™)..



Figura 4.6 Absorción Atómica Perkin-Elmer AAS (AAAnalyst 800)

La espectroscopia de absorción atómica usa la absorción de la luz para medir la concentración de la fase gaseosa de los átomos. Ya que la mayoría de las muestras son sólidas o líquidas, los átomos o iones de los analitos deben ser evaporizados a la llama o en un horno de grafito. El aporte energético más utilizado es la llama, pero en las ocasiones en las que se necesita mayor sensibilidad sustituimos la llama por la cámara de grafito.

Cuando una muestra se atomiza, una importante fracción de los constituyentes metálicos se transforman en átomos gaseosos. Según la temperatura del atomizador, una cierta fracción de esos átomos se ionizan, originando así una mezcla gaseosa de átomos e iones elementales. Los átomos absorben luz visible o ultravioleta y hacen transiciones a niveles de energía más altos. La concentración del analito es determinada por la cantidad de adsorción. Las mediciones de concentración son generalmente determinadas mediante una curva de calibración, después de haber calibrado el aparato con los estándares de concentración conocida.

4.3. Muestreo, tratamiento e identificación de diatomeas

4.3.1. Muestreo de diatomeas

El método de muestreo debe garantizar el cumplimiento de los requisitos normativos que establece la Directiva Marco del Agua (European Community (EC), 2000), que contempla la implementación de regulaciones ambientales y ecológicas. Por otro lado, el Real Decreto 907/2007, de 6 de julio, por el que se aprueba el Reglamento de la Planificación Hidrológica; así como la Orden ARM/2656/2008, de 10 de septiembre, por la que se aprueba la Instrucción de Planificación Hidrológica para la protección de los recursos hídricos han sido las normativas españolas usadas en esta tesis.

Las diatomeas bentónicas que crecen adheridas a rocas (epilíton) son las preferibles y recomendadas como sustrato de muestreo para el análisis de la comunidad de diatomeas bentónicas (Kelly *et al.*, 1998; Prygiel and Coste, 2000; CEN, 2003; Dares, 2004). Cuando este sustrato no está disponible debe efectuarse la toma de las muestras epifíticas (adherentes a la superficie de las plantas) o epipsámicas (adheridas a la superficie del sedimento) (King *et al.*, 2006). En este estudio, el muestreo de la comunidad epipsámica se efectuó en

condiciones de visibilidad del sustrato (sedimento) sumergido ya que no se disponía de rocas (figura 4.7) en todos los puntos de muestreo, y de sedimento como medio muestral. Así, en cada punto definido, las diatomeas fueron extraídas mediante una jeringa (20 ml muestra + 20 ml agua), asegurando la aspiración de la capa superficial (primeros 5-10 mm) que es la fotosintéticamente activa y asegurando, que el sustrato haya estado permanentemente sumergido (Sabater *et al.*, 2009). Se evitaron las aguas estancadas y sitios sombreados. De esta manera, se obtuvieron un total de 40 ml de muestra en cada punto de muestreo, que se depositaron en botes de polietileno esterilizados y debidamente rotulados. Las muestras fueron fijadas en campo con el fijador Lugol (5g de lodo + 10g de Ioduro de Potasio, en 100 ml de agua ultra-pura).

Una vez se añadió el Lugol, se conservaron las muestras en la oscuridad para minimizar su sublimación. No necesitó refrigeración hasta llegar al laboratorio donde se le añadió formol (5-10%) como conservante más eficaz hasta el traslado a la Universidad de Aveiro donde se procedió a su preparación y tratamiento y posterior identificación.

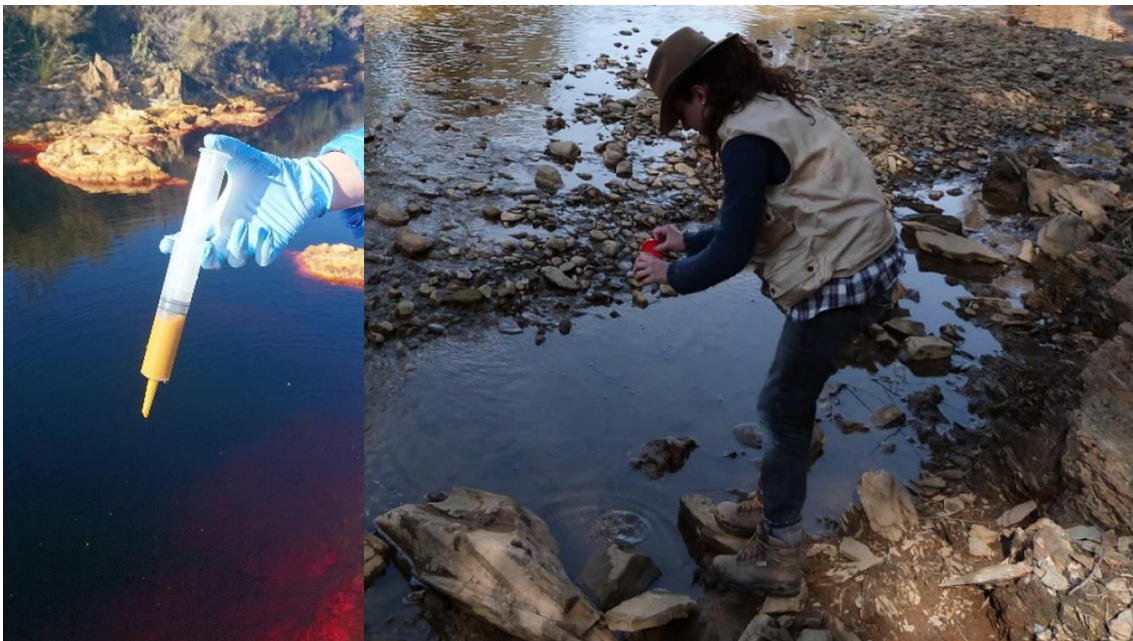


Figura 4.7 Recogida de muestras de diatomeas

4.3.2. Tratamiento de las muestras de diatomeas

Una vez en el laboratorio de Ficología del Departamento de Biología de la Universidad de Aveiro, se procedió al tratamiento y montaje de las muestras de

diatomeas para su posterior identificación que, ha consistido en la oxidación de la muestra con ácido nítrico al 65% y dicromato potásico (INAG, 2008), para eliminar la materia orgánica celular. Un paso previo a la oxidación ha sido una centrifugación de 2mL de la muestra con agua destilada para retirar el Lugol. Después, se añadieron de 4-6 ml de ácido nítrico y una pequeña cantidad de dicromato potásico ($K_2Cr_2O_7$), en polvo. Se dejó actuar durante 24h, a temperatura ambiente. A continuación, se eliminó el ácido de las muestras oxidadas centrifugando durante 5 minutos a 1500 rpm, en tres ocasiones. En cada centrifugado, se eliminó el sobrenadante y se añadió agua destilada para eliminar todos los restos de ácido.

Se dejaron secar a temperatura ambiente aproximadamente 0.5 ml de cada muestra sobre un cubre. Estos cubres fueron después superpuestos a los portas de vidrio usando como medio de montaje la resina Naphrax[®] a fin de obtener las preparaciones definitivas (figura 4.8).

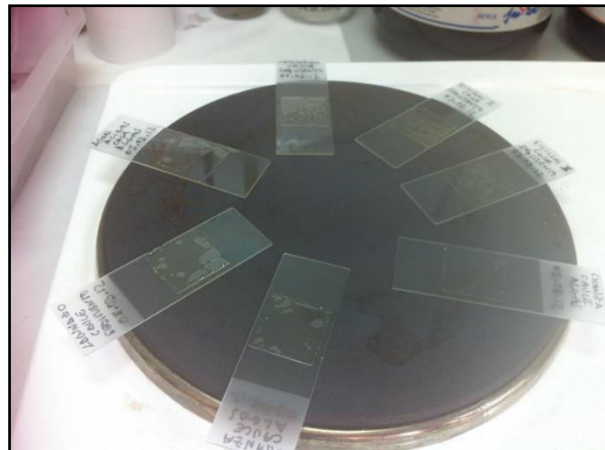


Figura 4.8 Proceso el montaje de las muestras en Naphrax

4.3.3. Identificación de las comunidades de diatomeas

Las identificaciones y recuento se realizaron tanto en la Universidad de Aveiro como en la Universidad de Huelva.

Las diatomeas fueron identificadas al máximo nivel taxonómico posible usando un microscopio óptico (Olympus CH30, objetivo de inmersión 100X) con apertura numérica 1.25., en la Universidad de Huelva y un microscopio óptico (Leitz Biomed 20 EB, objetivo de inmersión 100X) con apertura numérica 1.32., en la Universidad de Aveiro.

La identificación se llevó a cabo basándose en las floras algales Krammer and Lange-Bertalot (1986; 1988; 1991a; 1991b), Lange-Bertalot (1993, 2001) y Prygiel & Coste (2000). Se han contado un mínimo de 400 valvas de diatomeas por muestra (Alverson *et al.*, 2003).

4.3.4. Obtención de imágenes de las especies más relevantes

Se tomaron micrografías de las especies más relevantes. En la Universidad de Huelva, se le incorporó una cámara (Digital Camera for Microscope DCM900 (USB2.0) 9M. pixels, CMOS chips) al microscopio óptico (figura 4.9); en la Universidad de Aveiro las micrografías se realizaron con una cámara Olympus DP70 también acoplada al respectivo microscopio.



Figura 4.9 Cámara para microscopio óptico

4.4 Muestreo, tratamiento y análisis de las muestras sedimento

Las muestras de sedimento se recolectaron manualmente en los mismos puntos que las muestras de agua y diatomeas, representando los primeros 12-15 cm de sedimento del fondo. Después de secar a 40 °C se procedió al tamizado con una malla de acero inoxidable de luz 2 mm, para posteriormente ser analizadas mineralógicamente y la químicamente.

Los análisis mineralógicos se realizaron mediante difracción de rayos X (XRD) con un difractómetro Philips X'pert Pro-MPD, utilizando radiación Cu-K α . Se obtuvieron los difractogramas XRD de finos (fracción <2 mm; fracción <2 μ m) y para agregados orientados (fracción <2 μ m) en el intervalo 3 a 65° 2 θ y 3 a 35° 2 θ , respectivamente. El equipo fue operado con un tamaño de paso de 2 θ de 0.02 ° y un tiempo de conteo de 1,25 s, los datos obtenidos fueron tratados con X'pert Pro-MPD software. La fracción más fina se obtuvo por método sedimentación y la separación del tamaño de partícula basado en la Ley de Stock's. La mineralogía de la arcilla se determinó utilizando las preparaciones orientadas, que fueron sometidas a los siguientes tratamientos: secado al aire, etilenglicol (EG)-diluido y calentado (490 °C).

Los análisis químicos se hicieron fuera, manualmente, usando un mortero de ágata para después ser analizadas por (ICP / MS), después de una extracción con HF + HClO₃ + HNO₃ + HCl. Estos análisis se realizaron en los laboratorios de los Servicios Centrales de I + D + i del Universidad de Huelva, incluido el análisis de muestras duplicadas y blanco para verificar la precisión.

4.5 Tratamiento gráfico-estadístico

4.5.1 Tratamiento gráfico-estadístico clásico

En este capítulo, se exponen los diferentes análisis gráficos y estadísticos al que han sido sometidos los datos obtenidos.

Para el análisis gráfico de la diversidad y características ecológicas de las especies, se ha utilizado el programa OMNIDIA (versión 5.3).

En los siguientes apartados quedan descritos los diferentes tratamientos aplicados mediante el uso de los soportes informáticos STATGRAPHICS Centurion XVI; Predictive Fuzzy Rules Generator (PreFuRGe); PRIMER v.6 (Primer 6, Primer-E Ltd, Plymouth, UK) (Clarke y Gorley, 2006) y PERMANOVA+ (Anderson *et al.*, 2008).

4.5.1.1 Resumen estadístico

Se describen los parámetros estadísticos más importantes de las variables para esta investigación, como son la media, máximo y mínimo de cada variable y la varianza.

Esta herramienta ha sido ampliamente implementada en medios AMD por Cerón *et al.*, (2013b), de la Torre *et al.*, (2014a,b); Grande *et al.*, (2013b, 2014a,b; 2016; 2017; 2018; 2019); Luís *et al.*, (2019); Santisteban *et al.*, (2012, 2014a,b; 2016; 2019).

4.5.2 Análisis multivariable

Kendall (1975) define el análisis multivariable como el “conjunto de técnicas estadísticas que analizan simultáneamente más de dos variables en una muestra de observaciones”. Uno de los objetivos fundamentales de la aplicación de este análisis, según Bisquerra (1989), se centra en resumir y sintetizar grandes grupos de datos y variables, en función de ciertos objetivos, con el fin de obtener informaciones válidas que permitan una mejor comprensión del fenómeno objeto de estudio.

4.5.2.1 Análisis Cluster

El término de análisis clúster se utiliza para definir una serie de técnicas que tienen por objeto la búsqueda de grupos similares de variables, que se van agrupando en conglomerados en función de las proximidades entre ellas. Dada una muestra de individuos, de cada uno de los cuales se dispone de una serie de observaciones en base a sus coeficientes r de Pearson, el análisis clúster sirve para clasificarlos en grupos lo más homogéneos posible según sus proximidades.

Para el análisis cluster de las variables obtenidas se ha empleado un método “jerárquico”, que permite la construcción de un árbol de clasificación denominado “dendrograma”, y “aglomerativo”, que comienza el análisis con tantos grupos como variables haya y continúa formando grupos de forma ascendente, para razones de proximidad sucesivamente menores. De este modo, al final del proceso todos los casos (variables o puntos de observación) están englobados en un mismo conglomerado.

4.5.2.2 Análisis dbRDA y SIMPER

Por otro lado, con aglomeración, se ha escogido como medida de proximidad la “distancia euclidiana” que es la raíz cuadrada de la suma de las diferencias entre las variables al cuadrado, y como método aglomerativo el de “vecino más cercano”, que calcula la media de todas las variables de cada clúster. A continuación, calcula la distancia euclidiana entre cada individuo y la media de su grupo, sumando después las distancias de todos los casos (Bisquerra, 1989). En cada paso, los clústeres que se forman son aquellos que resultan con el menor incremento en la suma total de las distancias intraclúster.

Con el programa PRIMER v.6 han sido usadas dos matrices independientes: 1) una biológica, la matriz de distancia de similitud de Bray-Curtis ha sido calculada, a través de una primera matriz con la % de abundancia de todos los 118 taxones, transformada de raíz cuadrada, para retener valores cero y equilibrar la contribución de las especies raras y dominantes; 2) para los datos normalizados de las 16 variables ambientales (pH, temperatura (T), conductividad eléctrica (CE), sólidos disueltos totales (TDS), metales / metaloides (Al, As, Fe, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Sb, Zn) y SO_4^{2-}), se calculó la matriz de distancia de similitud euclidiana.

Después, se realizó un análisis de redundancia basado en la distancia (dbRDA) para encontrar combinaciones lineales de las variables predictoras, que explican la mayor variación ahora en los datos de una matriz global de los 118 taxones-23 muestras-16 variables ambientales. El análisis de redundancia basado en la distancia (dbRDA) es un método para llevar a cabo ordenaciones restringidas en datos utilizando medidas de distancia no euclidianas. dbRDA evita este problema utilizando un proceso de tres pasos: primero, se calcula una matriz de distancia utilizando la medida de distancia elegida. A continuación, se realiza un análisis de coordenadas principales (PCoA) en la matriz. Finalmente, los valores propios obtenidos en el PCoA se conectan a una RDA.

El análisis SIMPER se utilizó para discriminar las especies responsables por la mayor contribución de la disimilitud de Bray-Curtis en la abundancia de diatomeas entre las muestras dentro de cada uno de los cuatro grupos de pH, primeramente discriminados en la dbRDA.

4.6. Fuzzy logic

La Fuzzy Logic (o Lógica Borrosa en español) es una herramienta avanzada que permite interpretar la enorme complejidad de los procesos de AMD.

Las técnicas Fuzzy Logic permiten la extracción de información significativa (y a veces desconocida), basada en los datos almacenados utilizados, y los resultados obtenidos pueden ir más allá de la información obtenida con las técnicas estadísticas clásicas (Hand, 1998).

Mediante el uso de metodologías basadas en lógica difusa, los resultados obtenidos pueden interpretarse como lo haría un humano (Furuhashi *et al.*, 2001; Guillaume, 2001; Nakajima, 1996). La lógica difusa (Zadeh, 1965) opera utilizando reglas de razonamiento bastante similares a la forma de pensar imprecisa, intuitiva y humana, permitiendo caracterizar variables sin especificar un valor preciso utilizando un grado de membresía, algo que no es posible con la lógica clásica (binaria).

4.6.1 Fuzzy clustering

Los algoritmos de agrupamiento (Fuzzy Clustering) (Kaufman *et al.*, 2009) clasifican un conjunto de datos en grupos en los que sus elementos son más similares a otros elementos en el resto de grupos.

Los algoritmos de agrupamiento clásico usan la llamada partición rígida derivada de la teoría de conjuntos clásica, donde cada elemento se asigna a un grupo (el grado de membresía de cada elemento solo puede tomar el valor 0 o 1).

En algoritmos de Fuzzy Clustering (Hathaway y Bezdek, 1993), la calificación de membresía de cada elemento puede tomar valores reales entre 0 y 1 (calificación de membresía parcial), por lo tanto, un elemento puede pertenecer a más de un grupo. Uno de los algoritmos de agrupación difusa más utilizados es el algoritmo de c-medias difuso (FCM) (Hathaway y Bezdek, 1993; Fukuyama y Sugeno

4.6.2 Metodología PreFurGe

La herramienta informática PreFuRGe analiza el conjunto de datos proporcionado, de modo que el parámetro objetivo seleccionado (consecuente), se organiza en un número óptimo de grupos difusos (Fukuyama y Sugeno, 1989). Luego, cada grupo difuso se proyecta sobre el espacio antecedente (Sugeno y Yasukawa, 1993), para determinar el grado de membresía de los antecedentes de los grupos difusos. Finalmente, una vez que se determinan los valores descritos anteriormente, se generan las reglas difusas gráficas (figura 4.10).

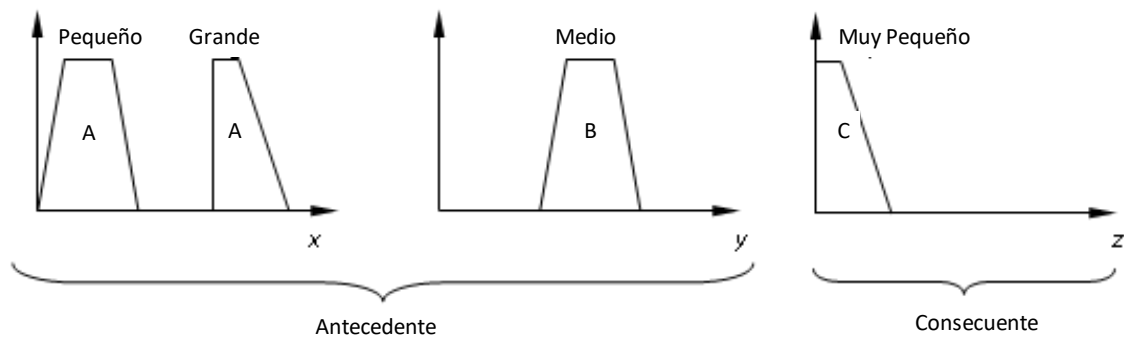


Figura 4.10 Ejemplo gráfico de las reglas difusas

Pero el primer paso antes del procesamiento de datos es la selección de los parámetros objetivos cuyo comportamiento es de interés para los expertos (es decir, XX, YY, ZZ...). Estos parámetros objetivo serán los consecuentes en las reglas difusas obtenidas y, por lo tanto, el resto de parámetros serán los antecedentes (Figura 4.10).

PreFuRGe proporciona una salida gráfica que permite una fácil interpretación de las reglas difusas en lenguaje natural. En cada regla difusa gráfica: el conjunto difuso asignado a cada parámetro está representado por un trapecio, los valores de los parámetros están representados en el eje X de cada conjunto difuso y el grado de pertenencia a un grupo está representado en el eje Y. La regla difusa representada en la Figura 4.10 se interpretaría de la siguiente manera: Si A es pequeño o grande, y B es medio entonces C es muy pequeño.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Introducción

En este apartado se muestra la masa de datos, tratamientos y resultados obtenidos que ha permitido además de la elaboración de esta Tesis Doctoral, publicar tres artículos científicos en revistas indexadas en bases de datos con índice de calidad relativo.

Los resultados preliminares presentados en este capítulo tienen como base un muestreo de aguas, sedimentos y diatomeas de 4 embalses (Aguas Ácidas, Gossan, Sancho y Andévalo) de carácter quincenal, entre Octubre de 2011 y Mayo de 2012, partiendo de la hipótesis, contrastada en la dilatada experiencia del equipo de trabajo y en la literatura científica, de que en estos embalses existe una marcada variabilidad en las condiciones químicas de las aguas, caracterizadas por un pH ácido hasta extremo ácido, alta conductividad y concentraciones muy elevadas de metales lo que, a priori, entendimos que debería condicionar la aparición de comunidades de diatomeas muy diferentes a las que se encuentran en otros con características hidroquímicas típicas de aguas con bajos contenidos en metales y pH más próximos a la neutralidad.

Los resultados que aquí se presentan, proceden de tres masas de datos independientes correspondientes a una sola la campaña de muestreo realizada en marzo de 2012, en 23 embalses. Estas tres grandes masas de datos se han elaborado teniendo en cuenta el objetivo fundamental de la Directiva Marco del Agua (DMA). La DMA ha supuesto un profundo cambio en los programas de control de calidad de las aguas en Europa, incorporando indicadores biológicos e hidromorfológicos, aparte de los físicos-químicos que ya existían, siendo una de las principales finalidades de la Directiva la consecución y mantenimiento del buen estado ecológico y químico de las aguas superficiales. Por tanto, estos resultados pretenden contribuir a la consecución de la mejora en el control de la calidad de las aguas.

Las 3 masas de datos de marzo 2012 se agrupan de la siguiente manera:

- Masa de datos físico-químicos medidos en campo (pH, Temperatura, Conductividad Eléctrica y Total de Sólidos Disueltos) obtenidos en cada uno de los 23 embalses;

- Masa de datos químicos determinados en laboratorio (Sulfatos, Hierro, Cobre, Zinc, Manganeso, Cadmio, Níquel, Cobalto, Plomo, Arsénico, Antimonio y Aluminio) en cada uno de los 23 embalses;
- Masa de datos biológicos (Especies de diatomeas identificadas y sometidas a recuento en cada muestra epipsámica recogidas en los 23 embalses).

A partir de estas tres masas de datos se han ido obteniendo los diferentes resultados en función de las aplicaciones realizadas. La investigación ha ido permitiendo la obtención de conclusiones parciales que han sido enseñadas mediante la publicación de artículos científicos.

Estos embalses representan un laboratorio natural excepcional para el estudio de procesos biogeoquímicos atípicos, permitiendo así investigar cómo responden los medios naturales a la contaminación por Drenaje Ácido de Mina (DAM). Este conocimiento es fundamental para establecer una estrategia de evaluación, diagnóstico de afección, y posteriores propuestas de remediación y prevención de este tipo de contaminación.

5.2. Estudio previo de caracterización de los 4 embalses seleccionados

La contaminación de las aguas por AMD es un proceso complejo que requiere el estudio de una serie de indicadores ambientales. Indicadores químicos, físicos, mineralógicos y biológicos que se han analizado profundamente en este capítulo.

En un primer estudio, en un intento de entender las peculiaridades de estas masas de agua, se realiza un tratamiento previo de cuatro embalses que por sus características distintas: 2 presas mineras, Gossan y Aguas Ácidas, 1 presa de uso industrial, Sancho, y 1 de agua para consumo humano, Andévalo, han merecido una atención particular. De este primer estudio, ha resultado una primera publicación internacional, además de alguna ponencia en Congreso.

Se expone a continuación la descripción de los embalses seleccionados para que se pueda entender en más detalle, las peculiaridades de estos. Los

datos relativos a las dimensiones y capacidad de cada presa han sido recogidos de la Asociación Nacional de Presas y Embalses.

- Presa de Gossan

Este embalse se localiza en el río Rejondillo, perteneciendo a la Cuenca del Odiel, y localizado en el Complejo Minero de Riotinto.

La presa ha sido construida en el año 1977 para el almacenamiento de los estériles de tratamiento de las plantas de concentración de cobre. El tipo de presa es de materiales homogéneos sueltos, eran procedentes de la propia planta mineralúrgica de la mina a la salida de las balsas de flotación diferencial, con lo que además de los elementos disueltos característicos de medios AMD, las aguas presentan altas concentraciones de sustancias como espumantes, colectores, depresores...etc, empleadas en la planta para la separación de mena y ganga. Tiene un área de 415m² y se llena con agua que es utilizada como depósito intermedio en el sistema de recuperación del agua. Se encuentra dividida en dos por la carretera de Riotinto-Campofrío. El valor de pH medio anual es de 2,65.

- Presa de Andévalo

Esta presa se sitúa pertenece a la cuenca del río Guadiana y recoge agua de los ríos Malagón y Albahacar (no contaminados) y Cobica afectado por AMD procedente de Mina Lagunazo y de la Mina Herrerías (Grande, 2016). Se trata de una presa de materiales sueltos construida en el 2003, cuya impermeabilización se consigue con arcilla.

El área de la cuenca es de 738 Km², siendo la tercera mayor presa de la región. El perímetro del embalse es de 240Km. Tiene una altura de 69,5 m y longitud de coronación 1830 m. Su capacidad de almacenamiento es de 600 hm³. Contiene un desagüe con capacidad de 135 m³/s.

La presa se construye ante la necesidad de incrementar los recursos regulados necesarios para consolidar y garantizar los aumentos de las demandas urbanas, industrial y agrícola de la provincia de Huelva, tratando de paliar la explotación de los acuíferos costeros. También tiene por objeto aumentar capacidad de regulación total del río antes de la presa existente en el

río Chanza situado unos centenares de metros aguas debajo de la Presa de Andévalo.

Hemos de hacer constar que en el momento de muestreo de estas aguas, los puntos 4 (Andévalo Cobica) y 3 (Andévalo Chorrillo), ver figura 4.2., se encontraban sobre afluentes mineros de pH muy bajo al estar por debajo de la cota de colmatación de la Presa ya que estaba en construcción y actualmente estos puntos pertenecen ya al cuerpo de presa con valores de pH próximos a 6,5 por encontrarse la presa completada su construcción y a pleno rendimiento.

- Presa de Sancho

Ha sido construida en el río Meca, afluente del Odiel. Fue terminada en 1962, su capacidad a nivel máximo normal es de 58,80 hm³ y la superficie del embalse es de 427 ha. La altura desde cimientos es de 50 m y su longitud de coronación de 224 m.

El agua de la presa comenzó a acidificarse como consecuencia de recibir el aporte de aguas contaminadas por AMD procedentes del complejo minero Tharsis y de la mina La Lapilla que vierten sus efluentes al río del río Meca con un pH muy bajo y una elevada carga de metales y sulfatos disueltos.

Desde su construcción la calidad de sus aguas se ha deteriorado de forma progresiva, restringiendo considerablemente el posible uso de este recurso hídrico, llegándose a emplear sólo como agua de refrigeración en la fábrica de papel situada en San Juan del Puerto, a la que provocaba por otro lado serios problemas de corrosión. Como consecuencia directa su comunidad biológica se ha adaptado, de modo que solo pueden subsistir microorganismos capaces de resistir a sus condiciones extremas con valor de pH medio anual de 3,41.

- Presa de Aguas Ácidas

Es un reservorio artificial, localizado en el Complejo Minero de Tharsis, y localizada en la sub-cuenca del Oraque. Ha sido construido para la retención de los lixiviados producidos en las escombreras localizadas a noroeste del depósito de sulfuros de Filón Norte. Su construcción ha empezado en 1956 y fue hecha con residuos mineros e impermeabilizada con arcillas. Con una superficie de 1,4 ha, tiene una capacidad de almacenamiento de 28 000 m³. Actualmente,

además de las lixiviados de residuos mineros, recibe descargas de una planta de tratamiento de aguas residuales urbanas. Para una primera aproximación al carácter de estas aguas, citamos, como e los otros embalses el valor de su pH medio anual que se cifra en 2,5.

5.2.1. Análisis hidroquímico

Los resultados de las analíticas y medidas en campo ya descritas en el apartado de materiales y métodos de este trabajo, se presentan en forma de matrices, así la tabla 5.1 muestra los resultados medios, máximos y mínimos de los valores de pH, CE ($\mu\text{s}/\text{cm}$), TDS (mg/L), SO_4^{2-} (mg/L), Fe (mg/L), Cu (mg/L), Zn (mg/L), Mn (mg/L), Ni (mg/L), As (mg/L) y Pb (mg/L) de las 16 muestras de agua recogidas en cada uno de los cuatro embalses seleccionados.

Tabla 5.1 Valores Hidroquímicos (n=15) (Valente et al. 2016)

	Aguas Ácidas			Andévalo Cobica			Gossan			Sancho		
	Promedio	Min	Máx	Promedio	Min	Máx	Promedio	Min	Máx	Promedio	Min	Máx
pH	2,48	2,31	3,05	3,21	2,34	6,15	2,65	2,38	3	3,41	2,48	5,82
CE ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	6249	2320	7540	1145	286	2350	2634	2523	2740	893	484	2652
TSD (mg/L)	4002	1484	4820	733	183	1507	1662	1237	1753	564	309	1569
SO_4^{2-} (mg/L)	3086	1110	6200	426	99	1310	1416	936	2960	324	84	692
Fe (mg/L)	316	123	526	34,8	0,19	212	34,2	8,21	58,8	4,96	0,023	49,3
Cu (mg/L)	9,05	0,66	18,9	1,39	0,01	5,48	6,31	0,677	14	2,32	0	6,79
Zn (mg/L)	20,1	4,55	55,6	2,31	0,06	7,66	9,5	4,13	17,2	3,89	0,006	9,24
Mn (mg/L)	34	3,65	64,8	3,1	0,25	9,03	10,7	1,33	14,5	3,95	0,173	15,6
Ni (mg/L)	1,22	0,23	2,17	0,08	0	0,208	0,447	0,015	4,9	0,128	0	0,493

As (mg/L)	0,344	0,01	0,944	0,047	0	0,372	0,015	0	0,048	0,37	0	5,78
Pb (mg/L)	0,6	0,14	2,03	0,3	0	1.16	0,387	0,061	1,57	0,331	0,038	1,22

El rango de pH se encuentra desde 2,31 en Aguas Ácidas a 6,15 en Andévalo Cobica. El promedio de pH obtenido en cada embalse hace que muestren el siguiente orden: Aguas Ácidas < Gossan < Andévalo Cobica < Sancho.

Los máximos valores de Totales de Sólidos Disueltos y Conductividad Eléctrica se registran en Aguas Ácidas con 4820 mg/L y 7540 $\mu\text{s}/\text{cm}$ de máximo respectivamente.

Por el contrario, estos parámetros registran los valores más bajos en Andévalo Cobica Con un máximo de 2350 $\mu\text{s}/\text{cm}$ en CE y 1507 mg/L en TSD.

De acuerdo con estos resultados, las concentraciones más altas de sulfatos aparecen en Aguas Ácidas (3086 mg/L). Una vez más, el contenido de sulfato más bajo se obtuvo en Andévalo Cobica (426 mg/L) y Sancho (324 mg/L).

La concentración media de metales es especialmente alta en el embalse de Aguas Ácidas (380 mg/L). El embalse de Gossan también presenta valores medios altos (61,6 mg/L) para metales y arsénico. En Sancho, este valor total es menor, sumando un total de 15,95 mg/L.

En general, las concentraciones medias siguen la tendencia: Fe > Mn > Zn > Cu > Ni > Pb > As.

Los embalses estudiados muestran por tanto evidencias típicas de contaminación por AMD (bajo pH y alto contenido de sulfato y metales).

Las concentraciones más altas de metales, arsénico y sulfato se producen en las dos presas mineras, especialmente en Aguas Ácidas. Estos dos embalses, presentan valores que superan la máxima concentración establecida por la Directiva 75/440/CEE, y, por lo tanto, tienen el mayor grado de contaminación de acuerdo con el modelo propuesto por Grande (2011).

5.2.2. Análisis de los sedimentos

Los sedimentos caracterizados mineralógicamente mediante difracción de rayos X (XRD en la literatura anglosajona), fueron determinados al mismo tiempo que las aguas.

Se ha observado que la mineralogía de los sedimentos, en la fracción <2mm, está comúnmente dominada por cuarzo, plagioclasa y mica. Estos son las tres fases más abundantes, que representan más del 70% de los minerales, excepto en Aguas Ácidas (figura 5.1.). En este embalse, son especialmente abundantes, sin embargo, los minerales de hierro, hematita (46%) y jarosita (15%). También aparece la jarosita secundaria en la Presa de Gossan, pero en cantidades más bajas (4%). Se detectó goethita solo en Presa de Gossan (12%) y Andévalo Cobica (6%).

La Figura 5.1. revela las diferencias mineralógicas de los sedimentos de los diferentes embalses en la fracción de tamaño de arcilla. Esta fracción comprendía no solo los minerales arcillosos sino también fases asociadas ricas en hierro, como la jarosita, goetita y hematita. Los minerales arcillosos incluían 1:1 (caolinita) y 1:2 (esmectita).

Los minerales ricos en hierro son más abundantes en Aguas Ácidas, siendo representados por jarosita (67%), hematita y goethita. Aquí, los minerales arcillosos suman menos del 20% de la fracción del tamaño de la arcilla. Por el contrario, en Gossan, el estudio XRD no revela la presencia de jarosita en la fracción de tamaño de arcilla. Sin embargo, la goethita es bastante abundante (67%). Gossan no presenta jarosita. Los otros dos depósitos muestran un conjunto mineral muestran una considerable diferencia: Sancho y Andévalo tienen principalmente minerales arcillosos, como como illita y caolinita y bajos contenidos de goethita (7%) y sin jarosita.

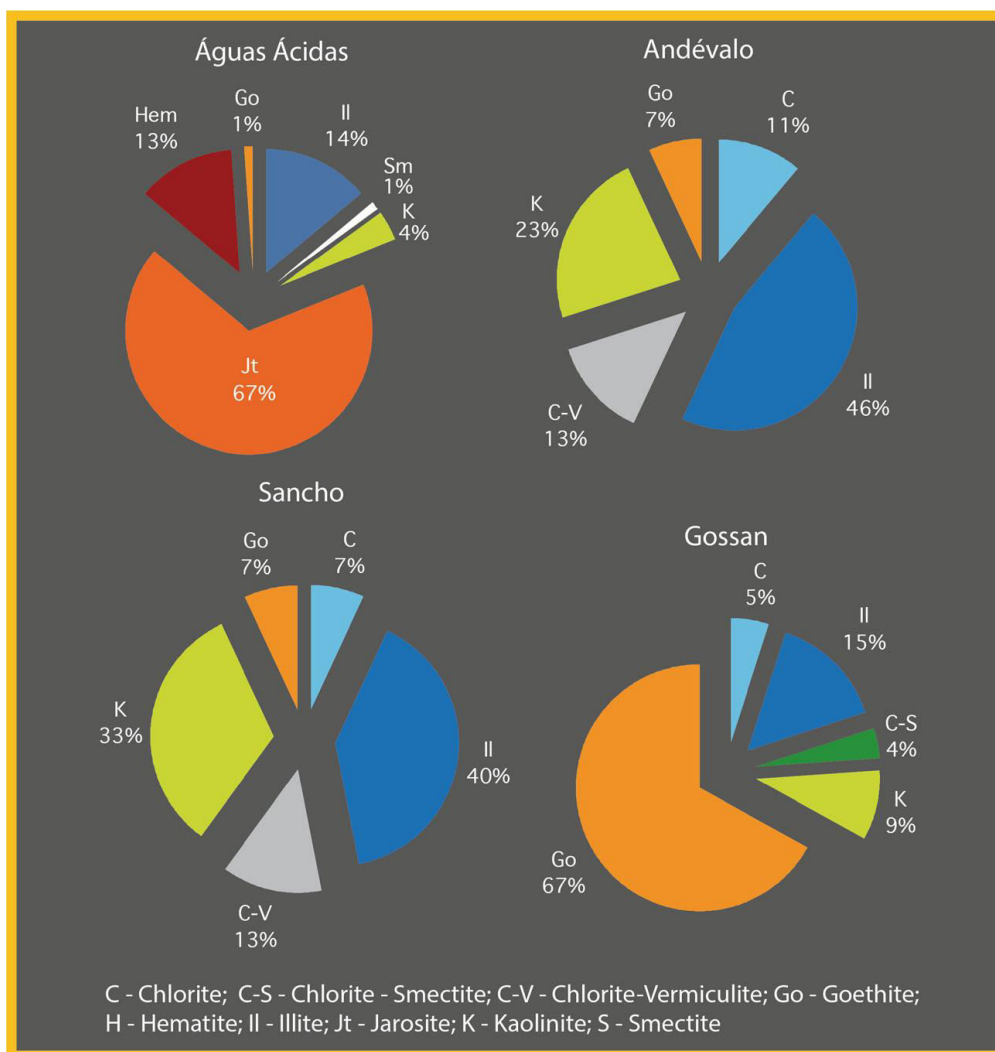


Figura 5.1 Mineralogía de los sedimentos (fracción de arcilla) (Valente et al., 2016)

La Tabla 5.2 muestra la composición química de los sedimentos analizado en fracciones de ambos tamaños (<2mm y <2 μm). Los sedimentos más contaminados, en cuanto a metales y arsénico, aparecen en Aguas Ácidas y Gossan. Además, el contenido de azufre es mayor en estos embalses, lo que indica la influencia de la contaminación minera asociada con explotaciones de sulfuros.

Tabla 5.2 Composición química de los sedimentos en las dos fracciones (<2mm y <2μm) (Valente et al. 2016)

Elemento (mg/kg)	Aguas Ácidas		Andévalo Cobica		Sancho		Gossan	
	<2 mm	<2 μm	<2 mm	<2 μm	<2 mm	<2 μm	<2 mm	<2 μm
Fe	278,14	190,7	84	123,66	89,28	90,17	125,83	285,99
Cu	495	1,636	124	212	727	321	2,09	1,50
Zn	279	315	127	190	474	332	340	395

Mn	109	84	343	449	298	235	152	162
Ni	<L.D.	13	28	51	44	59	<L.D.	21
As	572	1,83	992	1,57	284	283	643	818
Pb	29,12	65,25	125	205	162	170	584	884
S	14,52	54,85	1,21	310	4,18	604	20,9	1,79

**L.D. Limite
detección**

En general, los resultados sugieren que Pb, As, Zn y Cu se acumulan en la fracción de tamaño de arcilla (<2 m), especialmente en estos dos embalses (tabla 5.2). Tal acumulación puede estar relacionada con la mineralogía de esta fracción más fina: jarosita y goethita, que componen los típicos precipitados de AMD que pueden ser los principales responsables por la acumulación de elementos traza en Aguas Ácidas y Gossan, respectivamente. Llama la atención como en la Presa de Gossan que es la de pH más ácido encontramos la menor concentración de Cu. La explicación es simple; a esa presa llegan los lodos de las plantas de flotación en las que el Cu ya ha sido recuperado para su beneficio industrial.

En general, los resultados sugieren que Pb, As, y Zn se acumulan en la fracción de tamaño de arcilla (<2 µm), especialmente en estos dos embalses (Aguas Ácidas y Gossan). Tal acumulación puede estar relacionado con la mineralogía de esta fracción más fina y también en términos de abundancia relativa por lo citado en las últimas líneas del párrafo anterior

En Presa de Andévalo, con considerable menor enriquecimiento en elementos traza, la retención de elementos tóxicos tiene en la fracción más fina, y está asegurada por minerales de goethita y arcilla tales como illita. Estos resultados sugieren que los minerales de arcilla pueden retenerlos por adsorción y también por sustitución isomórfica (Kohut y Warren, 2002) in (Valente *et al.*, 2016). Otros estudios (Bergaya *et al.*, 2006; Wong *et al.*, 2006; Fernández-Caliani *et al.*, 1997; Luo *et al.*, 2011) sugieren que a partición preferente de los metales traza es en la fracción arcilla, como consecuencia de su mayor superficie (Valente *et al.*, 2016).

Además, la fracción de tamaño de arcilla incluye no solo minerales arcillosos sino también otros de fases secundarias, muy bien conocidas por su

capacidad de adsorción, como los oxihidróxidos de hierro y oxihidroxisulfatos de hierro (por ejemplo, Bigham y Nordstrom, 2000; Figueiredo y Silva, 2011).

5.2.3. Análisis de la comunidad de diatomeas

En este sub-apartado se identifican las especies de diatomeas que se encuentran en los diferentes embalses seleccionados, así como su abundancia relativa.

La Tabla 5.3 presenta las especies identificadas y clases de abundancia (número de valvas). El resultado obtenido es un total de 20 taxones, de 11 géneros diferentes.

Tabla 5.3 Clases de abundancia de los diferentes taxones identificados en las muestras epipsámicas (en la superficie de los sedimentos) de los 4 embalses en estudio (Porcentaje de abundancia de cada taxon: (1) raro, <1.5%; (2) frecuente, 1.5–5%; (3) abundante, >5%.

Taxones	Aguas Ácidas	Andévalo	Sancho	Gossan
<i>Achnanthes lanceolata</i> (Brébisson) Grunow var. <i>lanceolata</i>			1	
<i>Bacillaria paradoxa</i> Gmelin			1	
<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot		1		
<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing			1	
<i>Diploneis</i> sp.			1	
<i>Diploneis separanda</i> Lange-Bertalot	1			
<i>Discotella pseudostelligera</i> (Hustedt) Houk & Klee				1
<i>Eunotia exigua</i> (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst		3	2	2
<i>Gomphonema parvulum</i> (Kützing) Kützing var. <i>parvulum</i>			1	
<i>Navicula gregaria</i> Donkin			1	
<i>Navicula halophila</i> (Grunow) Cleve			1	
<i>Navicula veneta</i> Kützing			1	
<i>Navicula</i> sp.			1	
<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow f. <i>amphibia</i>			1	
<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith			2	
<i>Nitzschia thermalis</i> (Kütz) var. <i>Minor</i> (Hilse)	3		3	3
<i>Pinnularia acidophila</i> Hofmann & Krammer	3	2	2	3
<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luis, Almeida & Ector	3		2	3
<i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt var. <i>acoricola</i>	2			
<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>		3	3	3

Los dos embalses con mayor afección por AMD, Aguas Ácidas y Gossan, presentan una mayor abundancia de *Pinnularia acidophila* Hofmann & Krammer, *Pinnularia aljustrellica* Luís, Almeida et Ector y *Nitzschia* cf. *thermalis* (Kützing) var. *minor*. Son especies acidófilas típicas de condiciones extremas de acidez y concentración de metales. También han aparecido, pero no con tan gran abundancia como las anteriores, las especies, *Pinnularia acoricola* Hustedt var. *acoricola* y *Pinnularia subcapitata* Gregory var. *subcapitata* (Valente et al., 2016) en estos dos embalses, respectivamente.

En el embalse de Sancho, los taxones más abundantes también son conocidos por su naturaleza acidófila, principalmente *Nitzschia* cf. *thermalis* (Kützing) var. *minor* y *Pinnularia subcapitata* Gregory var. *subcapitata*. Sin embargo, en este embalse, hay una mayor diversidad de especies. Este es el embalse de los cuatro seleccionados, que presenta mayor número de taxones (especies) con un total de 16 aunque sólo dos especies aparezcan en gran abundancia como se ha mencionado anteriormente (tabla 5.3).

En las microfotografías siguientes (Figura 5.2.) de Microscopía Óptica, se puede apreciar algunas de las especies identificadas en los embalses.

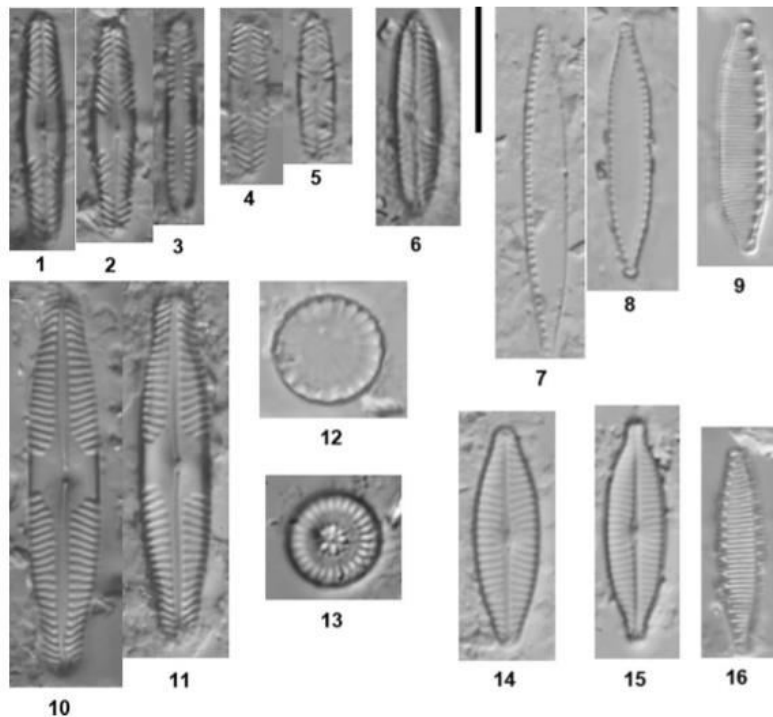


Figura 5.2 Fotografías de diatomeas obtenidas mediante microscopio óptico. Escala 10µm (Valente et al., 2016)

- 1-3 *Pinnularia aljustrellica* Luís, Almeida & Ector;
 4-5 *Pinnularia acidophila* Hofmann & Krammer;
 6- *Pinnularia* aff. *acoricola* Hustedt var. *acoricola*;
 7-8 *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith
 9- *Nitzschia* cf. *thermalis* Kützing var. *minor* Hilse;
 10-11 *Pinnularia* aff. *subcapitata* Gregory var. *subcapitata*
 12- *Cyclotella meneghiniana* Kützing;
 13- *Discostella pseudostelligera* (Hustedt) Houk & Klee
 14- *Navicula veneta* Kützing; 15- *Navicula gregaria* Donkin
 16- *Nitzschia amphibia* Grunow f. *amphibia*

Los resultados de la tabla 5.3. se deducen de las identificaciones realizadas en las muestras epipsámicas recogidas en los cuatro embalses. En la Tabla 5.4, se enseña el número de valvas de diatomeas contadas en cada uno de ellos.

Tabla 5.4 Número de valvas de diatomeas de especies identificadas y contadas en los cuatro embalses seleccionados

Nombre Especie actualizada y Código	Especies	Aguas Ácidas	Adévalo	Gossan	Sancho
PTLA <i>Planothidium lanceolatum</i> (Brébisson ex Kützing) Lange-Bertalot (PTLA)	<i>Achnanthes lanceolata</i> (Brébisson) Grunow var. <i>lanceolata</i>	0	0	0	2
BP	<i>Bacillaria paradoxa</i> Gmelin	0	0	0	2
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	0	2	0	0
CMEN	<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing	0	0	0	4
DSEP	<i>Diploneis separanda</i> Lange-Bertalot	2	0	0	0
DIPS	<i>Diploneis</i> sp	0	0	0	2
DPST	<i>Discostella pseudostelligera</i> (Hustedt) Houk & Klee	0	0	3	0
EEXI	<i>Eunotia exigua</i> (Brébisson ex Kützing) Rabenhorst	0	294	24	10
GP	<i>Gomphonema parvulum</i> (Kützing) Kützing var. <i>parvulum</i> f.	0	0	0	2

	<i>parvulum</i>				
NGRE	<i>Navicula gregaria</i> Donkin	0	0	0	2
Craticula halophila (Grunow ex Van Heurck) D.G. Mann (CHAL)	<i>Navicula halophila</i> (Grunow) Cleve	0	0	0	6
NVEN	<i>Navicula veneta</i> Kützing	0	0	0	4
NAVI	<i>Navicula</i> sp	0	0	0	2
NAMP	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow f. <i>amphibia</i>	0	0	0	4
NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	0	0	0	7
NTHR	<i>Nitzschia thermalis</i> (Kütz) Auerswalb in Rabh.var. <i>minor</i> (Hilse) Grun.	100	0	44	22
PACI	<i>Pinnularia acidophila</i> Hofmann & Krammer	163	12	284	16
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	129	0	134	9
PACO	<i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt var. <i>acoricola</i>	6	0	0	0
PSC	<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>	0	92	54	320
	TOTAL	400	400	543	414

La contaminación por AMD produce estrés químico y físico (deposición de óxidos metálicos y turbidez) en la biota (Gerhardt *et al.*, 2008). Por lo tanto, los sistemas afectados por AMD son a menudo ambientes extremos para la vida acuática, donde el pH desempeña un papel muy importante en la organización del desarrollo de comunidades biológicas (Valente *et al.*, 2016). Por lo general, el pH bajo restringe las comunidades a una baja diversidad de diatomeas, quedando las más adaptadas, siendo la variación espacial más importante que la variación estacional (Luís *et al.*, 2009).

Este primer estudio confirma la importancia del pH en la distribución de las comunidades de diatomeas ya que se evidencia diferencias entre los embalses que tienen diferentes rangos de pH.

En el embalse con pH más bajo, las especies acidófilas del género *Pinnularia* son las dominantes. Cuando los valores de pH aumentan ~ hasta 6, otras especies, como *Eunotia exigua* (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst, aparecen como dominantes. Sin embargo, el conjunto de las diatomeas que dominan en Sancho siguen siendo especies acidófilas, de acuerdo con los

valores mínimos de pH (< 2.5). En los embalses mineros (Aguas Ácidas y Gossan), donde los valores máximos de pH no superan 3,05, sólo hay taxones acidófilos y acidobiontes. Por lo tanto, en este estudio, como consecuencia de los efectos de la contaminación por AMD, el mínimo valor de pH es más discriminatorio que el promedio de los valores de pH (Valente *et al.*, 2016).

La estructura de las comunidades de diatomeas también puede verse afectada por niveles elevados de productos químicos inorgánicos (Deniseger *et al.*, 1986; Gray y Hill 1995; Genter 1996; Paulsson *et al.*, 2000; Atazadeh *et al.*, 2009), como los metales.

Por eso, esta misma agrupación la podríamos mantener con respecto a concentraciones elevadas de los metales: Fe, Mn, Cu, Zn, As, Ni y Pb. En el presente estudio, la susceptibilidad de las diatomeas a los metales se muestra en la figura 5.2. donde puede apreciarse que las concentraciones de metales más altas en el sedimento muestran la menor diversidad, mientras que las que tienen bajo contenido de metal muestran mayor diversidad. Además, la comunidad dominada por las especies de *Pinnularia*, principalmente *P. acidophila* y *P. aljustrellica*, se encontró sobre los sedimentos más contaminados por metales (figura 5.3).

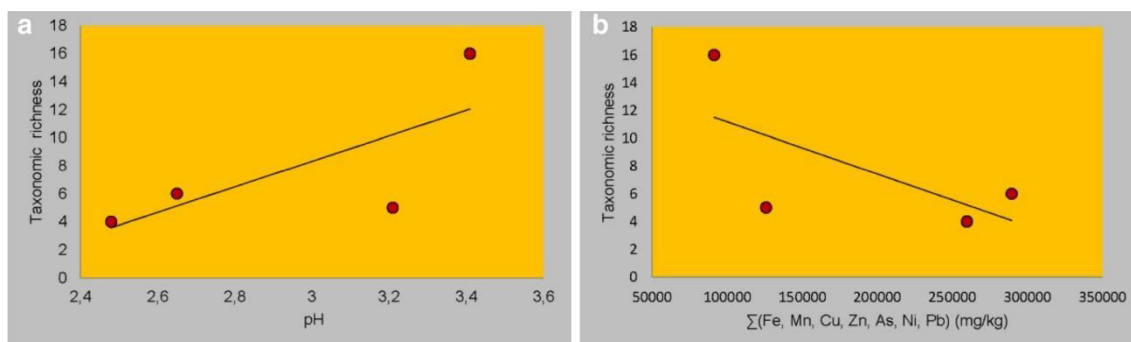


Figura 5.3 Número de especies de diatomeas identificadas en diferentes condiciones geoquímicas: a. diferentes valores de pH, b. diferente valor del Σ concentraciones de metales del sedimento. (Valente *et al.*, 2016)

Además de esta respuesta a nivel de comunidad, la susceptibilidad de las diatomeas a los metales, a nivel individual, ha sido demostrada por varios estudios tales como Cattaneo *et al.* (1998, 2004) y Luis *et al.* (2011) que han mostrado cambios en la morfología, disminución del tamaño y deformaciones de la frústula relacionadas con altas concentraciones de metales. Sin embargo, en

el presente estudio, todas las especies identificadas aparecen con morfología normal (figura 5.4), lo que indica que estarán bien adaptadas a estos ambientes extremos. Tales observaciones muestran toda concordancia con las composiciones de las comunidades, ya que están dominadas por taxones acidófilos o acidobiontes=acidotolerantes. La influencia del AMD ha llevado a una ventaja competitiva para los taxones bien adaptados (Valente *et al.*, 2016).

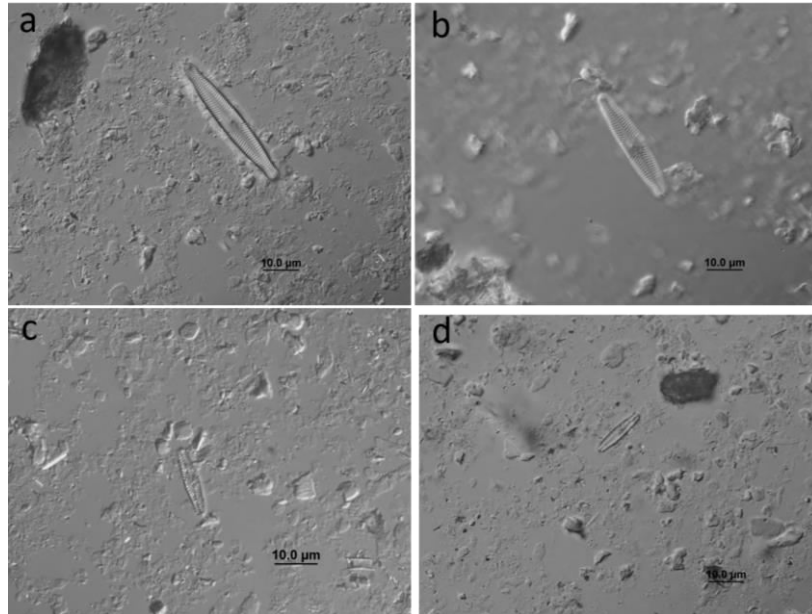


Figura 5.4 Morfología de especies del género *Pinnularia* con frústula normal: a,b- *Pinnularia subcapitata*; c,d- *Pinnularia aljustrellica*

Como resumen, en relación a la carga metálica, los 4 embalses están afectados en este orden: Aguas Ácidas>Gossan>Sancho≥Andévalo. Todos los embalses exceden los valores de concentración de metales presentados en la Directiva Europea 75/440/CEE para calidad del agua, especialmente para los metales Mn, Pb y Fe.

La implementación de la “European’s Union WFD (Nº 60/2000; European Union)” requiere la evaluación del estado ecológico de las masas de agua mediante bioindicadores que en este caso han sido las diatomeas. De este modo, los resultados obtenidos en este estudio, sugieren el empleo de diatomeas para la evaluación de la calidad del agua de los embalses afectados por AMD. El estudio de abundancia y diversidad de las diatomeas, ha mostrado que las especies acidófilas *P. acidophila* y *P. aljustrellica* son dominantes en los dos embalses más afectados por AMD (Aguas Ácidas y Gossan), donde los datos

obtenidos sobre la hidroquímica de las masas de agua y la geoquímica de los sedimentos y aguas, muestran evidencia de contaminación por AMD. En los otros dos embalses, las especies acidófilas como *P. acidophila* y *P. aljustrellica* son muy raras, siendo que en Andévalo domina la especie *E. exigua* y en Sancho la especie *P. subcapitata*.

5.3. Distribución espacial de las variables ambientales

Una vez realizado el estudio de los cuatro embalses minero-industriales elegidos previamente, se amplió el estudio a 23 embalses considerando así sus diferentes usos: industrial, agrícola, urbano y minero, Se ha realizado el muestreo en marzo de 2012.

5.3.1. Variables ecológicas: comunidades de diatomeas

El total de especies de diatomeas identificadas en todos los embalses son presentadas en la tabla siguiente, sumando 118 especies.

Tabla 5.5 Listado especies de diatomeas identificadas en marzo de 2012 en los 23 embalses de estudio. *Especie con abundancia > 1% al menos en una muestra

Código	Especies
*ADEG	<i>Achnanthydium exiguum</i> (Grunow) Czarnecki
*ADMI	<i>Achnanthydium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki
*ADCS	<i>Achnanthydium</i> sp
*ADMS	<i>Adlafia minuscula</i> (Grunow) Lange-Bertalot
*ALIB	<i>Amphora libyca</i> Ehrenberg
*AMMO	<i>Amphora montana</i> Krasske
*AOVA	<i>Amphora ovalis</i> (Kützing) Kützing var. <i>ovalis</i>
*APED	<i>Amphora pediculus</i> (Kützing) Grunow
*AMPS	<i>Amphora species</i>
*AFOR	<i>Asterionella formosa</i> Hassall
*AUGR	<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen
AULS	<i>Aulacoseira species</i>
*BPAR	<i>Bacillaria paradoxa</i> Gmelin in Linnaeus
*BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Hassall
*BVIT	<i>Brachysira vitrea</i> (Grunow) Ross in Hartley
*CHYA	<i>Caloneis hyalina</i> Hustedt
CSHU	<i>Caloneis schummanniana</i> (Grunow in Van Heurck) Cleve
*CALC	<i>Caloneis species</i>
CWES	<i>Caloneis westii</i> (W. Smith) Hendey
CEUG	<i>Cocconeis euglypta</i> Ehrenberg
*CPLA	<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg var. <i>placentula</i>
*COCS	<i>Cocconeis species</i>
CAMB	<i>Craticula ambigua</i> (Ehrenberg) D.G. Mann

*CHAL	<i>Craticula halophila</i> (Grunow ex Van Heurck) D.G. Mann
*CCOM	<i>Cyclotella comta</i> (Ehrenberg) Kützing
*CMEN	<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing
*COCE	<i>Cyclotella occeolata</i> Pantocsek
*CYLS	<i>Cyclotella</i> species
CTUM	<i>Cymbella tumida</i> (Brebisson) Van Heurck
*CBNA	<i>Cymbopleura naviculiformis</i> (Auerswald) Krammer
*CBPS	<i>Cymbopleura</i> sp.
DSEP	<i>Diploneis separanda</i> Lange-Bertalot
DIPS	<i>Diploneis</i> sp.
*DPST	<i>Discostella pseudostelligera</i> (Hustedt) Houk et Klee
*DSTE	<i>Discostella stelligera</i> (Cleve et Grunow) Houk & Klee
*ENMI	<i>Encyonema minutum</i> (Hilse in Rabenhorst) D. G. Mann
*ENSP	<i>Encyonema</i> species
EOSA	<i>Eolimna subadnata</i> (Hustedt) Moser Lange-Bertalot & Metzeltin
ESBM	<i>Eolimna subminuscula</i> (Manguin) Moser Lange-Bertalot & Metzeltin
*EBIL	<i>Eunotia bilunaris</i> (Ehrenberg) Mills var. <i>bilunaris</i>
*EEXI	<i>Eunotia exigua</i> (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst
*EIMP	<i>Eunotia implicata</i> Nörpel, Lange-Bertalot & Alles
*EMIN	<i>Eunotia minor</i> (Kützing) Grunow in Van Heurck
EPEC	<i>Eunotia pectinalis</i> (Dyllwyn) Rabenhorst var. <i>pectinalis</i>
EUNS2	<i>Eunotia</i> sp 2
*EUNS	<i>Eunotia</i> sp.
*FPAT	<i>Fragilaria</i> cf. <i>parva</i> teratologica (Grunow in Van Heurck) Tuji & Williams
FPIN	<i>Fragilaria pinnata</i> Ehrenberg var. <i>pinnata</i>
FRAS2	<i>Fragilaria</i> sp 2
*FRAS	<i>Fragilaria</i> species
*FSAX	<i>Frustulia saxonica</i> Rabenhorst
*FRSP	<i>Frustulia</i> species
*GDEC	<i>Geissleria decussis</i> (Ostrup) Lange-Bertalot & Metzeltin
GACU	<i>Gomphonema acuminatum</i> Ehrenberg
*GPAR	<i>Gomphonema parvulum</i> (Kützing) Kützing var. <i>parvulum</i>
GROS	<i>Gomphonema rosenstockianum</i> Lange-Bertalot & Reichardt
*GOMP	<i>Gomphonema</i> sp
*GOMP2	<i>Gomphonema</i> sp2
*HCAP	<i>Hippodonta capitata</i> (Ehrenberg) Lange-Bertalot, Metzeltin & Witkowski
*HPDA	<i>Hippodonta pseudoacceptata</i> (Kobayasi) Lange-Bertalot Metzeltin & Witkowski
*MAPE	<i>Mayamaea atomus</i> var. <i>permitis</i> (Hustedt) Lange-Bertalot
*NBRY	<i>Navicula bryophila</i> Boye Petersen
*NCIN	<i>Navicula cincta</i> (Ehrenberg) Ralfs in Pritchard
*NCTE	<i>Navicula cryptotenella</i> Lange-Bertalot
*NCTO	<i>Navicula cryptotenelloides</i> Lange-Bertalot
*NCRY	<i>Navicula crytocephala</i> Kützing
*NGRE	<i>Navicula gregaria</i> Donkin
NGTG	<i>Navicula gregaria</i> Donkin f. <i>anormale</i>
*NRAD	<i>Navicula radiosa</i> Kützing
*NROS	<i>Navicula rostellata</i> Kützing

*HXSH	<i>Navicula schmassmannii</i> Hustedt in Schmidt et al.
*NASP	<i>Navicula</i> sp
*NVSD	<i>Navicula</i> sp2
*NTRV	<i>Navicula trivialis</i> Lange-Bertalot
*NVDA	<i>Navicula vandamii</i> Schoeman & Archibald var. <i>vandamii</i>
*NVEN	<i>Navicula veneta</i> Kützing
NEAM	<i>Neidium ampliatum</i> (Ehrenberg) Krammer
NESP	<i>Neidium</i> sp
*NITZ	<i>Nitzschia</i> sp.2
*NZAO	<i>Nitzschia acicularioides</i> Archibald
*NACD	<i>Nitzschia acidoclinata</i> Lange-Bertalot
*NZSU	<i>Nitzschia</i> aff. <i>supralitorea</i> Lange-Bertalot
*NAMP	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow f. <i>amphibia</i>
NTHM	<i>Nitzschia</i> cf. <i>thermalis</i> (Kützing) Auerswald in Rabenhorst
*NTHR	<i>Nitzschia</i> cf. <i>thermalis</i> (Kützing) Auerswald in Rabh. var. <i>minor</i> Hilse (Grun)
NDIS	<i>Nitzschia dissipata</i> (Kützing) Grunow
*NFBU	<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>bulhemiana</i> (Rabenhorst) Grunow
*NINC	<i>Nitzschia inconspicua</i> Grunow
NIGE	<i>Nitzschia ingenua</i> Hustedt
*NIME	<i>Nitzschia media</i> Hantzsch
*NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck
*NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith
*NPAD	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith var. <i>debilis</i> (Kützing) Grunow in Cleve & Grunow
*NPAE	<i>Nitzschia paleacea</i> (Grunow) Grunow in Van Heurck
*NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1
NITZ4	<i>Nitzschia</i> sp 4
NULA	<i>Nupela lapidosa</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot
*NUPS	<i>Nupela</i> species
*PACI	<i>Pinnularia acidophila</i> Hofmann & Krammer
*PACO	<i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt var. <i>acoricola</i>
*PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector
PBOR	<i>Pinnularia borealis</i> Ehrenberg var. <i>borealis</i>
*PLUN	<i>Pinnularia lundii</i> Hustedt
*PIN1	<i>Pinnularia</i> sp 1
*PSCA	<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>
PCLT	<i>Placoneis clementis</i> (Grunow) Cox
*PTLA	<i>Planothidium lanceolatum</i> Brebisson ex Kützing) Lange-Bertalot
*PSBR	<i>Pseudostaurosira brevistriata</i> (Grunow in Van Heurck) Williams & Round
*PDTS	<i>Pseudostaurosira</i> sp
*RHOS	<i>Rhopalodia</i> species
*SPUP	<i>Sellaphora pupula</i> (Kützing) Mereschkowksy
*STA1	<i>Stauroneis</i> sp
SSVE	<i>Staurosira venter</i> (Ehrenberg) Cleve & Moeller
*SANG	<i>Surirella angusta</i> Kützing
*SRBA	<i>Surirella roba</i> Leclercq

*SUR1	<i>Surirella</i> sp
*TLEV	<i>Tryblionella levidensis</i> W. Smith
*UUAC	<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) Compère var. <i>acus</i> (Kützing) Lange-Bertalot
*UULN	<i>Ulnaria ulna</i> var. <i>ulna</i> (Nitzsch) Compère

Respecto a las identificaciones de las comunidades de diatomeas, se han identificado un total de 9943 valvas, con la siguiente distribución por embalses: 400 en Aguas Ácidas, 402 en Andévalo, 543 en Gossan, 420 en Sancho, 599 en Andévalo Chorrillo, 403 en Grande, 432 en Del Pino, 409 en Silillos II, 400 en Silillos I, 405 en Chanza, 406 en Puerto León, 412 en Herrerías, 420 en Marismillas, 456 en Cueva de la Mora, 407 en Dique I, 402 en Corumbel, 531 en Lagunazo, 420 en Agrio, 400 en Garnacha, 404 en Dique I, 402 en Olivargas, 459 en Campanario y 411 en La Joya.

De esta manera, se encontraron un total de 118 especies pertenecientes a 39 géneros diferentes: *Achnantheidium*, *Adlafia*, *Amphora*, *Asterionella*, *Aulacoseira*, *Bacillaria*, *Brachysira*, *Caloneis*, *Cocconeis*, *Craticula*, *Cyclotella*, *Cymbella*, *Cymbopleura*, *Diploneis*, *Discostella*, *Encyonema*, *Eolimna*, *Eunotia*, *Fragilaria*, *Frustulia*, *Geissleria*, *Gomphonema*, *Hippodonta*, *Mayamaea*, *Navicula*, *Neidium*, *Nitzschia*, *Nupela*, *Pinnularia*, *Placoneis*, *Planothidium*, *Pseudostaurosira*, *Rhopalodia*, *Sellaphora*, *Stauroneis*, *Staurosira*, *Surirella*, *Tryblionella*, *Ulnaria*.

Se muestran a continuación el listado de diatomeas identificadas e incluidas en los recuentos (nº de valvas) en cada uno de los 23 embalses en estudio.

Tabla 5.6 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Andévalo Cobica

Código	Especies	Nº de valvas
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	2
DSEP	<i>Diploneis separanda</i> Lange-Bertalot	2
EEXI	<i>Eunotia exigua</i> (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst	294
PACI	<i>Pinnularia acidophila</i> Hofmann & Krammer	12
PSCA	<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>	92

Tabla 5.7 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Andévalo Chorrito

Código	Especies	Nº de valvas
DPST	<i>Discostella pseudostelligera</i> (Hustedt) Houk et Klee	55
EEXI	<i>Eunotia exigua</i> (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst	4
GOMP	<i>Gomphonema</i> sp	4
NXSH	<i>Navicula schmassmannii</i> Hustedt in Schmidt et al.	365
NASP	<i>Navicula</i> sp	9
NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck	27
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	7
PACI	<i>Pinnularia acidophila</i> Hofmann & Krammer	42
PACO	<i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt var. <i>acoricola</i>	2
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	40
PSCA	<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>	44

Tabla 5.8 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Aguas Ácidas

Código	Especies	Nº de valvas
DSEP	<i>Diploneis separanda</i> Lange-Bertalot	2
NTHR	<i>Nitzschia</i> cf. <i>thermalis</i> (Kützing) Auerswald in Rabh. var. <i>minor</i> (Hilse) Grun.	100
PACI	<i>Pinnularia acidophila</i> Hofmann & Krammer	163
PACO	<i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt var. <i>acoricola</i>	6
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	129

Tabla 5.9 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Grande

Código	Especies	Nº de valvas
DIPS	<i>Diploneis</i> sp.	2
EEXI	<i>Eunotia exigua</i> (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst	2
GOMP	<i>Gomphonema</i> sp	2
NFBU	<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>bulhemiana</i> (Rabenhorst) Grunow	17
NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck	8
NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	6
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	2
PACI	<i>Pinnularia acidophila</i> Hofmann & Krammer	52
PACO	<i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt var. <i>acoricola</i>	2
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	306
PSCA	<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>	6

Tabla 5.10 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Marismillas

Código	Especies	Nº de valvas
DIPS	<i>Diploneis</i> sp.	2
NFBU	<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>bulhemiana</i> (Rabenhorst) Grunow	1
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	1
PACI	<i>Pinnularia acidophila</i> Hofmann & Krammer	24
PACO	<i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt var. <i>acoricola</i>	46
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	336
PSCA	<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>	10

Tabla 5.11 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Del Pino

Código	Especies	Nº de valvas
ADMI	<i>Achnantheidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	2
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	4
EEXI	<i>Eunotia exigua</i> (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst	188
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	2
PACI	<i>Pinnularia acidophila</i> Hofmann & Krammer	16
PACO	<i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt var. <i>acoricola</i>	58
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luis, Almeida et Ector	114
PSCA	<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>	48

Tabla 5.12 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Sancho

Código	Especies	Nº de valvas
BPAR	<i>Bacillaria paradoxa</i> Gmelin	2
CHAL	<i>Craticula halophila</i> (Grunow ex Van Heurck) D.G. Mann	6
CMEN	<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing	4
DIPS	<i>Diploneis</i> sp.	2
EEXI	<i>Eunotia exigua</i> (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst	10
GPAR	<i>Gomphonema parvulum</i> (Kützing) Kützing var. <i>parvulum</i>	2
NGRE	<i>Navicula gregaria</i> Donkin	2
NVEN	<i>Navicula veneta</i> Kützing	4
NACD	<i>Nitzschia acidoclinata</i> Lange-Bertalot	6
NAMP	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow f. <i>amphibia</i>	4
NTHR	<i>Nitzschia</i> cf. <i>thermalis</i> (Kützing) Auerswald in Rabh. var. <i>minor</i> (Hilse) Grun.	22
NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	7
PACI	<i>Pinnularia acidophila</i> Hofmann & Krammer	16
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	9
PSCA	<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>	320
PTLA	<i>Planothidium lanceolatum</i> (Brebisson ex Kützing) Lange-Bertalot	2

Tabla 5.13 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Cueva de la Mora

Código	Especies	Nº de valvas
EEXI	<i>Eunotia exigua</i> (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst	166
PACO	<i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt var. <i>acoricola</i>	82
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	66
PSCA	<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>	142

Tabla 5.14 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Gossan

Código	Especies	Nº de valvas
DPST	<i>Discostella pseudostelligera</i> (Hustedt) Houk et Klee	3
EEXI	<i>Eunotia exigua</i> (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst	24
NTHR	<i>Nitzschia cf. thermalis</i> (Kützing) Auerswald in Rabh. var. <i>minor</i> (Hilse) Grun.	44
PACI	<i>Pinnularia acidophila</i> Hofmann & Krammer	284
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luis, Almeida et Ector	134
PSCA	<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>	54

Tabla 5.15 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Agrio

Código	Especies	Nº de valvas
ADMI	<i>Achnantheidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	204
AFOR	<i>Asterionella formosa</i> Hassall	63
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	40
CMEN	<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing	6
ENMI	<i>Encyonema minutum</i> (Hilse in Rabenhorst) D. G. Mann	42
GOMP	<i>Gomphonema</i> sp	2
NCRY	<i>Navicula crytocephala</i> Kützing	12
NROS	<i>Navicula rostellata</i> Kützing	4
NDIS	<i>Nitzschia dissipata</i> (Kützing) Grunow	2
NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck	8
NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	25
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	4
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	6
PTLA	<i>Planothidium lanceolatum</i> Brebisson ex Kützing) Lange-Bertalot	2

Tabla 5.16 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Chanza

Código	Especies	Nº de valvas
ADMI	<i>Achnantheidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	112
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	6
CSHU	<i>Caloneis schummanniana</i> (Grunow in Van Heurck) Cleve	4
CPLA	<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg var. <i>placentula</i>	19
CAMB	<i>Craticula ambigua</i> (Ehrenberg) D.G. Mann	2
CYLS	<i>Cyclotella</i> species	6
CTUM	<i>Cymbella tumida</i> (Brebisson) Van Heurck	2
ESBM	<i>Eolimna subminuscula</i> (Manguin) Moser Lange-Bertalot & Metzeltin	2
EUNS	<i>Eunotia</i> sp	2
FPAT	<i>Fragilaria</i> cf. <i>parva</i> teratologica (Grunow in Van Heurck) Tuji & Williams	10
FRAS2	<i>Fragilaria</i> sp 2	4
FRAS	<i>Fragilaria</i> species	4
GDEC	<i>Geissleria decussis</i> (Ostrup) Lange-Bertalot & Metzeltin	4
MAPE	<i>Mayamaea atomus</i> var. <i>permitis</i> (Hustedt) Lange-Bertalot	20
NCRY	<i>Navicula crytocephala</i> Kützing	4
NGRE	<i>Navicula gregaria</i> Donkin	101
NGTG	<i>Navicula gregaria</i> Donkin f. <i>anormale</i>	3
NROS	<i>Navicula rostellata</i> Kützing	8
NVDA	<i>Navicula vandamii</i> Schoeman & Archibald var. <i>vandamii</i>	8
NVEN	<i>Navicula veneta</i> Kützing	2
NINC	<i>Nitzschia inconspicua</i> Grunow	47
NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	17
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	6
NULA	<i>Nupela lapidosa</i> (Lange-Bertalot) Lange-Bertalot	2
SUR1	<i>Surirella</i> sp.	2
UULN	<i>Ulnaria ulna</i> var. <i>ulna</i> (Nitzsch) Compère	6

Tabla 5.17 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Campanario

Código	Especies	Nº de valvas
ADMI	<i>Achnantheidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	148
ALIB	<i>Amphora libyca</i> Ehrenberg	9
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	2
CALS	<i>Caloneis</i> sp.	10
CWES	<i>Caloneis westii</i> (W. Smith) Hendey	2
CBNA	<i>Cymbopleura naviculiformis</i> (Auerswald) Krammer	4
DIPS	<i>Diploneis</i> sp.	4
ENMI	<i>Encyonema minutum</i> (Hilse in Rabenhorst) D. G. Mann	8
EMIN	<i>Eunotia minor</i> (Kützing) Grunow in Van Heurck	6

Código	Especies	Nº de valvas
EUNS2	<i>Eunotia</i> sp 2	4
EUNS	<i>Eunotia</i> sp	8
GOMP	<i>Gomphonema</i> sp	20
NCRY	<i>Navicula crytocephala</i> Kützing	95
NROS	<i>Navicula rostellata</i> Kützing	9
NZSU	<i>Nitzschia</i> aff. <i>supralitorea</i> Lange-Bertalot	4
NTHM	<i>Nitzschia</i> cf. <i>thermalis</i> (Kützing) Auerswald in Rabenhorst	2
NFBU	<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>bulhemiana</i> (Rabenhorst) Grunow	6
NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck	42
NPAD	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith var. <i>debilis</i> (Kützing) Grunow in Cleve & Grunow	20
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	2
NITZ4	<i>Nitzschia</i> sp 4	2
NUPS	<i>Nupela</i> species	10
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	2
PIN1	<i>Pinnularia</i> sp 1	10
PSCA	<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>	4
SPUP	<i>Sellaphora pupula</i> (Kützing) Mereschkowksy	6
UULN	<i>Ulnaria ulna</i> var. <i>ulna</i> (Nitzsch) Compère	10

Tabla 5.18 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Garnacha

Código	Especies	Nº de valvas
ADEG	<i>Achnanthydium exiguum</i> (Grunow) Czarnecki	10
ADMI	<i>Achnanthydium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	35
ADCS	<i>Achnanthydium</i> sp	6
AUGR	<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen	11
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	20
CHYA	<i>Caloneis hyalina</i> Hustedt	39
COCE	<i>Cyclotella occlata</i> Pantocsek	19
CBNA	<i>Cymbopleura naviculiformis</i> (Auerswald) Krammer	9
DPST	<i>Discostella pseudostelligera</i> (Hustedt) Houk et Klee	24
ENMI	<i>Encyonema minutum</i> (Hilse in Rabenhorst) D. G. Mann	6
EBIL	<i>Eunotia bilunaris</i> (Ehrenberg) Mills var. <i>bilunaris</i>	8
EIMP	<i>Eunotia implicata</i> Nörpel, Lange-Bertalot & Alles	12
EUNS2	<i>Eunotia</i> sp 2	2
EUNS	<i>Eunotia</i> sp.	4
FSAX	<i>Frustulia saxonica</i> Rabenhorst	75
GACU	<i>Gomphonema acuminatum</i> Ehrenberg	2
GOMP	<i>Gomphonema</i> sp	8
HCAP	<i>Hippodonta capitata</i> (Ehrenberg) Lange-Bertalot, Metzeltin & Witkowski	6
NASP	<i>Navicula</i> sp	2
NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck	52
NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	30

Código	Especies	Nº de valvas
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	8
PIN1	<i>Pinnularia</i> sp 1	6
SRBA	<i>Surirella roba</i> Leclercq	6
TLEV	<i>Tryblionella levidensis</i> W. Smith	2

Tabla 5.19 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Lagunazo

Código	Especies	Nº de valvas
ADMI	<i>Achnantheidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	237
ALIB	<i>Amphora libyca</i> Ehrenberg	2
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	29
COCE	<i>Cyclotella occlata</i> Pantocsek	16
CYLS	<i>Cyclotella</i> species	9
ENMI	<i>Encyonema minutum</i> (Hilse in Rabenhorst) D. G. Mann	4
EIMP	<i>Eunotia implicata</i> Nörpel, Lange-Bertalot & Alles	19
GDEC	<i>Geissleria decussis</i> (Ostrup) Lange-Bertalot & Metzeltin	49
NCRY	<i>Navicula cryptocephala</i> Kützing	2
NZSU	<i>Nitzschia aff. supralitorea</i> Lange-Bertalot	2
NAMP	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow f. <i>amphibia</i>	77
NFBU	<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>bulhemiana</i> (Rabenhorst) Grunow	2
NIME	<i>Nitzschia media</i> Hantzsch	4
NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck	14
NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	19
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	9
NITZ4	<i>Nitzschia</i> sp 4	4
NUPS	<i>Nupela</i> species	10
PBOR	<i>Pinnularia borealis</i> Ehrenberg var. <i>borealis</i>	2
PLUN	<i>Pinnularia lundii</i> Hustedt	14

Tabla 5.20 Especies de diatomeas identificadas en el embalse La Joya

Código	Especies	Nº de valvas
ADMI	<i>Achnantheidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	286
AOVA	<i>Amphora ovalis</i> (Kützing) Kützing	11
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	22
ENMI	<i>Encyonema minutum</i> (Hilse in Rabenhorst) D. G. Mann	38
FRAS	<i>Fragilaria</i> species	2
GOMP	<i>Gomphonema</i> sp	8
GOMP2	<i>Gomphonema</i> sp2	6
NCRY	<i>Navicula cryptocephala</i> Kützing	4
NROS	<i>Navicula rostellata</i> Kützing	4
NAMP	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow f. <i>amphibia</i>	4
NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck	2
NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	4
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	6

Código	Especies	Nº de valvas
UULN	<i>Ulnaria ulna</i> var. <i>ulna</i> (Nitzsch) Compère	14

Tabla 5.21 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Corumbel

Código	Especies	Nº de valvas
ADMI	<i>Achnantheidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	70
AMMO	<i>Amphora montana</i> Krasske	9
AULS	<i>Aulacoseira</i> species	2
BPAR	<i>Bacillaria paradoxa</i> Gmelin	55
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	6
COCE	<i>Cyclotella ocellata</i> Pantocsek	87
ENMI	<i>Encyonema minutum</i> (Hilse in Rabenhorst) D. G. Mann	14
FRSP	<i>Frustulia</i> species	6
GDEC	<i>Geissleria decussis</i> (Ostrup) Lange-Bertalot & Metzeltin	2
NCTO	<i>Navicula cryptotenelloides</i> Lange-Bertalot	20
NCRY	<i>Navicula crytocephala</i> Kützing	12
NASP	<i>Navicula</i> sp	10
NVDA	<i>Navicula vandamii</i> Schoeman & Archibald var. <i>vandamii</i>	28
NVEN	<i>Navicula veneta</i> Kützing	2
NESP	<i>Neidium</i> sp	2
NZSU	<i>Nitzschia</i> aff. <i>supralitorea</i> Lange-Bertalot	2
NAMP	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow f. <i>amphibia</i>	4
NFBU	<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>bulhemiana</i> (Rabenhorst) Grunow	2
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	6
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	4
PLUN	<i>Pinnularia lundii</i> Hustedt	55
STA1	<i>Stauroneis</i> sp	4

Tabla 5.22 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Silillos I

Código	Especies	Nº de valvas
ADMS	<i>Adlafia minuscula</i> (Grunow) Lange-Bertalot	9
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	6
DSTE	<i>Discostella stelligera</i> (Cleve et Grunow) Houk & Klee	10
EPEC	<i>Eunotia pectinalis</i> (Dyllwyn) Rabenhorst var. <i>pectinalis</i>	2
EUNS	<i>Eunotia</i> sp.	4
NBRY	<i>Navicula bryophila</i> Boye Petersen	74
NROS	<i>Navicula rostellata</i> Kützing	38
NTRV	<i>Navicula trivialis</i> Lange-Bertalot	2
NVDA	<i>Navicula vandamii</i> Schoeman & Archibald var. <i>vandamii</i>	45
NVEN	<i>Navicula veneta</i> Kützing	57
NZAO	<i>Nitzschia acicularioides</i> Archibald	121
NTHM	<i>Nitzschia</i> cf. <i>thermalis</i> (Kützing) Auerswald in Rabenhorst	3
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	2

PCLT	<i>Placoneis clementis</i> (Grun.) Cox	2
RHOS	<i>Rhopalodia</i> species	4
SANG	<i>Surirella angusta</i> Kützing	2
TLEV	<i>Tryblionella levidensis</i> W. Smith	9
UUAC	<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) Compère var. <i>acus</i> (Kützing) Lange-Bertalot	10

Tabla 5.23 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Silillos II

Código	Especies	Nº de valvas
ADMI	<i>Achnantheidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	281
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	14
CYLS	<i>Cyclotella</i> species	16
EEXI	<i>Eunotia exigua</i> (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst	2
NEAM	<i>Neidium ampliatum</i> (Ehrenberg) Krammer in Krammer & Lange-Bertalot	2
NZSU	<i>Nitzschia</i> aff. <i>supralitorea</i> Lange-Bertalot	2
NFBU	<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>bulhemiana</i> (Rabenhorst) Grunow	2
NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck	15
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	6
PACI	<i>Pinnularia acidophila</i> Hofmann & Krammer in Krammer	24
PSCA	<i>Pinnularia subcapitata</i> Gregory var. <i>subcapitata</i>	16
PDTS	<i>Pseudostaurosira</i> sp	19
SUR1	<i>Surirella</i> sp	10

Tabla 5.24 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Olivargas

Código	Especies	Nº de valvas
ADMI	<i>Achnantheidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	314
ADMS	<i>Adlafia minuscula</i> (Grunow) Lange-Bertalot	8
AMPS	<i>Amphora</i> species	1
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	26
EOSA	<i>Eolimna subadnata</i> (Hustedt) Moser Lange-Bertalot & Metzeltin	2
GROS	<i>Gomphonema rosenstockianum</i> Lange-Bertalot & Reichardt	2
NCTE	<i>Navicula cryptotenella</i> Lange-Bertalot	6
NCRY	<i>Navicula crytocephala</i> Kützing	6
NGRE	<i>Navicula gregaria</i> Donkin	2
NINC	<i>Nitzschia inconspicua</i> Grunow	2
NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck	1
NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	2
NUPS	<i>Nupela</i> species	4
PACO	<i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt var. <i>acoricola</i>	6

Código	Especies	Nº de valvas
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	10
PTLA	<i>Planothidium lanceolatum</i> (Brebisson ex Kützing) Lange-Bertalot	4
SANG	<i>Surirella angusta</i> Kützing	4

Tabla 5.25 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Puerto León

Código	Especies	Nº valvas
ADMI	<i>Achnanthydium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	156
ADCS	<i>Achnanthydium</i> sp	4
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	9
BVIT	<i>Brachysira vitrea</i> (Grunow) Ross	18
CBNA	<i>Cymbopleura naviculiformis</i> (Auerswald) Krammer	9
FRAS	<i>Fragilaria</i> species	9
FRSP	<i>Frustulia</i> species	2
NGRE	<i>Navicula gregaria</i> Donkin	2
NRAD	<i>Navicula radiosa</i> Kützing	4
HXSH	<i>Navicula schmassmannii</i> Hustedt in Schmidt et al.	99
NTRV	<i>Navicula trivialis</i> Lange-Bertalot	4
NIGE	<i>Nitzschia ingenua</i> Hustedt	2
NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck	11
NPAE	<i>Nitzschia paleacea</i> (Grunow) Grunow in Van Heurck	13
PDTS	<i>Pseudostaurosira</i> sp	56
SANG	<i>Surirella angusta</i> Kützing	2

Tabla 5.26 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Herrerías

Código	Especies	Nº de valvas
ADEG	<i>Achnanthydium exiguum</i> (Grunow) Czarnecki	9
ADMI	<i>Achnanthydium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	34
ALIB	<i>Amphora libyca</i> Ehrenberg	19
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	5
COCS	<i>Cocconeis</i> species	6
CMEN	<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing	76
GPAR	<i>Gomphonema parvulum</i> (Kützing) Kützing var. <i>parvulum</i>	25
NROS	<i>Navicula rostellata</i> Kützing	6
NTRV	<i>Navicula trivialis</i> Lange-Bertalot	2
NVDA	<i>Navicula vandamii</i> Schoeman & Archibald var. <i>vandamii</i>	49
NVEN	<i>Navicula veneta</i> Kützing	2
NITZ	<i>Nitzschia</i> sp.2	5
NAMP	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow f. <i>amphibia</i>	27
NTHM	<i>Nitzschia</i> cf. <i>thermalis</i> (Kützing) Auerswald in Rabenhorst	2
NFBU	<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>bulhemiana</i> (Rabenhorst) Grunow	50
NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck	2
NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	70

Código	Especies	Nº de valvas
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	4
NUPS	<i>Nupela</i> species	2
PACO	<i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt var. <i>acoricola</i>	9
PTLA	<i>Planothidium lanceolatum</i> Brebisson ex Kützing) Lange-Bertalot	2
SUR1	<i>Surirella</i> sp	2

Tabla 5.27 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Dique II

Código	Especies	Nº de valvas
ADEG	<i>Achnanthydium exiguum</i> (Grunow) Czarnecki	22
AMPS	<i>Amphora</i> species	2
AUGR	<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen	1
AULS	<i>Aulacoseira</i> species	2
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	12
CEUG	<i>Cocconeis euglypta</i> Ehrenberg	2
CCOM	<i>Cyclotella comta</i> (Ehrenberg) Kützing	9
CMEN	<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing	18
FPIN	<i>Fragilaria pinnata</i> Ehrenberg var. <i>pinnata</i>	2
GDEC	<i>Geissleria decussis</i> (Ostrup) Lange-Bertalot & Metzeltin	12
NCIN	<i>Navicula cincta</i> (Ehrenberg) Ralfs in Pritchard	30
NCRY	<i>Navicula crytocephala</i> Kützing	4
NGRE	<i>Navicula gregaria</i> Donkin	33
NTRV	<i>Navicula trivialis</i> Lange-Bertalot	4
NVEN	<i>Navicula veneta</i> Kützing	15
NESP	<i>Neidium</i> sp	2
NZSU	<i>Nitzschia</i> aff. <i>supralitorea</i> Lange-Bertalot	34
NAMP	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow f. <i>amphibia</i>	21
NFBU	<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>bulhemiana</i> (Rabenhorst) Grunow	138
NIZ1	<i>Nitzschia</i> sp 1	15
PACO	<i>Pinnularia acoricola</i> Hustedt var. <i>acoricola</i>	12
PSBR	<i>Pseudostaurosira brevistriata</i> (Grunow in Van Heurck) Williams & Round	5
SSVE	<i>Staurosira venter</i> (Ehrenberg) Cleve & Moeller	1

Tabla 5.28 Especies de diatomeas identificadas en el embalse Dique I

Código	Especies	Nº de valvas
ADEG	<i>Achnanthydium exiguum</i> (Grunow) Czarnecki	15
ADMI	<i>Achnanthydium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki	176
APED	<i>Amphora pediculus</i> (Kützing) Grunow	14
BNEO	<i>Brachysira neoexilis</i> Lange-Bertalot	15
CYLS	<i>Cyclotella</i> species	2

Código	Especies	Nº de valvas
ENMI	<i>Encyonema minutum</i> (Hilse in Rabenhorst) D. G. Mann	2
ENSP	<i>Encyonema species</i>	4
GDEC	<i>Geissleria decussis</i> (Ostrup) Lange-Bertalot & Metzeltin	6
GOMP	<i>Gomphonema sp</i>	12
HPDA	<i>Hippodonta pseudoacceptata</i> (Kobayasi) Lange-Bertalot Metzeltin & Witkowski	10
NCRY	<i>Navicula crytocephala</i> Kützing	4
NROS	<i>Navicula rostellata</i> Kützing	9
NASP	<i>Navicula sp</i>	10
NVSD	<i>Navicula sp 2</i>	6
NVDA	<i>Navicula vandamii</i> Schoeman & Archibald var. <i>vandamii</i>	12
NVEN	<i>Navicula veneta</i> Kützing	10
NZSU	<i>Nitzschia aff. supralitorea</i> Lange-Bertalot	2
NAMP	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow f. <i>amphibia</i>	22
NFBU	<i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow var. <i>bulhemiana</i> (Rabenhorst) Grunow	7
NNAN	<i>Nitzschia nana</i> Grunow in Van Heurck	9
NPAL	<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith	5
NIZ1	<i>Nitzschia sp 1</i>	12
NITZ4	<i>Nitzschia sp 4</i>	3
NUPS	<i>Nupela species</i>	6
PALJ	<i>Pinnularia aljustrellica</i> Luís, Almeida et Ector	4
SPUP	<i>Sellaphora pupula</i> (Kützing) Mereschkowksy	19

5.3.2. Variables físico-químicas

5.3.3. Estudio estadístico

Los parámetros físico-químicos analizados en este estudio se amplían con respecto al estudio previo en 4 embalses, para el total de los 23 embalses. Se estudian para éstos los siguientes 15 parámetros físico-químicos: pH, T, CE (EC sigla en inglés), TSD (TDS en inglés), SO_4^{2-} , Fe, Cu, Zn, Mn, Cd, Ni, Co, As, Sb, y Al; y las 2 variables biológicas Σ % Pin e Σ nº Sp que resumen la información contenida en la matriz de las 118 especies de diatomeas.

A continuación, se presenta el resumen estadístico de las variables en estudio para los 23 embalses (tabla 5.31). Aun siendo habitual iniciar estos trabajos de caracterización y modelización hidro-bioquímica con un tratamiento gráfico inicial que sirva para plantear hipótesis, presentamos antes los resúmenes estadísticos de referencia ya que de ellos derivan algunos de los gráficos que han sido elaborados y posteriormente contrastados con estadística clásica y fuzzy logic.

Tabla 5.29 Parámetros físicos y biológicos más sulfatos presentes en aguas de los 23 embalses en estudio (Rivera et al., 2020)

Embalses	pH	T (°C)	CE (µs/cm)	TSD (mg/L)	SO ₄ ²⁻ (mg/L)	Σ % Pin	Σ Nº Sp
Agrio	5,53	16,34	337,75	215,71	135,88	1,43	14,00
Aguas Ácidas	2,48	14,66	6494,38	4159,38	3193,63	74,50	5,00
Andévalo- Chorrito	3,83	17,45	841,25	537,41	338,38	14,02	11,00
Andévalo- Cobica	3,27	17,23	1140,50	730,32	371,13	2,99	5,00
Campanario	5,67	13,73	297,37	191,91	57,75	0,45	27,00
Chanza	5,91	17,46	362,56	250,59	36,88	0,00	26,00
Corumbel	5,84	16,70	282,50	180,46	21,06	1,00	22,00
Cueva de la Mora	2,76	15,54	2410,19	1516,24	1157,63	32,46	4,00
Del Pino	3,66	16,20	318,26	201,86	132,63	43,52	8,00
Dique I	6,01	18,36	192,97	122,58	23,00	1,01	26,00
Dique II	6,26	19,09	257,48	167,21	30,19	3,03	23,00
Garnacha	5,87	16,74	200,93	128,77	72,75	1,99	25,00
Gossan	2,66	16,53	2640,25	1688,63	1432,50	76,98	6,00
Grande	4,10	15,28	504,56	322,81	210,63	88,89	11,00
Herrerías	6,68	19,64	592,06	384,06	71,69	2,21	22,00
La joya	5,94	18,01	157,48	100,81	22,81	1,46	14,00
Lagunazo	5,68	17,91	424,75	271,63	128,50	0,00	20,00
Marismillas	2,21	16,99	4901,79	6196,57	2522,86	96,66	6,00
Olivargas	4,81	16,13	1240,50	794,44	496,06	4,00	17,00
Puerto León	5,75	17,14	253,28	210,39	49,13	0,00	16,00
Sancho	3,46	17,74	905,69	571,44	335,81	5,98	16,00
Silillos I	5,86	14,07	220,94	188,31	28,06	0,00	18,00
Silillos II	5,82	15,30	180,16	164,81	33,75	5,87	13,00

En la tabla 5.30. se muestra el resultado de los 10 parámetros químicos (Hierro, Cobre, Zinc, Manganeso, Cadmio, Níquel, Cobalto, Arsénico, Antimonio y Aluminio) en las aguas de los 23 embalses en estudio, como elementos más representativos de afección hidroquímica por AMD.

Tabla 5.30 Concentraciones de metales de las aguas de los 23 embalses en estudio. (Rivera et al., 2020)

Embalse	Fe (mg/L)	Cu (mg/L)	Zn (mg/L)	Mn (mg/L)	Cd (mg/L)	Ni (mg/L)	Co (mg/L)	As (mg/L)	Sb (mg/L)	Al (mg/L)
Agrio	0,47	0,19	0,17	1,38	0,08	0,03	0,05	0	0	0,45
Aguas Ácidas	158,74	9,14	20,77	35,44	0,11	1,23	3,63	0,35	0,01	0,14
Andévalo-Chorrito	5,42	1,68	2,18	6,09	0,27	0,12	0,16	0	0,01	0,56
Andévalo-Cobica	23,75	1,13	1,98	2,73	0,17	0,08	0,09	0,03	0	0,53
Campanario	0,48	0,1	0,11	2,36	0,14	0,04	0,06	0	0,02	0,32
Chanza	0,24	0,12	0,21	0,13	0,09	0,02	0,04	0	0	0,16
Corumbel	0,26	0,08	0,21	0,22	0,09	0,04	0,08	0	0	0,23
Cueva de la Mora	16,27	2,25	117,78	18,08	0,24	0,39	0,68	0,01	0	0,47
Del Pino	0,41	0,19	0,64	0,61	0,14	0,15	0,09	0	0	0,51
Dique I	0,13	0,05	0,15	0,11	0,07	0,08	0,04	0	0	0,3
Dique II	0,19	0,06	0,2	0,46	0,1	0,04	0,01	0	0,09	0,24
Garnacha	0,21	0,03	0,23	0,27	0,1	0,03	0,03	0	0,02	0,27
Gossan	34,19	6,41	9,84	10,74	0,13	0,46	1,3	0,01	0	0,45
Grande	0,46	0,12	0,48	2,70	0,12	0,06	0,06	0	0	0,41
Herrerías	0,37	0,09	0,09	0,48	0,1	0,04	0,04	0,07	0,01	0,19
La Joya	0,37	0,57	0,38	0,4	0,16	0,03	0,02	0	0	0,22
Lagunazo	0,99	0,07	0,25	0,5	0,14	0,07	0,04	0	0,01	0,37
Marismillas	319,98	234,37	105,21	41,63	0,9	1,03	8,57	1,69	0,13	0,07
Olivargas	2,7	1,41	1,55	2,29	0,2	0,05	0,08	0,1	0,04	0,74
Puerto León	0,52	0,99	0,25	1,31	0,17	0,03	0,04	0,01	0,04	0,41
Sancho	4,72	2,10	3,55	3,79	1,59	0,12	0,35	0,39	0,01	0,46
Silillos I	1,53	0,75	0,21	0,37	0,17	0,03	0,04	0,05	0	0,57
Silillos II	0,53	0,59	0,16	0,13	0,19	0,20	0,04	0,10	0	0,39

En dicha tabla, se puede observar que para los metales analizados, los mayores valores de concentración medidos se corresponden con el embalse Marismillas y Aguas Ácidas, destacando el Fe con 2559,85 mg/L y 317,47 mg/L; Cu con 234,7 mg/L y 9,14 mg/L; el Zn con 1054,21 mg/L y 20,77 mg/L, y el Mn con 41,63 mg/L y 35,44 mg/, respectivamente. El resto de los embalses presentan valores muy por debajo para todos los elementos analizados.

Esta carga metálica disuelta es la respuesta del sistema hídrico a los valores de pH que aparecen en la tabla 5.29 con los que resulta coherente así

como la concentración de SO_4^{2-} . Nótese como para valores muy bajos de pH en el caso del embalse Gossan respecto a la variable Cu, se observa una anomalía negativa interpretable como resultado de la extracción de este metal en las balsas de flotación de las que proceden sus aguas (Gray, 1996; Grande, 2011).

5.3.3.1. Resumen estadístico

La tabla 5.31. muestra un resumen estadístico de las 18 variables analizadas en los 23 puntos de muestreo en marzo de 2012, añadiendo ahora las 2 variables biológicas.

Tabla 5.31 Resumen estadístico de las 18 variables analizadas en los 23 puntos de muestreo.

VARIABLES	MEDIA	VARIANZA	MÍNIMO	MÁXIMO	RANGO
Al (mg/l)	0,37	44,43	0,07	0,74	0,67
As (mg/l)	0,12	299,66	0,00	1,69	1,68
Cd (mg/l)	0,24	142,60	0,07	1,58	1,52
Co (mg/l)	0,68	279,45	0,01	8,57	8,56
Cu (mg/l)	11,41	426,25	0,03	234,37	234,35
Fe (mg/l)	129,19	413,27	0,13	2559,85	2559,72
Mn (mg/l)	5,75	194,64	0,11	41,63	41,52
Ni (mg/l)	0,18	175,79	0,02	1,23	1,21
Pb (mg/l)	0,34	29,49	0,24	0,61	0,37
Sb (mg/l)	0,02	184,82	0,00	0,13	0,13
Zn (mg/l)	11,59	275,30	0,09	117,78	117,69
SO_4^{2-} (mg/l)	474,03	177,17	21,06	3193,63	3172,57
pH	4,79	29,79	2,21	6,68	4,47
T (°C)	16,71	8,94	13,73	19,64	5,91
CE (µS/cm)	1093,81	147,74	157,48	6494,38	6336,90
TSD (mg/L)	839,10	174,52	100,81	6196,57	6095,76
∑ % PIN	19,93	161,68	0	96,66	96,66
∑ N° SP	1543	48,91	4	27	23

Esta tabla presenta los valores paramétricos básicos de las variables en estudio. Pone en evidencia la gran variabilidad de los parámetros analizados, indicando que nos encontramos frente a un escenario extremadamente complejo. Esta aseveración queda soportada por los elevados valores que toma la varianza para todos las variables con excepción de la temperatura por las razones ya explicadas en apartados anteriores, es decir, una misma latitud norte aproximada generan climas similares y las pequeñas variaciones de T son

atribuibles a diferencias térmicas a lo largo del día ya que no todos los embalses se muestrearon a la misma hora.

Estas variaciones tan notables indican la existencia de casos graves de contaminación por AMD en algunos embalses y al mismo tiempo otros muy poco afectados denunciados por un rango de pH muy amplio (2.21 hasta 6.68) como consecuencia del muy diferente grado de contaminación de los embalses en estudio. Lo mismo cabe decir de la presencia de altos rangos de TSD, CE, SO_4^{2-} y metales (especialmente, As, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Zn) en disolución como indicadores típicos de esta contaminación (Grande, 2016).

El % de varianza proporciona una de las informaciones más importantes de esta tabla, ya que es indicadora del grado de dispersión que presenta cada variable alrededor de los valores de tendencia central (media). Este hecho es de vital importancia para las variables biológicas $\sum\% \text{Pin}$ y $\sum \text{N}^\circ \text{Sp}$, mostrando un valor alto para el primero ($\sum\% \text{Pin}$ 161.7%) y un valor bajo para el segundo ($\sum \text{N}^\circ \text{Sp}$ 48.9%), permitiendo con esto definir las condiciones que controlan el escenario de sobrevivencia de las especies en esta hidrogeoquímico asociado a la Faja Pirítica Ibérica. Así, las especies de *Pinnularia* presentan una mayor capacidad de supervivencia en condiciones extremas y una mayor adaptabilidad a diferentes medios, dependiendo del total de especies ($\sum \text{N}^\circ \text{Sp}$) considerado en nuestra matriz de datos (Rivera *et al.*, 2019).

Para las variables físico-químicas, los valores de varianza en % que se muestran en la tabla 5.55. más extremos, son los de Fe y Cu (> 400%), indicando valores de dispersión altos en ambos, lo cual no es casual considerando que hay algunos lugares cuyo pH se aproxima a 7 (pH máx. 6.68) y otros con pH muy bajo (pH mínimo cercano a 2.21). A este hecho hemos de sumar dos fenómenos, la alta variabilidad en la concentración de Fe total disuelto que es el valor medido sin especiación y que está altamente influenciado por la precipitación del Fe^3 tras la hidrólisis. El otro fenómeno es el ya invocado en otras partes de este trabajo y radica en el carácter exponencial de la variable pH.

La oxidación de sulfuros en el agua intersticial de las escombreras provoca un ambiente reductor que provoca la aparición de valores de pH bajos que se incorporan por gravedad a las escorrentías superficiales; se trata de

“aguas jóvenes” que tras las lluvias y un tiempo variable de residencia en el interior de la escombrera (Sainz et al, 2002) se ven afectadas por AMD. Al salir de la escombrera y en presencia de oxígeno disponible, el Fe^{2+} movilizado a partir del sulfuro de hierro se oxida a Fe^{3+} . En general, siempre que el pH no llegue a 3, el ión férrico precipita como oxi-hidroxi-sulfato, promoviendo la disminución de su concentración en solución, y generando precipitados rojizos mientras que el pH del agua disminuye al liberar iones de hidrógeno (López-Pamo *et al.*, 2009; Santofimia *et al.*, 2012). Según estos autores, para un pH cercano a 3, la concentración de Fe^{3+} aumenta y actúa como oxidante de pirita sin la necesidad de oxígeno disuelto, dando al sistema más Fe^{2+} , SO_4^{2-} y H^+ (Rivera *et al.*, 2019).

Los valores de % de varianza más bajos corresponden a Pb, Al, temperatura y pH. Las razones para esto son muy diversas: el Pb sólo alcanza el 30%, ya que está presente como galena en algunas paragénesis muy definidas de la Faja Pirítica Ibérica y se somete a un control de solubilidad restringido, condicionado por las relaciones (pH / Eh) (de la Torre *et al.*, 2016). El Al no es parte de la paragénesis primaria (pirita) pero, por el contrario, su origen está en las pizarras de las rocas encajantes con lo que solo se incorpora a las aguas a partir de ciertos rangos de pH (Santisteban, 2015).

El bajo porcentaje de varianza para el pH (30%) podría malinterpretarse en comparación con el alto porcentaje de varianza mostrado para As, Co (~300%), así como para Fe y Cu (hasta 400%, explicado anteriormente). La justificación de esta discreta variación porcentual no es otro que el carácter logarítmico del pH que oscila entre 0 y 14. Si desdobláramos el valor de esta variable mediante el antilogaritmo o simplemente expresáramos la acidez como equivalentes de carbonato veríamos un valor de la varianza acorde con las altas correlaciones

As, Cd, Ni, Co, Sb no muestran concentraciones significativas en este ambiente en términos absolutos (el rango de todas las variables es 0.001 mg/L hasta 8.6 mg/L). Sin embargo, es importante observar que el valor de concentración de As es alto: 1.69 mg/L, muy alto en términos relativos ya que es 169 veces más alto que el límite permitido por la Directiva 98/83/CE (1998), lo que indica una alta toxicidad de este metaloide.

Teniendo en cuenta el valor de la varianza, los parámetros analizados adquieren el siguiente orden:

$Cu > Fe > As > Co > Zn > Mn > Sb > SO_4^{2-} > Ni > TSD > \sum \% Pin > CE > Cd > \sum N^o Sp > Al > pH > Pb > T.$

Los mínimos y máximos de concentración, respectivamente, que se registran en los metales y metaloides analizados son los siguientes:

Al (0,07 mg/L y 0,74 mg/L); As (0,00 mg/L y 1,69 mg/L); Cd (0,07 mg/L y 1,58 mg/L); Co (0,01 mg/L y 8,57 mg/L); Cu (0,03 mg/L y 234,37); Fe (0,13 mg/L y 2559,85 mg/L); Mn (0,11 mg/L y 41,63 mg/L); Ni (0,02 mg/L y 1,23 mg/L); Pb (0,24 mg/L y 0,61 mg/L); Sb (0,00 mg/L y 0,13 mg/L) y Zn (0,09 mg/L y 117,78 mg/L).

Las concentraciones medias de los metales y metaloides analizados muestran el siguiente orden:

$Fe > Cu > Zn > Mn > Co > Al > Pb > Cd > Ni > As > Sb$

La Conductividad Eléctrica muestra un valor medio de 1093,81 $\mu s/cm$, perteneciendo el valor mínimo de 157,48 $\mu s/cm$ a La Joya y el máximo de 6494,38 $\mu s/cm$ a Aguas Ácidas. Estos valores de CE muestran una clara similitud de escalonamiento con los de SO_4^{2-} como cabía esperar, ya que en ausencia de cloruros, es la concentración de sulfatos y no el sumatorio de metales como se pensaba antiguamente los responsables de las variaciones de conductividad eléctrica (Grande et al, 2005).

El mayor valor de concentración del total de sólidos disueltos (TSD) ha sido de 6196,57 mg/L en el embalse Marismillas, mientras que el mínimo ha sido de 100,81 mg/L en el embalse la Joya. La concentración media se ha registrado en 839,10 mg/L.

La media de los sulfatos analizados es de 474,03 mg/L, obteniéndose su valor máximo en Aguas Ácidas con 3193,63 mg/L, y un mínimo de 21,06 mg/L en el embalse Corumbel y La Joya entre 21 y 22 mg/L. Esto corrobora lo descrito en el apartado anterior respecto a la influencia de los sulfatos en la CE.

5.3.4. Tratamiento gráfico inicial

Para el estudio de la masa de datos referentes a los parámetros físico-químicos obtenida en los puntos de muestreo de los embalses, se ha hecho un análisis gráfico.

El resultado del sumatorio de los metales principales analizados (Fe, Cu, Zn, Mn, Cd, Ni, Co, As, Sb, Al) en los 23 embalses, se ha tratado de representar mediante un diagrama circular para una más fácil comprensión del fenómeno (figura 5.5.). Marismillas y Aguas Ácidas son los que presentan más contenido en metales llegando entre ambos casi al 80% del total. Este hecho guarda una extraordinaria relevancia para la distribución de las especies más extremófilas.

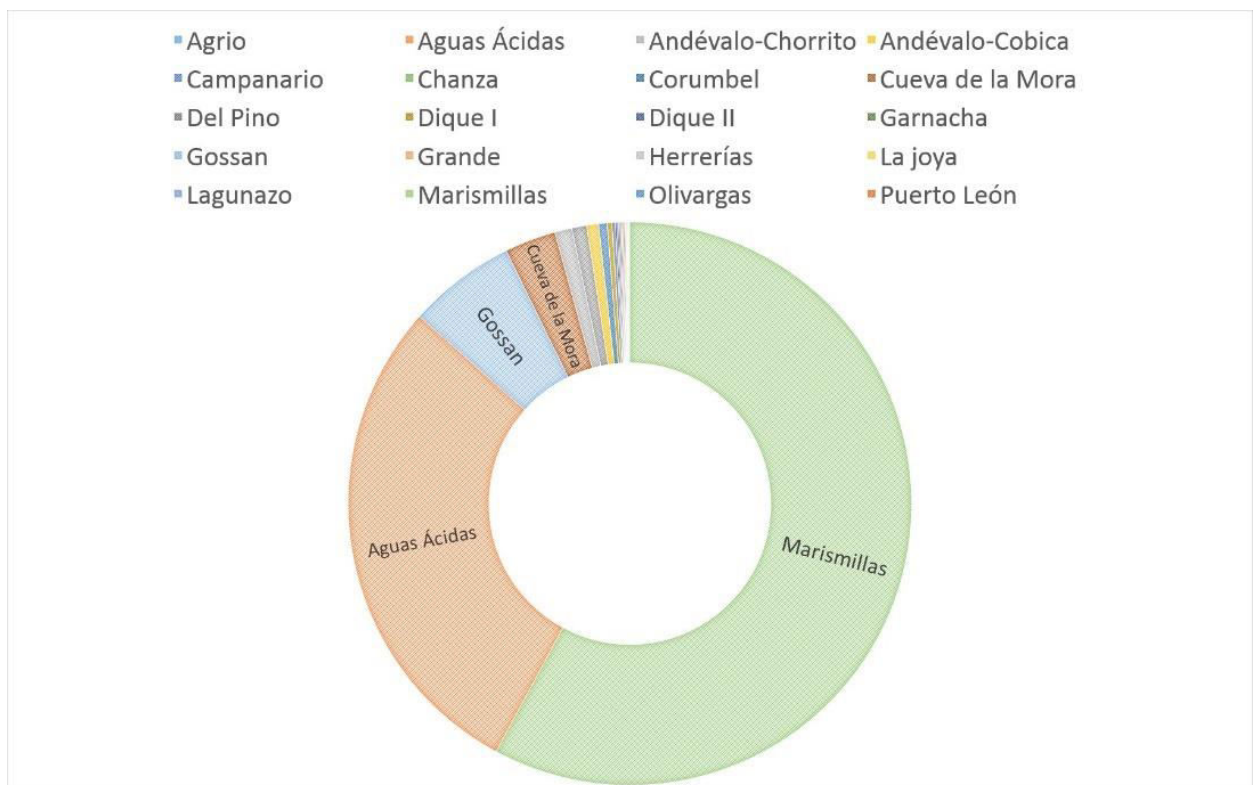


Figura 5.5 Diagrama circular representativo del sumatorio de metales analizados en los 23 embalses

Se han representadas las 16 variables físico-químicas descritas en las tablas anteriores y las 2 variables biológicas como sumatorio del número de especies ($\sum N^{\circ} Sp$) (expresión de la diversidad total de especies en cada muestra) y el sumatorio de la presencia de especies del género *Pinnularia* ($\sum\%$

Pin) en cada muestra, ya que la abundancia de las especies de este género nos ofrece una evidencia del grado de afección por AMD.

Los datos han sido sometidos a un análisis estadístico mediante análisis clúster, análisis de redundancia basada en la distancia (dbRDA) y análisis SIMPER.

5.4. Caracterización biogeoquímica de parámetros físicoquímicos y biológicos a partir de tratamiento estadístico.

5.4.1 Análisis Cluster

El término de análisis clúster se utiliza para definir una serie de técnicas, fundamentalmente algoritmos, que tienen por objeto la búsqueda de grupos similares de variables, que se van agrupando en conglomerados en función de las proximidades entre ellas. Dada una muestra de individuos, de cada uno de los cuales se dispone de una serie de observaciones en base a sus coeficientes r de Pearson, el análisis clúster sirve para clasificarlos en grupos lo más homogéneos posible según sus proximidades de Pearson.

Para el análisis clúster de las variables obtenidas se ha empleado un método “jerárquico”, que permite la construcción de un árbol de clasificación denominado “dendrograma”, y “aglomerativo”, que comienza el análisis con tantos grupos como variables haya y continúa formando grupos de forma ascendente, para razones de proximidad sucesivamente menores. De este modo, al final del proceso todos los casos (variables o puntos de observación) están englobados en un mismo conglomerado.

Este tipo de análisis ha sido ampliamente empleado en el estudio de medios afectados por AMD. Algunos de los autores que han empleado este tipo de análisis son: Cerón *et al.*, (2013b); Grande *et al.*, (2014a-b, 2015); Santisteban *et al.*, (2012, 2013); Lobo *et al.*, (2014); Salmerón *et al.*, (2014) y Valente *et al.*, (2014).

En el caso que nos ocupa, dos dendrogramas correspondientes a variables físicoquímicas y biológicas (entrando como variables a jerarquizar en el sistema) y puntos de muestreo (entrando ahora como variables a jerarquizar

en el sistema los propios puntos de muestreo), se presentan en las figuras 5.6. y 5.7.

En la (figura 5.6) se muestra una agrupación evidente de las variables en 2 grandes grupos:

El Al aparece aislado en el sub-clúster más hacia la derecha y \sum Sp, pH y temperatura (T) están juntos en el otro sub-clúster también derecho. El Al está aislado porque no es parte de los minerales de la paragénesis primaria sulfuros polimetálicos, sino que proviene de la roca encajante pizarroso cuarcítica. Este hecho, sumado a su baja solubilidad en comparación con la de los otros metales, es lo que condiciona su bajo porcentaje de varianza (44,4%) en la Tabla 5.31.

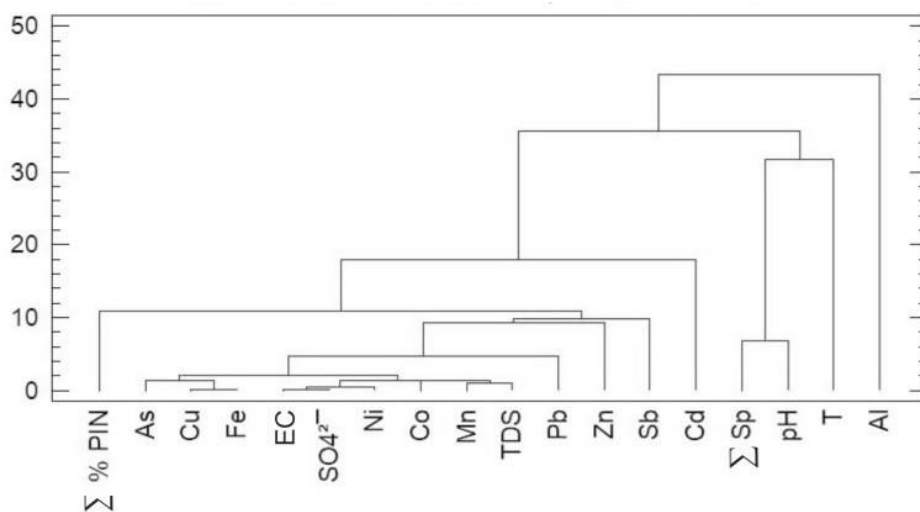


Figura 5.6 Dendrograma resultante de la agrupación de las variables fisicoquímicas y biológicas utilizando el método Ward, Método del Cuadrado Euclideo

Sin duda lo más llamativo de este dendrograma es la proximidad entre pH y \sum Sp. En efecto, Grande et al 2005, Grande 2011, Grande 2016, entre otros han aplicado esta herramienta a masas de datos solo físico-químicos en medios AMD. En todos los casos anteriores el pH aparece íntimamente ligado por lo general a los sulfatos. En efecto, estas sales proceden de la oxidación de sulfuros para dar sulfatos con liberación de hidrogeniones, por ello, la caída de pH inducida tras éste fenómeno liga de forma estrecha a pH y SO_4^{2-} . En la gráfica que se describe, la máxima proximidad del pH es con el \sum Sp y no con los sulfatos. Este hecho se interpreta como una mayor correlación de Pearson del PH con el \sum Sp que con los propios sulfatos de los que deriva desde el punto de

vista hidroquímico. Hasta ese extremo llega la importancia de las diatomeas como indicadores del grado de afección en las aguas de mina.

Abundando sobre el párrafo anterior, el $\sum Sp$ está estrechamente relacionado con el pH ya que, a un pH más alto dentro de este rango de estudio, hay una mayor diversidad de comunidades de diatomeas. Por otro lado, en el grupo principal izquierdo, su subdivisión en 2 subgrupos se realiza de acuerdo con: $\sum\% Pin$ es opuesto a pH alto y a $\sum Sp$ alto, ya que $\sum\% Pin$ está estrechamente relacionado con metales (como de arsenopirita, Cu y Fe de pirita) y con aguas ácidas (Luís *et al.*, 2016, 2018, 2019).

En el mismo cluster, pero en el extremo opuesto aparece el % de pinnularias asociadas, de forma más distal a los metales indicadores de AMD como cabía esperar (Luis *et al.*, 2019).

La variable TDS está íntimamente asociada con CE en el subgrupo que muestra la relación de proximidad de Pearson más alta más alta. Este hecho es común en aguas sin cloruros disueltos, siendo el responsable de las variaciones de la CE en medios AMD.

En un subgrupo superior, la CE y los sulfatos se encuentran en estrecha asociación con los metales típicos de AMD (As, Cu, Fe), ya descritos por Luís *et al.* (2019). En este último subgrupo, aparece la variable TDS que es la suma de las variables anteriores: CE, sulfatos y metales.

La alta CE está relacionada con un alto contenido de sulfatos (disolución de sulfatos causada por la oxidación de los sulfuros) que es típica de las aguas contaminadas con AMD.

El Mn no está en la paragénesis de azufre sino en pizarras moradas en la parte superior de la mineralización (Santisteban, 2015), este hecho, unido a que se incorpora en medio ácido procedente del Complejo Vulcano Sedimentario asociado al nivel de pizarras moradas justifican su presencia en esa posición del dendrograma.

Cd, Ni, Co, Sb no muestran un comportamiento significativo y discriminatorio. Por lo tanto, las divisiones de este grupo sugieren diferentes

posibles causas de contaminación del entorno hidrológico y paragenético que podemos vincular a la gran extensión del área en estudio.

Por otro lado, a efectos de regionalizar las variables en estudio, el dendrograma de la figura 5.7, muestra ahora como variables de entrada al sistema los 23 embalses como puntos de muestreo individuales, afectados cada uno de ellos por toda la información relativa a las propias variables físico-químicas y biológicas que transportan. Con ello, el dendrograma de la figura (5.8.) agrupa en este caso a los propios embalses en función de su afinidad de Pearson.

Se observan en primer lugar dos grupos diferenciados en el clúster:

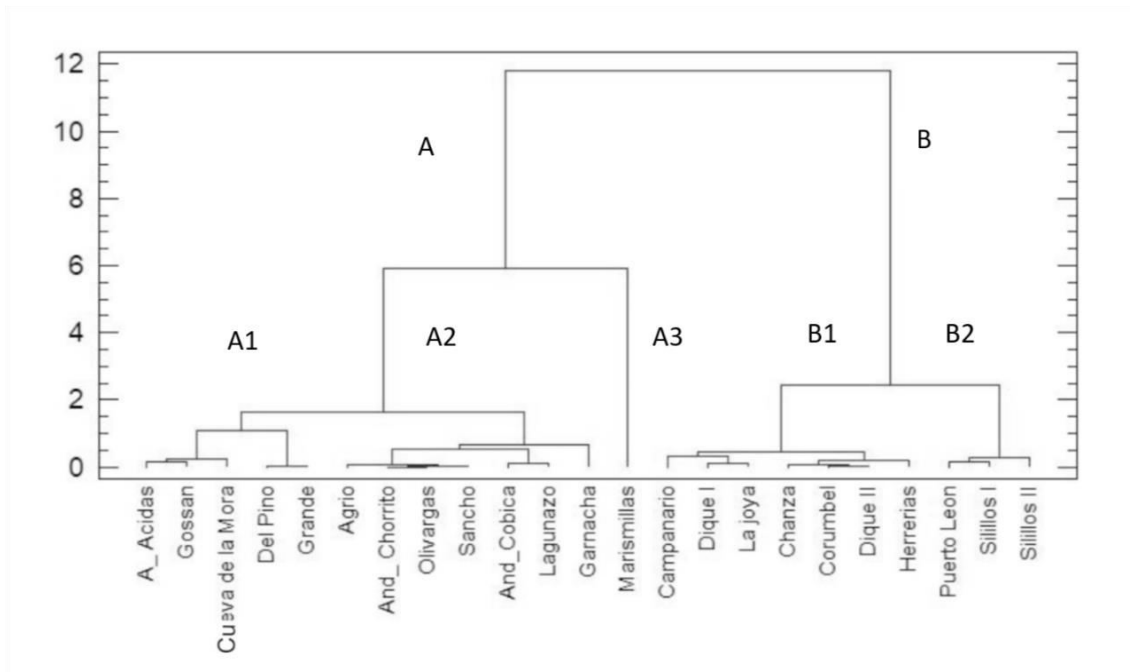


Figura 5.7 Dendrograma resultante de la agrupación de los puntos de muestreo utilizando el método Ward Euclidea

- Grupo o Clúster A: muestras desde Embalse de Aguas Ácidas (Aac) hasta embalse de Marimillas (Maris) todos ellos con $\text{pH} < 5,68$.
- Grupo o Clúster B: muestras desde Embalse Campanario (Camp) a Embalse Silillos II (Sil II) con $\text{pH} > 5,70$.

El grupo A se divide en 3 subgrupos de embalses:

A1) Aguas Ácidas (Aac), Gossan (Gos), Cueva de la Mora (Cmora), Del Pino (Dpin), Grande (Gran). Están muy próximos debido a su bajo pH desde 2,48 hasta 4,10; altas concentraciones de metales y sulfatos y alto $\Sigma\%$ Pin (32% - 89%), por lo tanto muy afectados por AMD.

A2) Agrio (Agrio), Andévalo-Chorrito (Andc), Olivargas (Oliv), Sancho (San), Andévalo-Cobica (And), Lagunazo (Lagu), Garnacha (Gar). Tienen un rango de pH más alto (desde 3,27 hasta 5.8) que el del grupo anterior (A1). Sin embargo, aquí, Lagunazo, Agrio y Garnacha tienen un pH más alto (5,5-5.9); concentración de sulfatos más baja y $\Sigma\%$ Pin más bajo, en comparación con los otros embalses de este grupo. También debido a su mayor número de especies (ΣSp), quedan localizados en el lado más a la derecha de este subgrupo

A3) Es de apreciar que la relación de proximidad de Pearson es muy alta en todas las muestras, con la excepción de Marismillas que se localiza a una distancia cuadrática euclidiana considerable en relación al resto de la posición de los subgrupos A1 y A2.

El embalse de Marismillas, aparece en un subgrupo separado, A3. Este embalse, recibe grandes cantidades de materia particulada y disuelta que se originan de los residuos procedentes de las escombreras del Complejo Rio Tinto y Peña del Hierro altamente afectado por AMD : pH ácido así como altas cargas de sulfatos y metales. Hoy en día, este embalse está colmatado con sedimentos finos procedentes de las minas así como de la Planta de Tratamiento de Resíduos Sólidos Urbanos de Nerva, lo que provoca un anormal incremento de materia orgánica disponible. Además, este entorno AMD también está sujeto a derrames de residuos sólidos urbanos de la Planta, que crea diferentes sub-ambientes, caracterizados principalmente por la disponibilidad de materia orgánica, que no existe en otros embalses contaminados por AMD. Este embalse está dominado por *Pinnularia aljustrelica* ($\Sigma\%$ Pin 97%), esta podría haber sido la responsable de su disposición más distal del subgrupo A1.

El clúster B se divide en 2 subgrupos:

- El subgrupo B1, formado por los embalses Campanario (Camp), Dique I (Diq I), La Joya (Joya), Chanza (Cha), Corumbel (Corum), Dique II (Diq II)

y Herrerías cuyo rango de pH es 5,67-6,68 y con el mayor número de especies ($\sum Sp$).

- El subgrupo B2, formado por los embalses Puerto León (Pleon), Silillos I (Sil I) y Silillos II (Sil II), que se distinguieron del grupo anterior debido a su rango de pH más bajo (5,75-5,86) y un número intermedio de especies ($\sum Sp$).

Podemos constatar de este modo, una vez más en esta tesis, como la abundancia y diversidad de diatomeas condicionan los agrupamientos en un análisis cluster, dicho de otro modo, son buenos indicadores de afección.

5.4.2. Análisis dbRDA.

El análisis dbRDA se utiliza en este trabajo para contrastar con los resultados estadísticos del análisis Clúster y para comprender mejor todos los procesos obtenidos en el escenario en estudio.

Por los resultados anteriores del análisis Cluster, el pH se destacó como el principal factor que direcciona el comportamiento de las comunidades y de los locales, así que ha sido seleccionando en la dbRDA para definir grupos de puntos de muestreo de acuerdo con el pH y las comunidades de diatomeas.

El análisis dbRDA se ha utilizado previamente para escenarios similares (Luís *et al.*, 2016) y se caracteriza esencialmente por la superposición en el mismo gráfico de dos familias de variables involucradas en el modelo propuesto. Las dos familias de variables podrían haberse considerado linealmente dependientes en una primera aproximación, ya que parte de la información transportada por las variables físico-químicas ya está incluida en la información que llevan las variables sitios de muestreo. Esto no es tan lineal, ya que las variables, sitios de muestreo, en su definición estadística, ya incluían las variables físico-químicas, así como aquí en la dbRDA. Lo nuevo en la dbRDA es la inclusión de la matriz de las 118 especies de diatomeas (% de abundancia de cada especie) que no se incluyó en el análisis Clúster para evitar la superposición de variables.

El dbRDA podría considerarse como una hibridación entre un PCA (Análisis de Componentes Principales) y un Análisis Factorial (figura 5.8).

Esto permite visualizar las variables físico-químicas que muestran una mayor correlación de proximidad de Pearson: SO_4^{2-} , Cu, Mn, Pb por un lado y CE, TDS, Cd, Co, Al, As, Ni, Zn por el otro lado y el pH aislado, contrario a los parámetros anteriores. El pH tiene una correlación negativa significativa de -0,830 con el eje de coordenadas 1 de dbRDA, separando en la parte izquierda, los 2 grupos con el pH más alto (4,5-7) y en la parte derecha del gráfico, los 2 grupos de muestras con el pH más bajo (2-4,5). Por otro lado, SO_4^{2-} y Mn muestran una correlación importante de 0,45 con el eje de coordenadas 2 de dbRDA y están más correlacionados con sitios con pH bajo: Gran, Maris, Aac, Gos, Andc.

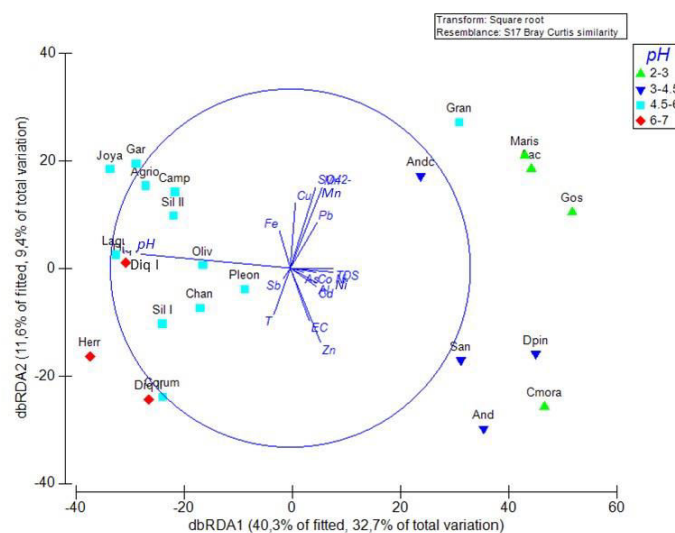


Figura 5.8 Análisis de redundancia basado en la distancia (dbRDA) para la matriz de semejanza de diatomeas que evidencia la disposición de las muestras y las variables ambientales que explican el 32.7% + 9.4% de la variación total ajustada.

El pH fue la variable principal que dividió los tratamientos en 4 grupos: Maris, Aac, Gos, Cmora (pH 2-3); And, Andc, San y Dpin (pH 3-4.5); Gran, Pleon, Oliv, Chan, Sill, Joya, Gar Agrio, Camp, Corum y Lagu (pH 4.5-6); Herr, Diq I, Diq II pH 6-7.

Los grupos 1 y 2 parecen mezclarse de alguna manera, algunos sitios más relacionados con Cu, Mn, Pb y SO_4^{2-} (cuadrante noreste) y otros más relacionados con la CE y otros metales (cuadrante sureste). Ambos grupos

representan los embalses con el mayor grado de contaminación por AMD, que también se aparecen agrupados conjuntamente en el Clúster de puntos de muestreo.

Se puede decir que dbRDA valida por tanto el análisis Clúster previo, siendo el pH el factor ambiental más importante que controla la distribución de las comunidades.

5.4.3. Preferencias ecológicas de las comunidades de diatomeas: análisis SIMPER

El análisis de las comunidades de diatomeas muestra su contribución con respecto al estado ecológico de las masas de agua, al considerar la frecuencia y abundancia de cada taxón en relación con las condiciones fisicoquímicas. Como se ha dicho antes, se identificaron un total de 118 especies diferentes en los 23 embalses de agua, sin embargo, muchas con baja representación (43 especies con abundancia <1%).

En los 4 grupos obtenidos en el dbRDA representados en la figura 5.8. es posible observar la especie de diatomeas dominante en cada grupo mediante análisis SIMPER. Esto permite identificar las especies más representativas, creando un patrón de similitud observado en las muestras de cada grupo:

- A un pH < 4,5 (los dos primeros grupos), aparecen como dominantes 6 especies conocidas como acidotolerantes y acidófilas (94% de la población total se encuentra en estos 2 grupos). Se trata de las especies *Nitzschia cf. thermalis* (Kützing) (NTHM), *Pinnularia acidophila* Hofmann & Krammer (PACI); *Pinnularia aljustrellica* Luís, Almeida et Ector (PALJ), *Pinnularia subcapitata* Gregory (PSCA), (figura 5.9) y *Eunotia exigua* (Brebisson ex Kützing) Rabenhorst (EEXI) (figura 5.10). Estas especies han sido encontradas por otros autores en ambientes similares caracterizados por sus condiciones extremas (Kim et al., 2008; Luís et al., 2012, 2016, 2018; Valente et al., 2016). Por lo tanto, las especies que se encuentran en estos embalses encajan bien con el impacto provocado por AMD de bajo pH y alta carga metálica, provocando una disminución en la diversidad de diatomeas, con más relevancia en las variaciones espaciales que estacionales (Luís et al., 2009).

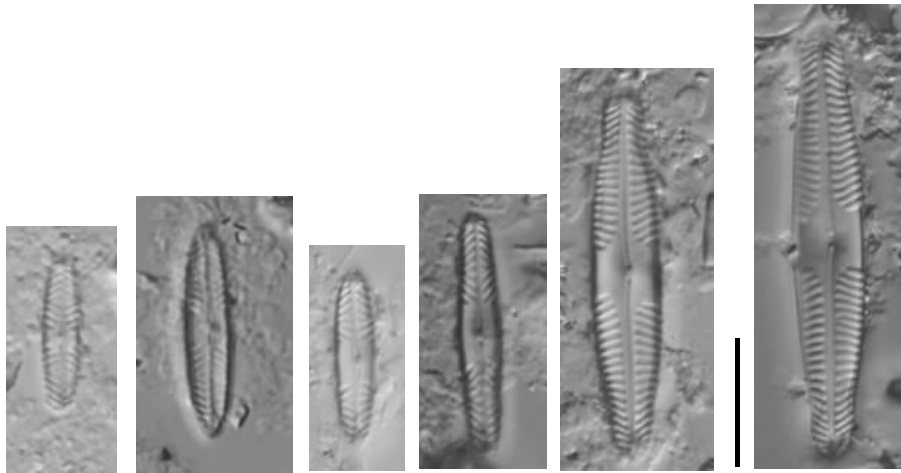


Figura 5.9 Fotografías de especies del género *Pinnularia* obtenidas en estos 2 primeros grupos de embalses y observadas bajo el microscopio óptico (Zeiss Axioplan 2 Imaging). De la izquierda para la derecha: 1-2-3-*Pinnularia acidophila*, 4-*Pinnularia aljustrellica*, 5-6 *Pinnularia subcapitata*



Figura 5.10 Fotografía de *Eunotia exigua* obtenidas en estos dos primeros grupo de embalses y observadas bajo el microscopio óptico (Zeiss Axioplan 2 Imaging). Barra de escala 10 μm

- En embalses con pH (4,5-6), se identificaron un total de 97 especies de 26 géneros diferentes. El número total de especies se eleva muy considerablemente, aumentando la diversidad de las comunidades de diatomeas. Las especies acidófilas no desaparecen, sin embargo, las especies típicas de ambientes neutros aparecen como dominantes, tales como: *Achnanthydium minutissimum* (Kützing) Czarnecki (ADMI), que domina junto con especies del género *Navicula* (NAVI) (figura 5.11) y especies del género *Nitzschia* (NITZ) (figura 5.12).

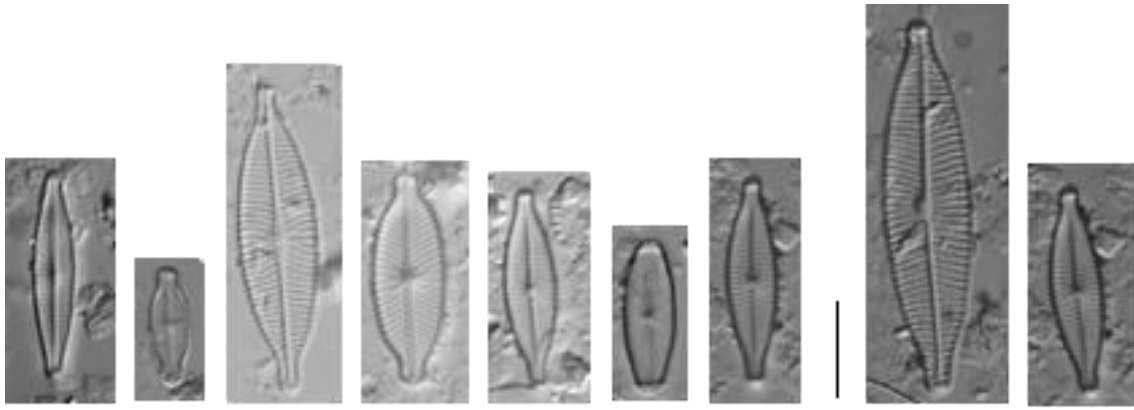


Figura 5.11 Fotografías de especies del género *Navicula* obtenidas en este grupo de embalses y observadas bajo el microscopio óptico (Zeiss Axioplan 2 Imaging). Barra de escala 10 μ m

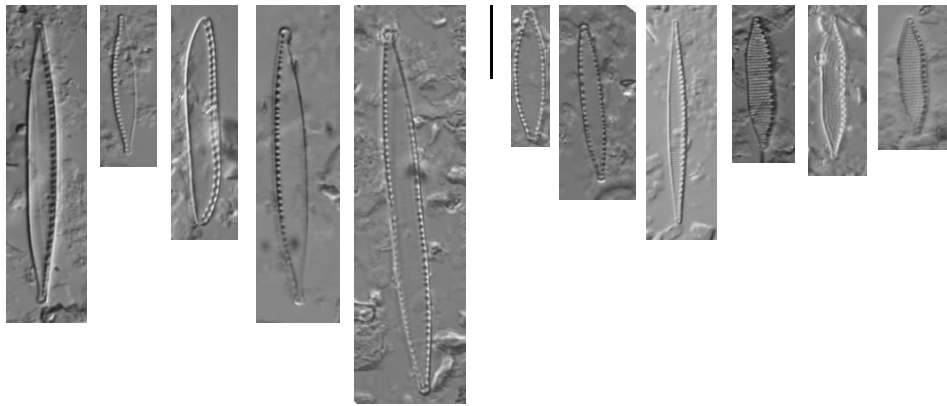


Figura 5.12 Fotografías de especies del género *Nitzschia* obtenidas en este grupo de embalses y observadas bajo el microscopio óptico (Zeiss Axioplan 2 Imaging). Barra de escala 10 μ m

- En embalses con pH (6-7), el número total de especies se duplican en comparación con el grupo anterior (4,5-6), siendo las comunidades más diversas las de este grupo. Especies típicas de ambientes alcalinos (figura 5.13) como *Nitzschia frustulum* (Kütz.) Grunow var. *bulnheimiana* (Rabh.)

Grunow (NFBU), *Nitzschia amphibia* Grunow (NAMP) y *Achnantheidium exiguum* (Grunow) Czarnecki (ADEG) comenzaron a aparecer en abundancia, entre otras. Otras menos dominantes, como *Navicula veneta* Kützing (NVEN), *Cyclotella meneghiniana* Kützing, *Cyclotella ocellata* Pantocsek y *Achnantheidium minutissimum* (Kützing) Czarnecki (ADMI) también aparecieron en este grupo (figura 5.13).

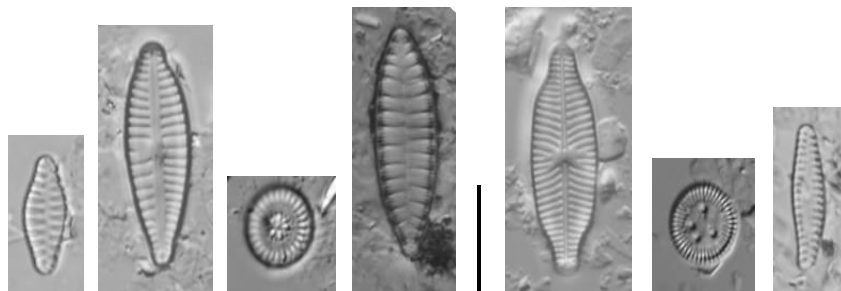


Figura 5.13 Fotografía de diferentes especies de diatomeas que muestran la diversidad de este grupo de embalses, observadas bajo el microscopio óptico (Zeiss Axioplan 2 Imaging). Barra de escala 10 μ m

La figura 5.14 muestra el porcentaje de contribución de cada especie a la similitud observada entre muestras de cada grupo de pH. Donde se observa una clara dominancia de *Pinnularia aljutrellica* (PALJ), *P. acidophila* (PACI) y *P. subcapitata* (PSCA) en el grupo de pH 2-3, debido a los bajos valores de pH y altas concentraciones de sulfatos y metales.

Cuando el pH aumenta un poco, *Eunotia exigua* (EEXI) a se torna una de las más abundantes.

Achnantheidium minutissimum es claramente muy abundante en el grupo 4.5-5. Por fin, el grupo de pH más elevado, 6-7 presenta una grande diversidad siendo el único que no contiene ninguna especie de las típicas del grupo 2-3. Como más abundante surge el género *Nitzschia* con algunas especies presentes.

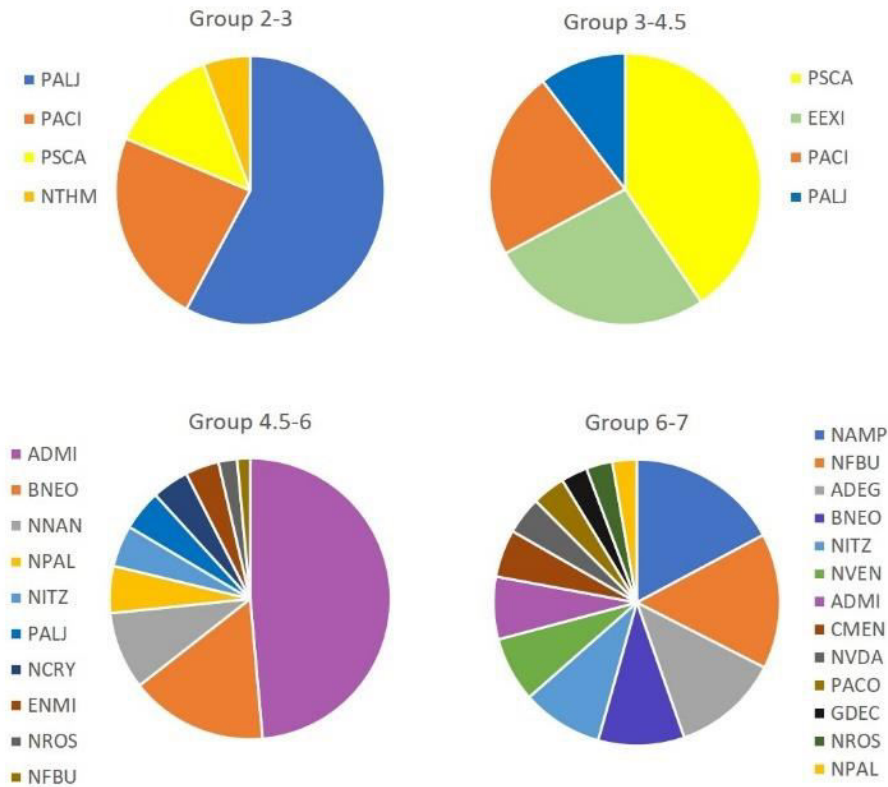


Figura 5.14 Tratamiento gráfico que muestra el porcentaje de contribución de cada especie a la similitud observada entre muestras de cada grupo de pH

Con este segundo trabajo ha sido posible concluir:

- Mediante Análisis Clúster, las 3 variables que condicionaran o comportamiento hidroquímico y biológico han sido pH, $\sum \%Pin$, $\sum Sp$;
- El embalse de Marismillas se encuentra separado en un subcluster separado de los demás debido a su grande abundancia en Pinnularia aljustrellica (97%);
- La dbRDA ha permitido la separación de los embalses, mediante agrupación de los mismos en clases de pH:
 - Maris, Aac, Gos, Cmora (pH 2-3)
 - Andc, San, And, Dpin (pH 3-4,5)
 - Gran, Pleo, Oliv, Chan, Lagu, Sill I, Sill II, Joya, Gar, Agrio, Camp, Corum (pH 4.5-6)

- Herr, Diq I, Diq II (6-7)

Cada embalse presenta diferentes grados de contaminación, no quedando clara la existencia de un patrón de comportamiento global. Sin eventos de lluvia, sin duda es el pH el que controla la disolución de la mayoría de los metales y sulfatos, que a su vez regula los valores de conductividad. Esta ausencia de un patrón global claro para todos los embalses puede interpretarse como una consecuencia de la coexistencia de paragénesis minerales muy distintas en todo el IPB, así como de la diversidad de tamaño y naturaleza de las cuencas hidrográficas y del propio tamaño de todo el escenario en estudio. Otros factores, como la intensidad y duración de los procesos mineros, o su grado de restauración actual también contribuyen al desarrollo de patrones hidroquímicos individuales. El crecimiento de la especie y su tolerancia específica para distintos rangos de pH, especialmente aquellos tolerantes a pH bajo (por ejemplo, *Pinnularia aljustrellica*, *Pinnularia acidophila*, *Pinnularia acoricola* y *Eunotia exigua*), validan la importancia de las diatomeas como bioindicadores de las presas afectadas por AMD, contribuyendo además del pH, al agrupamiento de embalses dada la diversidad de patrones hidroquímicos.

5.5. Lógica borrosa

Las herramientas Fuzzy Logic (Lógica Borrosa) y Data Mining (Minería de datos) para la caracterización de AMD confirma en este trabajo los modelos de funcionamiento que se habían propuesto previamente para este área utilizando estadística clásica.

5.5.1. Análisis PreFuRGe

El método PreFuRGe proporciona una validación notable de la eficiencia general para el diagnóstico cualitativo con la aplicación de Lógica Borrosa a los datos obtenidos del muestreo realizado. También se ha empleado aquí para establecer relaciones causa-efecto que, en contraste con los tratamientos estadísticos clásicos, facilitan la comprensión de los procesos involucrados.

La integración de datos biológicos en la matriz de entrada en el software PreFuRGe permitió una mejor discriminación de la respuesta de las diatomeas a los estímulos causados por los cambios hidroquímicos impuestos por los procesos que afectan a la calidad del agua. El escenario hidroquímico se ha

modelizado el sistema hídrico con sus variables físico-químicas y biológicas imponiendo límites máximos y mínimos para cada parámetro (antecedente) de acuerdo con las condiciones impuestas por el parámetro consecuente, que en este caso fueron el $\sum N^{\circ}$ sp, $\sum \%Pin$ y el pH.

Las Figura 5.5, Figura 5.16 y Figura 5. muestran las reglas borrosas obtenidas. De esa manera, en cada gráfico se muestra toda la información trazada por las diferentes variables analizadas. En la última columna de la derecha, se representa el consecuente y en las otras columnas, el antecedente, lo que significa cómo se comportan los parámetros antecedentes considerados en relación con los valores tomados por el antecedente.

Para cada regla borrosa, las variables afectadas que se muestran en la parte inferior de la figura geométrica que representa su grado de dispersión, son varios valores numéricos que se corresponden con el universo del discurso de la variable en cuestión, que en términos de estadística clásica se conoce como rango o amplitud de la variable.

La naturaleza semicuantitativa de esta herramienta, aplicada a los escenarios descritos, permite clasificarlos dependiendo de los valores tomados por cada variable dentro de su propio universo de discurso. Por lo tanto, también se contempla la posible existencia de valores extremadamente bajos, bajos, medios, altos y extremadamente altos, con todas las combinaciones intermedias posibles que causan la aparición de dispersiones medio bajo y medio alto.

La figura 5.15 muestra las reglas obtenidas tomando el pH como el consecuente y el resto de las variables como antecedentes. En esencia, en la figura 5.7. fila horizontal superior, nosotros preguntamos al software que sucede en el sistema cuando el PH (final a la derecha de la tupla) toma valor extremo bajo. La respuesta la encontramos en cada una de las figuras coloreadas de la izquierda con sus rangos de amplitud dentro del universo de discurso.

Se puede observar como a medida que el pH aumenta sus valores, el número de especies (n° Sp) observados en la totalidad de los embalses, van aumentando, llegando a tomar valores extremos alto, cuando el pH también toma valores extremo alto. Por el contrario, el porcentaje de *Pinnularia* (% Pin)

presenta un comportamiento inverso al del pH, tomando valores extremo-bajo cuando el pH muestra valores extremo-altos.

En cuanto al comportamiento presentado por la carga metálica y de sulfatos, podemos ver como la mayoría de estas variables pueden llegar a tomar cualquier valor de su universo de discurso cuando el pH toma valores extremo-bajo, excepto el Cd, As, Sb y Al, que presentan valores muy marcados. Conforme, el pH va aumentando su valor la carga metálica disminuye llegando a tomar la mayoría valores extremo-bajo para pH extremo-alto, con excepción del Sb, y Al que pueden llegar a tomar valores que van de extremo-bajo a medio.

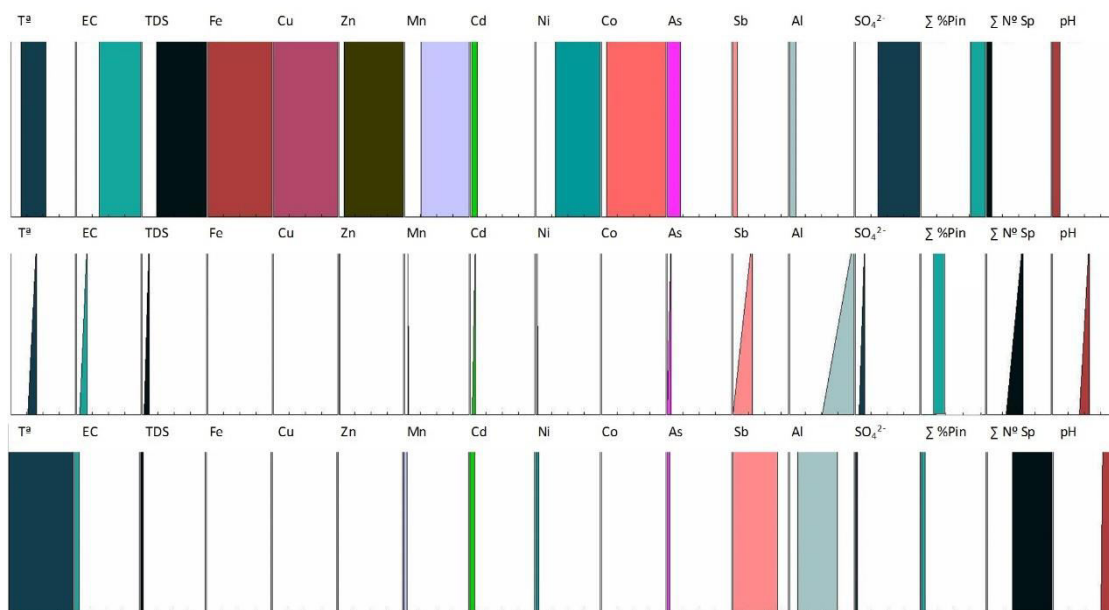


Figura 5.15 Reglas borrosas tomando el pH como el consecuente y el resto de las variables como el antecedente

La (figura 5.16) muestra las reglas obtenidas tomando % Σ Pin como consecuente y el resto de las variables como antecedente.

En estas reglas borrosas, podemos observar cómo conforme el % Σ Pin aumenta sus valores, tanto el pH como el número de especies presentan comportamientos inversos, disminuyendo sus valores. De este modo, cuando el % Σ Pin toma valores extremo-alto, el número de especies y el pH toman valores extremo-bajos. Sin embargo, para valores extremo-bajo del % Σ Pin, el número de especies y el pH pueden tomar prácticamente cualquier valor de su universo de discurso.

Respecto al comportamiento presentado por la carga metálica y de sulfatos, podemos ver cómo la mayoría de estas variables presentan valores de extremo-bajo a bajo cuando el $\% \sum Pin$ toma valores extremo-bajo, con excepción del Sb, Pb y Al que pueden tomar valores más amplios de sus universos de discursos. Por el contrario, para valores del $\% \sum Pin$ extremo-alto, la mayoría de las variables presentan un mayor universo de discurso, excepto el Cd, As, Sb y Al, que presentan valores extremo-bajo a bajos mucho más definidos.

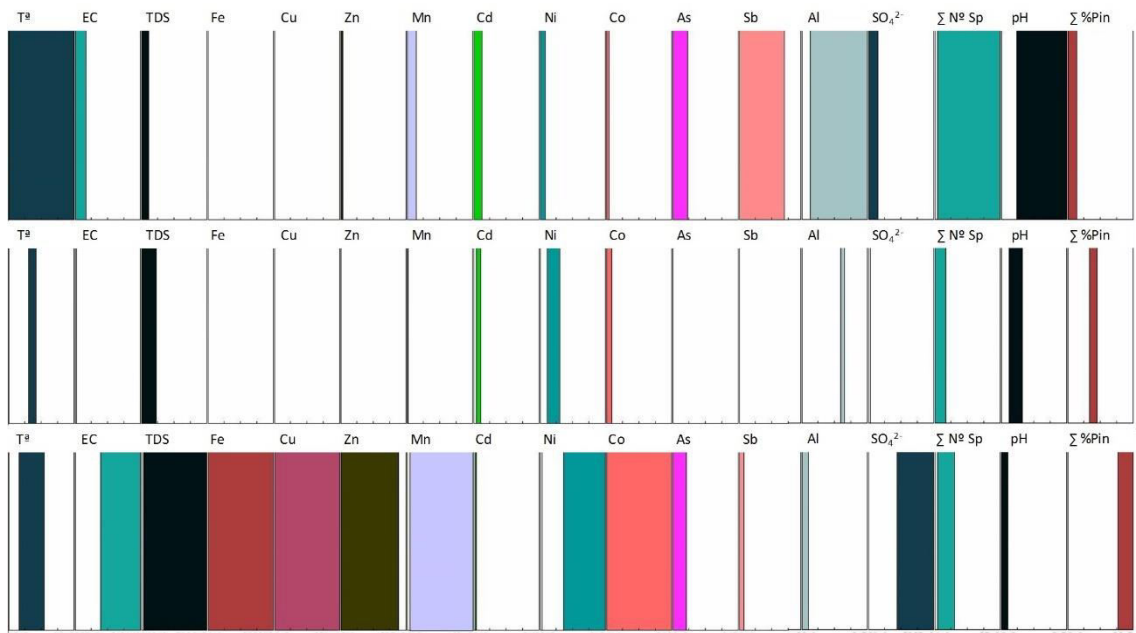


Figura 5.16 Reglas borrosas que toman $\% \sum Pin$ como el consecuente y el resto de las variables como el antecedente

La Figura 5. muestra las reglas obtenidas tomando $\sum N^\circ Sp$ como consecuente y el resto de las variables como antecedente.

Podemos observar como el pH presenta un comportamiento similar al del $\sum N^\circ Sp$. De modo que conforme el $\sum N^\circ Sp$. aumenta sus valores, el pH lo hace del mismo modo, sin embargo, el $\% \sum Pin$ presentan un comportamiento inverso, disminuyendo sus valores conforme el $\sum N^\circ Sp$. aumenta.

En cuanto al comportamiento presentado por la carga metálica y de sulfatos, podemos observar como la mayoría de las variables también presentan un comportamiento inverso $\sum N^{\circ} Sp.$, disminuyendo sus valores conforme el $\sum N^{\circ} Sp.$ aumenta. Se puede ver como la mayoría de las variables pueden tomar un amplio rango de sus universos de discursos para valores extremo-bajo del $\sum n^{\circ} species$, con excepción del Cd, As, Sb y Al que presentan valores extremo-bajo a bajo mucho más definidos.

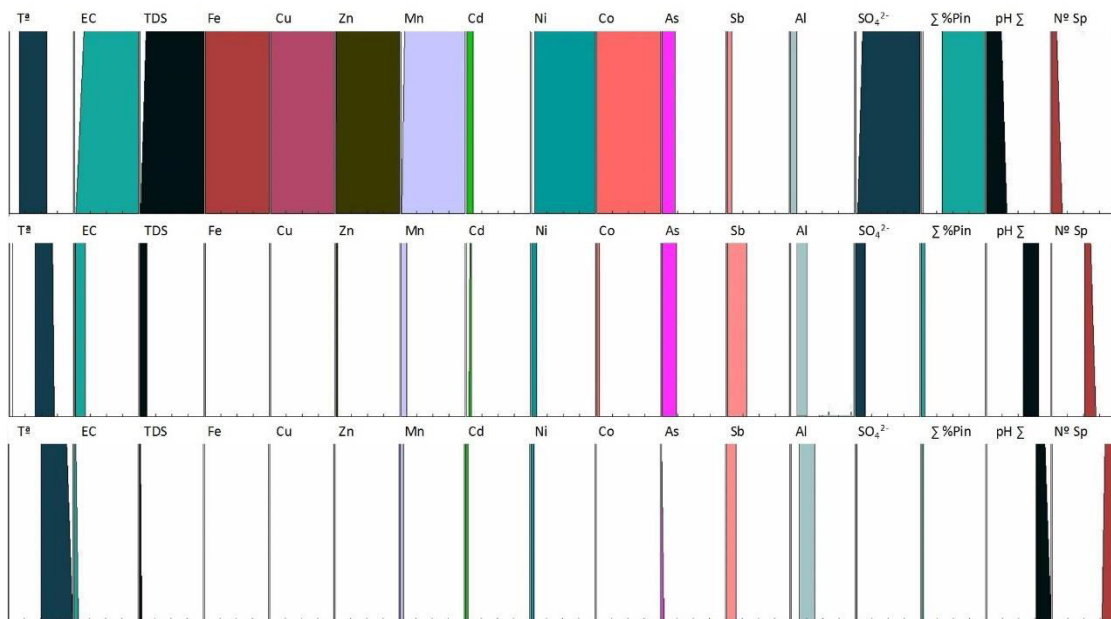


Figura 5.17 Reglas borrosas tomando $\sum n^{\circ}$ de especies como consecuente y el resto de las variables como antecedente

Los embalses Marismillas, Aguas Ácidas, Gossan y Cueva de la Mora se caracterizan por presentar los menores valores de pH y mayores valores de Conductividad, TSD, carga metálica y de sulfatos.

Estos valores evidencian un alto grado de afección por procesos AMD en estos embalses, coincidiendo con estudios previos sobre la calidad de estas masas de aguas (Cerón *et al.*, 2013a; Grande *et al.*, 2013; Santisteban *et al.*, 2013, 2015; Valente *et al.*, 2014, 2015). El resto de los embalses presentan valores característicos de afección por AMD en menor grado.

Del mismo modo, los embalses anteriormente mencionados (Marismillas, Aguas Ácidas, Gossan y Cueva de la Mora) presentan la menor diversidad de especies (número de especies diferentes) y mayor “porcentaje de *Pinnularia* (Valvas de especies pertenecientes al género *Pinnularia*). Este hecho está

acorde con los valores físico-químicos presentados por estos embalses, que muestra la alta contaminación de sus aguas por procesos AMD, lo que es coherente con el bajo número de especies diferentes de diatomeas que contienen.

Además, la presencia en todos ellos de los mayores porcentajes de especies del género *Pinnularia* señala aún más esta contaminación por AMD, ya que las especies *Pinnularia* son de los pocos organismos capaces de vivir en condiciones tan extremas con valores de pH tan ácidos (Ferreira da Silva *et al.*, 2009; Luís *et al.*, 2009, 2011, 2012, 2013, 2016, 2018, 2019).

La existencia de bajos valores de número de especies de diatomeas, coinciden con bajos valores de pH, y con altos valores del porcentaje de especies *Pinnularia*, de carga metálica y de sulfatos. Todo ello, acorde con los medios afectados por procesos AMD.

Por otro lado, el patrón de comportamiento diferenciado que presentan los elementos químicos Al, As, Sb y Cd puede deberse a diversos motivos. Por un lado, el Al no se encuentra en la paragénesis mineral de los sulfuros, si no que procede de las pizarras de la roca encajante (Santisteban *et al.*, 2015). Por otro lado, el As y Sb presentan un comportamiento diferente al resto de metales típicos de AMD (Fe, Cu, Zn, etc), siendo mucho más estables en forma de materia disuelta hasta valores de pH más altos que el resto de metales, dependiendo su presencia de la existencia de arsenopirita y estibina en la paragénesis mineral (Grande *et al.*, 2005). En cuanto al Cd, el diferente patrón de comportamiento que presenta respecto al resto de metales puede ser debido a la respuesta de los índices de saturación de las aguas en estudio, y del factor de precipitación de este metal. Esencialmente, el patrón de comportamiento del Cd denota como la presencia de este metal hace disminuir el número de especies en el ecosistema hídrico, consecuencia muy probable de su marcado carácter ecotoxicológico (Branco *et al.*, 2010; Duong *et al.*, 2010).

6. CONCLUSIONES

La contaminación de las aguas por Drenaje Acido de Mina (AMD en la literatura sajona) es un problema mundial que afecta los 5 continentes si que exista todavía una solución global para resolver el problema. La red fluvial que atraviesa la Faja Pirítica Ibérica (SW de España) no es una excepción y muchos de sus cauces se encuentran muy contaminados por AMD, de hecho, los ríos Tinto y Odiel son de los más citados en la literatura científica por su extraordinario grado de afección como respuesta a la presencia de más de 80 explotaciones mineras muchas de ellas sin restaurar en sus cuencas vertientes.

El proceso de formación de AMD es la suma de diferentes reacciones que comienzan con la oxidación de sulfuros para dar sulfatos con liberación de hidrogeniones que dan como resultado un agua con muy bajo pH y altísimas concentraciones de sulfatos y metales disueltos. La gravedad del problema radica en tres razones fundamentales:

1. A diferencia de la materia orgánica, los metales pesados no son biodegradables, por lo que permanecen en el medio contaminado de forma indefinida, salvo procesos de transporte a otros medios.

2. Los metales pesados, una vez que los microorganismos y la microflora los incorporan pueden ser retenidos por los tejidos del organismo, produciéndose el fenómeno de la bioacumulación. Los metales acumulados pueden transmitir a otras especies situadas en un nivel superior de la cadena trófica, produciéndose el fenómeno conocido como biomagnificación. Mediante la bioacumulación y la biomagnificación, se llegan a alcanzar valores mucho más elevados que los encontrados en el medio líquido.

3. Los metales pesados, desde el punto de vista de su influencia en la fisiología animal, pueden clasificarse en esenciales y no esenciales; así, ciertos metales pesados como cobre, cinc y manganeso son micronutrientes esenciales para plantas y animales y sólo llegan a ser letales en elevadas concentraciones, el organismo los necesita dentro de un intervalo óptimo, los metales pesados no esenciales presentan para cada individuo un valor, por debajo del cual es tolerable y por encima tóxico.

En base a lo anterior, los bioindicadores cobran un papel fundamental para la definición del grado de afección de las aguas. Un buen diagnóstico es indispensable para la posterior estrategia de diseño e implementación de medidas preventivas y/o correctoras de las aguas afectadas. Para ello, se requiere el estudio de una serie de indicadores ambientales químicos, físicos, mineralógicos y biológicos que han sido analizados profundamente en esta tesis, al objeto de comprender la respuesta de estos indicadores a los procesos y mecanismos contaminantes.

Este es el primer trabajo de síntesis hidrobioquímica con inventario de diatomeas para toda una provincia metalogenética en presas afectadas por Drenaje Acido de Mina en el área española de la Faja Pirítica Ibérica. Para ello, se ha abordado un estudio preliminar donde se ha hecho un muestreo de aguas, sedimentos y diatomeas de 4 embalses (Aguas Ácidas, Gossan, Sancho y Andévalo) de 2 en 2 semanas, entre octubre de 2011 y mayo de 2012, partiendo de la hipótesis de que en estos embalses existía una marcada variabilidad de las condiciones químicas de las aguas y también porque reflejan los diferentes tipos de uso que se dan a las aguas de los embalses. Estos son: dos presas mineras, las de Gossan y Aguas Ácidas (pH muy bajo) que recogen aguas de la planta mineralúrgica del Complejo Riotinto y de las escombreras norte del complejo Tharsis respectivamente, ambas en la cuenca vertiente del Odiel, una presa de uso industrial, presa de Sancho (pH bajo) sobre el río Meca también afluente del Odiel que fue construida para dar cobertura a las necesidades hídricas de una planta de fabricación de papel en San Juan del Puerto, y una (en construcción durante el muestreo) de agua para consumo humano y agrícola, la presa de Andévalo (pH casi neutro y con agua hoy potable, pero durante el muestreo con valores de pH 3,21 ya que el punto de muestreo aun estaba por debajo de la cota de coronación de la Presa (120 msnm) y recogía aguas ácidas de mina que eran vertidas finalmente al río Chanza.

Este primer estudio confirma la importancia del pH en la distribución de las comunidades de diatomeas ya que se evidencian diferencias entre los embalses que tienen diferentes rangos de pH. En los embalses mineros (Aguas Ácidas y Gossan), donde los valores máximos de pH no superan 3,05, sólo hay

taxones acidobiontes (*P. acidophila* y *P. aljustrellica*). Por su vez, en la presa de Andévalo con un pH por veces superior a 3,5, la especie *Eunotia exigua* es dominante y no existen diatomeas del género *Pinnularia*. Cuando los valores de pH aumentan (ocasionalmente como valores extremos) hasta 6 (Presa de Sancho), otras especies, como la *Pinnularia subcapitata* que es una especie más tolerante a aguas próximas a la neutralidad (pH 5,5-7), se torna dominante. En este estudio el valor mínimo del pH es más discriminatorio que el promedio del mismo.

En relación con el estudio mineralógico, cuarzo, plagioclasas y micas son los minerales más abundantes en los 4 embalses, excepto en Aguas Ácidas donde predominan los minerales de hierro como la hematita (46%) y la jarosita (15%).

La goethita solo ha sido encontrada en Gossan (12%) y Andévalo (6%).

La red de muestreo ha sido después ampliada a 23 embalses. Se ha realizado una campaña en Marzo de 2012 de aguas y diatomeas por tratarse de organismos vivos y recomendados como bioindicadores por la Directiva 2000/60/CE.

Se ha observado entonces, una clara respuesta de las comunidades de diatomeas a las variaciones de las condiciones físico-químicas por medio de análisis estadístico. Destacan en esta campaña y mediante la aplicación de análisis Cluster, tres variables, pH, $\Sigma\%Pin$ y $\Sigma N^{\circ} Sp.$, como condicionantes de la distribución de las diatomeas. El embalse de Marismillas, se encontraba aislado en los dendrogramas de los restantes embalses debido a sus aguas afectadas altamente por AMD, pero al mismo tiempo y de manera singular por la materia orgánica disponible, ya que a Marismillas vierten las aguas procedentes de la depuradora de aguas residuales de Nerva y al mismo tiempo las escombreras sur de la mina Riotinto y Peña del Hierro, por lo que encontramos comunidades dominadas por *Pinnularia aljustrellica* (97%). De las tres variables más influyentes, el pH se ha destacado una vez más, como el principal factor que condiciona la distribución de las comunidades y de los puntos de muestreo.

En el análisis dbRDA el pH ha sido usado para definir asociaciones de embalses que quedan también agrupados en base a la distribución de las especies de diatomeas y de los parámetros físico-químicos.

Se han definido 4 grupos:

1. Marismillas, Aguas Ácidas, Gossan, Cueva de la Mora (pH 2–3);
2. Andévalo Cobica, Sancho, Andévalo Chorrillo, Del Pino (pH 3–4.5);
3. Grande, Puerto León, Olivargas, Chanza, Lagunazo, Silillos I, Silillos II, la Joya, Ganacha, Agrio, Campanario, Corumbel (pH 4.5–6);
4. Herrerías, Dique I, Dique II (pH 6–7).

Los resultados físico-químicos indican también que los 23 embalses estudiados presentan contaminación por sulfatos y metales pesados en diferentes niveles, observándose una clara respuesta de las comunidades de diatomeas a las variaciones físico-químicas del agua.

La herramienta Prefurge permitió una mejor definición de la respuesta de las diatomeas a los estímulos causados por los cambios hidroquímicos impuestos por los procesos AMD que afectan la calidad del agua. La lógica borrosa ya implementada en otros medios contaminados por AMD, se muestra muy eficaz para diagnosticar este tipo de medios y nos permite apoyar algunas de las conclusiones anteriores obtenidas con la estadística clásica, además de una mejor comprensión del comportamiento cualitativo de los parámetros biológicos y fisicoquímicos.

En resumen, cada presa presenta diferentes grados de contaminación y no está clara la existencia de un patrón de comportamiento único para todos los rangos de pH. Sin eventos de lluvia, es sin duda el pH el que controla la disolución de metales y sulfatos, que a su vez regula los valores de conductividad. Esta ausencia de un patrón global claro para todas las presas puede interpretarse como una consecuencia de la coexistencia de diferentes paragénesis minerales muy distintas en toda la FPI, así como la diversidad en de tamaño y la naturaleza de las cuencas hidrográficas, otros factores, como la intensidad, duración de las labores mineras y nivel de restauración de las diferentes minas, también contribuyen al desarrollo de patrones hidroquímicos

individuales. El crecimiento de las especies y su tolerancia específica para distintos rangos de pH, especialmente aquellas más tolerantes a pH bajo (p.ejemplo, *Pinnularia aljustrellica*, *Pinnularia acidophila*, *Pinnularia acoricola* y *Eunotia exigua*) valida la importancia de las diatomeas como bioindicadores de embalses afectados por AMD, así como a la agrupación de embalses dada la diversidad de patrones hidroquímicos observados.

7. BIBLIOGRAFÍA

Ács É., Szabó K., Kiss A.K., Tóth B., Zaray G., Kiss K. T. 2005. Investigation of epilithic algae on the River Danube from Germany to Hungary and the effect of a very dry year on the algae of the River Danube. *Archiv für Hydrobiologie*, 16, 389-417.

Aguilera A. 2013. Eukaryotic Organisms in extreme acidic environments, the Río Tinto case. *Life*, 3, 363-374.

Almeida S. 2001. Use of diatoms for freshwater quality evaluation in Portugal. *Limnetica*, 20 (2), 205-213.

Almeida S., Gil M. 1998. As diatomáceas na avaliação biológica da qualidade das águas doces superficiais. *Revista Biol. (Lisboa)*, 16, 169-175.

Aloi J.E. 1990. A critical review of recent freshwater periphyton field methods. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47, 656–670.

Álvarez-Blanco I., Blanco S., Cejudo-Figueras C., Becarés E. 2013. The Duero Diatom Index (DDI) for river water quality assessment in NW Spain: design and validation. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185 (1), 969-981.

Alverson A.J., Theriot E.C. 2003. Taxon sampling and inferences about diatom phylogeny. *Journal of Phycology*, Supplement, 39, 36.

Avilés-Palacios C. 2008. Innovaciones y mejoras tecnológicas en la explotación de las minas de Río Tinto (1873-1897). *Boletín Geológico y Minero*, 119, 331.

Anderson M.J., Gorley R.N., Clarke K.R. 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods, Primer-E: Plymouth, UK.

Amils R. 2016. Lessons learned from thirty years of geomicrobiological studies of Río Tinto. *Res. Microbiol.*, 167(7), 539-545.

Atazadeh I., Sharifi M., Kelly M.G. 2007. Evaluation of the trophic diatom index for assessing water quality in River Gharasou, western Iran. *Hydrobiologia*, 589, 165–173.

Atazadeh I., Kelly M., Sharifi M., Beardall J. 2009. The effects of copper and zinc on biomass and taxonomic composition of algal periphyton communities from the River Gharasou, Western Iran. *Oceanol Hydrobiol Stud*, 38,3–14.

Azcue J.M. 1999. *Environmental Impacts of Mining Activities*. Springer. Germany.

Bigham J.M., Nordstrom D.K. 2000. Iron and aluminum hydroxysulfates from acid sulfate waters In: *Sulfate minerals: Crystallography, geochemistry and environmental significance* (Eds. C.N. Alpers, J.L. Jambor & D.K. Nordstrom), *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 40, Mineralogical Society of America, Washington, DC, 351-403.

Backes C.A., Pulford I.D., Duncan H.J. 1993. Seasonal variation of pyrite oxidation rates in colliery spoil. *Soil Use and Management*, 9, 31-34.

Bao R., Alonso A., Delgado C., Pagés J.L. 2007. Identification of the main driving mechanisms in the evolution of a small coastal wetland (Traba, Galicia, NW Spain). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 247, 296-312.

Banks D., Younger P.L., Arnesen R.T., Iversen E.R., Banks S.B. 1997. Mine-water chemistry: the good, the bad and the ugly. *Environmental Geology*, 32 (3), 157-174.

Bergaya F., Theng B.K., Lagaly G. 2006. Clays, environment and health. In: Bergaya F, ThengG (eds)*Handbook of clay science*, 623–625.

Bisquerra R. 1989. *Conceptual introduction to Multivariate Analysis (Spanish)*, Promociones y Publicaciones Universitarias, S.A. Barcelona, Spain, 808pp.

Blanco A., Rothenberg B.1984. Los materiales arqueológicos sitúan la producción en el siglo 1 d.C.

Blowes D.W., Ptace C. J., Jambor J.L., Weisener, C.G. 2004. The geochemistry of acid mine drainage, En: Treatise on geochemistry, Environmental geochemistry, Vol, 9, Elsevier, Ed, Lollar, B, S., 149-204. Boletín Geológico y Minero 82, 239-268.

Branco D., Lima A., Almeida S., Figueira E. 2010. Sensitivity of biochemical markers to evaluate cadmium stress in the freshwater diatom *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith. *Aquatic Toxicology*, 99, 109–117.

Brake S. S., Dannelly H. K., Connors K. A., Hasiotis S. T. 2001. Influence of water chemistry on the distribution of an acidophilic protozoan in an acid mine drainage system at the abandoned Green Valley coal mine, Indiana, USA. *Applied Geochemistry*, 16, 1641-1652.

Brake S. S., Hasiotis S. T., Dannelly H. K. y Connors K. A. 2002. Eukaryotic stromatolite builders in acid mine drainage: Implications for Precambrian iron formations and oxygenation of the atmosphere *Geology*, 30(7), 599-602.

Brake S., Arango I., Hasiotis S. T., Bruch K. R. 2014. Spatial and temporal distribution and characteristics of eukaryote-dominated microbial biofilms in an acid mine drainage environment: implications for development of iron-rich stromatolites. *Environmental Earth Sciences*, 72 (8), 2779-2796.

Bray J.P., Broady P.A., Niyogi D.K., Harding J.S. 2008. Periphyton communities in New Zealand streams impacted by acid mine drainage. *Mar. Freshw. Res*, 59, 1084–1091.

Caballero M.F. 1988. Análisis de los principales factores que han determinado las explotaciones de las minas de Riotinto. Memoria del I Congreso Nacional sobre la cuenca minera de Riotinto. Ayuntamiento de Riotinto. Huelva.

Calapez A.R., Elias C.L., Almeida S.F.P., Feio M.J., 2014. Extreme drought effects and recovery patterns in the benthic communities of temperate streams. *Limnetica* 33 (2), 281-296.

Canalejo, Castillo A.M., Guzmán, López-Guzmán T.J., de la Torre, Millán Vázquez G. 2011. Delimitación conceptual y consideraciones en torno al turismo industrial minero, *Turismo y Desarrollo Local*, issue 9.

Cánovas C.R., Olías M., Sarmiento A.M., Nieto J.M. 2005. Contenido de elementos traza en las aguas de los ríos Tinto y Odiel. VI Simposio del Agua en Andalucía, Tomo II, 1365-1376.

Cánovas C., 2008. La calidad del agua de los ríos Tinto y Odiel: evolución temporal y factores condicionantes de la movilidad de los metales. Tesis doctoral. Universidad de Huelva.

Cánovas C.R., Hubbard C.G., Olías M., Nieto J.M., Black S., Coleman M.L. 2008. Hydrochemical variations and contaminant load in the Río Tinto (Spain) during flood events. *Journal of Hydrology*, 350 (1-2), 25-40.

Cánovas C.R., Peiffer S., Macías F., Olías M., Nieto J.M. 2015. Geochemical processes in a highly acidic pit lake of the Iberian Pyrite Belt (SW Spain). *Chem. Geol*, 395,144-153.

Cánovas C.R., Olías M., Macías F., Torres E., San Miguel E.G., Galván L., Ayora C., Nieto J.M. 2016. Water acidification trends in a reservoir of the Iberian pyrite belt (SW Spain). *Sci. Total Environ*, 541, 400-411.

Cánovas C.R., Olías M., Macías F., Pérez-López R., Nieto J.M. 2017. Metal-fluxes characterization at a catchment scale: Study of mixing processes and end-member analysis in the Meca River watershed (SW Spain). *J. Hydrol*, 550, 590-602.

Cánovas C.R., Macías F., Olías M. 2018. Hydrogeochemical behavior of an anthropogenic mine aquifer: Implications for potential remediation measures. *Sci. Total Environ*, 636, 85- 93.

Cánovas R.C., González de la Aleja Pérez C., Macías Suárez F., Pérez López R., Basallote Sánchez M. D., Olías Álvarez M., Nieto Liñán, J. M. 2019.

Reactividad mineral en desechos de minas de sulfuros: influencia de la mineralogía y el tamaño de grano en la liberación de metales.

Cánovas C.R., Macías F., Olías M., Basallote M.D., Pérez-López R., Ayora C., Nieto J.M., 2020. Release of technology critical metals during sulfide oxidation processes: the case of the Poderosa sulfide mine (south-west Spain). *Environ. Chem*, 17, 93-104.

Capítulo A.R. y Gómez N. 2003. Diatomeas y macroinvertebrados bentónicos en el monitoreo de sistemas lóticos bonaerenses. *Biología Acuática*, N21.

Carrasco J. L. 2000. Los negocios del campo, de la industria, del comercio y del mar, en C. Aranegui Gascó (ed.), *Argantonio, rey de Tartessos*, Fundación El Monte, Sevilla, 117-135.

Cappelletti C., Ciutti F., Crippa A., Mancini I., Beltrami M.E., Pierdominici E., Dell'uomo A. 2005. Diatomee come indicatori della qualità biologica dei corsi d'acqua. EPI-D ed altri metodi europei a confronto: il caso studio del fiume Tevere. *Biologia ambientale*, 19,103-108.

Cattaneo A., Couillard Y., Wunsam S., Courcelles M. 2004. Diatom taxonomic and morphological changes as indicators of metal pollution and recovery in LacDufault (Québec, Canada). *Journal of Paleolimnology*, 32,163–75.

Cattaneo A. Asioli A., Comoli P. Manca M. 1998. Organisms response in a chronically polluted lake supports hypothesized link between stress and size. *Limnology and Oceanography*, 43, 1938-43.

Cemagref. 1982. Étude des méthodes biologiques d'appréciation quantitative de la qualité des eaux. Rapport Cemagref, Bordeaux – Agence de l'Eau Artois-Picardie, Douai.

CEN. European Committee for Standardization. 2003 /TC 230. Water Quality. Guidance for routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers. EN 13946,14.

Capítulo 7: Bibliografía

Cerón J.C, Grande J.A., de la Torre M.L., Borrego J., Santisteban M, Valente, T. 2013a. Hydrochemical characterization of an acid mine drainage-affected water 304 reservoir: The Sancho Dam (Huelva, SW Spain). *Hydrological Sciences Journal*.

Cerón J.C., Grande J.A., de la Torre M.L., Santisteban M., Valente T. 2013b. Impact of AMD Processes on the Water Dams of the Iberian Pyrite Belt: Overall Hydrochemical Characterization (Huelva, SW Spain). *Water, Air and Soil Pollution*, 224(8),1-11.

Chen X., Mao X., Cao Y., Yang X. 2013. Use of siliceous algae as biological monitors of heavy metal pollution in three lakes in a mining city, Southeast China. *International Journal of Oceanography and Hydrobiology*, 42 (3), 233-242.

Couillard Y., Courcelles M., Cattaneo A., Wunsam S. 2004. A test of the integrity of metal records in sediment cores based on the documented history of metal contamination in Lac Dufault (Québec, Canada). *Journal of Paleolimnology*, 32, 149–162.

Ciniglia C., Cennamo P., De Stefano M., Pinto G., Caputo P., Pollio A. 2007. *Pinnularia obscura* Krasske (Bacillariophyceae, Bacillariophyta) from acidic environments: characterization and comparison with other acid-tolerant *Pinnularia* species. *Fundam. Appl. Limnol*, 170, 29-47.

DARES (Diatoms for Assessing river Ecological Status). DALES (Diatoms for Assessing Lake Ecological Status). Sampling protocol Version 2.0. April 2004

Clarke K.R., Gorley R.N. 2006. *PRIMER v.6 User Manual/Tutorial*; *PRIMER-E*: Plymouth, UK.

Dávila J.M., Sarmiento A.M., Santisteban M., Luís A.T., Fortes J.C., Córdoba F., Grande J.A. 2020. Un estuario altamente contaminado por el drenaje ácido de una mina: reserva natural de las Marismas del odiel (SO de España). *Comunicacoes Geologicas*, 107, Especial II, 133-137.

de la Torre M.L., Grande J.A., Jiménez A., Borrego J., Díaz Curiel, J.M. 2009. Time evolution of an AMD-affected river chemical makeup, *Water Resources Management*, 23(7), 1275-1289.

de la Torre M.L., Sanchez-Rodas D., Grande J.A., Gómez T. 2010. Relationships between pH, colour and heavy metal concentrations in the Tinto and Odiel rivers(South West Spain). *Hydrology Research*, 41(5), 406-413.

de la Torre M.L., Grande J.A., Santisteban M., Valente T., Borrego J., Salguero F. 2013. Statistical Contrast Analysis of Hydrochemical Parameters Upstream of the Tidal Influence in Two AMD-Affected Rivers. *Mine Water and the Environment*.

de la torre M.L., Grande J.A., Valente T., Santisteban M., Cerón J.C. 2014a. Mixing and attenuation processes in an AMD-affected water reservoir. *Hydrology Research*.

de la Torre M.L., Grande J.A., Valente T., Santisteban M., Cerón J.C. 2014b. Hydrochemical changes in a reservoir that receives water contaminated by acid mine drainage. *Hydrology Research*.

de la Torre M.L., Grande J.A., Valente T., Perez E., Santisteban M., Aroba J., Ramos I, Salguero F. 2014c. A fuzzy qualitative model for the definition of redox and pH influence in the AMD of the Poderosa mine system (Iberian Pyrite Belt SW Spain). *Water Environmental Research*.

de la Torre M.L., Grande J., Valente T., Pérez-Ostalé E., Santisteban M., Aroba J., Ramos I. 2016. Definition of redox and pH influence in the AMD mine system using a fuzzy qualitative tool (Iberian Pyrite Belt, SW Spain). *Environ. Sci. Pollut. Res*, 23, 5451–5458.

Delgado C., Pardo I., García L., 2010. A multimetric diatom index to assess the ecological status of coastal Galician rivers (NW Spain). *Hydrobiologia*, 644, 371–384.

Delgado C. 2011. Diatomeas bentónicas en ríos Atlánticos y Mediterráneos de España: Ecología y Bioindicación. Tesis Doctoral, Universidad de Vigo, España. 183.

Delgado C., Pardo I., García L. 2012. Diatom communities as indicators of ecological status in Mediterranean temporary streams (Balearic Islands, Spain). – *Ecol. Indic.*, 15, 131–139.

Dell'Uomo A., Pensieri A., Corradetti D. 1999. Diatomées épilithiques du fleuve Esino (Itale centrale) et leur utilisation pour l'évaluation de la qualité biologique de l'eau. *Cryptog Algol* 20, 253-269.

DeNicola D. M. 2000. A review of diatoms found in highly acidic environments. *Hydrobiologia*, 433(1 - 3), 111-122.

DeNicola D. M., de Eyto E., Wemaere A., Irvine K. 2004. Using epilithic algal communities to assess trophic status in Irish lakes. *Journal of Phycology*, 40, 481–495.

DeNicola D.M., Stapleton M.G. 2014. Benthic diatoms as indicators of long-term changes in a watershed receiving passive treatment for acid mine drainage. *Hydrobiologia*, 732, 29–48.

DeNicola D.M., Stapleton M.G., Onufrak A.J. 2018. Examination of effects of acid and metals on benthic algae in streams using chemical diffusing substrata. *Ecological Indicators*, 88, 17–26.

Deniseger J., Austin A., Lucey W.P. 1986. Periphyton communities in a pristine mountain stream above and below heavy metal mining operations. *Freshw Biol*, 16, 209–218.

Descy J. P., Coste M. 1991. A test of methods for assessing water quality based on diatoms. *Verhandlungen der Internationalischen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*, 24, 2112–2116.

Dickman M.D.1998. Benthic marine diatom deformities associated with contaminated sediments in Hong Kong. *Environ Int*, 24,749–759.

Dixit S.S., Dixit A.S., Smol J.P. 1991. Multivariable environmental interferences based on diatom assemblages from Sudbury (Canada) lakes. *Freshw Biol*, 26, 251–266.

Dold B. & Fontboté L. 2002. A mineralogical and geochemical study of element mobility in sulfide mine tailings of Fe oxide Cu–Au deposits from the Punta del Cobre belt, northern Chile. *Chemical Geology*, 189(3–4), 135–163.

Dogan, P.A. (1999). Characterization of mine waste for prediction of acid mine drainage. In: Azcue JM (ed) *Environmental impacts of mining activities*. Springer,Berlin.

Dong X., Jia X., Jiang W., (...), Tang T., Cai Q. 2015. Development and testing of a diatom-based index of biotic integrity for river ecosystems impacted by acid mine drainage in Gaolan River, China. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(11C), 4114-4124.

Duong T., Morin S., Coste M., Herlory O., Feurtet-Mazel A., Boudou A. 2010. Experimental toxicity and bioaccumulation of cadmium in freshwater periphytic diatoms in relation with biofilm maturity. *Science of the Total Environment*, 408, 552–562.

Ector L., Rimet F. 2005. Using bioindicators to assess rivers in Europe: an overview. In Lek, S., M. Scardi, P. F. M. Verdonschot, J.-P. Descy & Y.-S. Park (eds), *Modelling Community Structure in Freshwater Ecosystems*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 7–19.

Egal M., Casiot C., Morin G., Elbaz-Poulichet F., Cordier M.A., Bruneel O. 2010. An update insight into the natural attenuation of As concentrations in Reigous Creek (southern France). *Applied Geochemistry* 25 (12), 1949-1957. Elsevier, Ed, Lollar, B, S., 149-204.

Capítulo 7: Bibliografía

Elias C.L., Calapez A.R., Almeida S.F.P., Feio M.J., 2015. From perennial to temporary streams: an extreme drought as a driving force of freshwater communities traits. *Mar. Freshwater Res*, 66, 469-480.

Eloranta P., Soininen J. 2002. Ecological Status of some Finnish rivers evaluated using benthic diatom communities. *Journal of Applied Phycology*, 14, 1-7.

Espinosa M.A., Arteaga E.A., Zambrano R.M., Gonzalez L. 2010. Cinética de oxidación de la pirita, subproducto ácido del drenaje de la mina La Guitarra. *Ingenierías*, Vol XIII, nº 49.

European Union, 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy (WFD). *Official Journal of the European Communities*, L327, 1–73.

Falasco E., Bona F., Badino G., Hoffmann L., Ector L. 2009. Diatom teratological forms and environmental alterations: a review. *Hydrobiologia*, 623,1–35.

Falkenhayn L. 2007. An assessment of the use of Bacillariophyceae as biological monitors of heavy metal pollution in Australian tropical streams. Ph.D. Department of Geographical and Environmental studies. University of Adelaide.

Fernández M. R., Martín G., Corzo J., de la Linde A., García E., López M, Sousa M. (2018). Design and Testing of a New Diatom-Based Index for Heavy Metal Pollution. *Arch Environ Contam Toxicol*, 74,170–192.

Förstner U., Wittmann G.T.W.1983. *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. Springer-Verlag, Berlín, 485.

Fernández J.P., González A., Peláez G., González G., Viñuela L., García O. 2011. Informe preliminar Marismillas. Unidad de Modelización Hidrogeofísica y Ensayos No Destructivos. Universidad de Oviedo.

Fernández-Caliani I.C., Muñoz F.R., Galán E. 1997 Clay mineral and heavy metal distributions in the lower estuary of Huelva and adjacent Atlantic shelf, SW Spain. *Sci Total Environ*, 198,181–200

Fernández-Palacios J.M., Martín M.I., Sancho F. 2014. Álbum 100 grandes presas en Andalucía. La obra del paisaje. Universidad de Sevilla, Colección Historia, N:267, 146pp.

Ferreira da Silva E., Almeida S. F. P., Nunes M. L., Luís A. T., Borg F., Hedlund M. 2009. Heavy metal pollution downstream the abandoned Coval da Mó mine (Portugal) and associated effects on epilithic diatom communities. *Science of the Total Environment*, 407, 5620–5636.

Ferreras-Romero M., Cano-Villegas F.J., Salamanca- Ocaña J.C. 2003. Valoración de la cuenca del río Guadiamar (sur de España), afectada por un vertido minero, en base a su odonofauna. *Limnetica*, 22(3-4), 53-62

Figueiredo M.O., Silva T.P. 2011. The positive environmental contribution of jarosite by retaining lead in acid mine drainage areas. *Int J Environ Res Public Health*, 8,1575–1582

Furuhashi T., Suzuki T. 2001. Sobre la interpretabilidad de modelos difusos basados en medidas de concisión. En *Actas de la 10ª Conferencia Internacional IEEE sobre Sistemas Fuzzy (Cat. No.01CH37297)*, Melbourne, Australia, 284-287.

Fukuyama Y., Sugeno M. 1989. A new method of choosing the number of clusters for fuzzy means method. In *Proceedings of the 5th fuzzy systems symposium*, 247–250.

Franklin J.M., Sangster D.M., Lydon J.W. 1981. Volcanic-associated massive sulfide deposits: *Economic Geology 75th Anniversary*, 485–627.

Fyson A. 2000. Angiosperms in acidic waters at pH 3 and below. *Hydrobiologia*, 433, 129–135.

Gerhardt A., De Bisthoven L.J, Guhr K., Soares A.M. & Pereira M.J. 2008. Phytoassessment of acid mine drainage: *Lemna gibba* bioassay and diatom community structure. *Ecotoxicology*, 17, 47-58.

Gensemer R.W. 1990. Role of aluminium and growth rate on changes in cell size and silica content of silica-limited populations of *Asterionella* var. *Americana* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology*, 26, 250-8.

Genter R. B., Cherry D. S., Smith E.P., Cairns J. 1987. Algal periphyton population and community changes from zinc stress in stream mesocosms. *Hydrobiologia*, 153, 261–275.

Genter R.B. 1996. Ecotoxicology of inorganic chemical stress to algae. VII. Response of algal communities to inorganic stressors. In: Stevenson Rj. Bothwell ML., Lowe RI, editors. *Algal Ecology. Freshwater Benthic Ecosystems*. San Diego. CA: Academic Press.

Guillaume S. 2001. Diseño de sistemas de inferencia difusos a partir de datos: una revisión orientada a la interpretabilidad. *IEEE Trans. Fuzzy Syst*, 9, 426–443.

Grande J.A., Borrego J., Morales J.A. 2000a. A study of heavy metal pollution in the Tinto-Odiel estuary in southwestern Spain using factor analysis. *Environmental Geology*, 39(10), 1095-1101.

Grande J.A., Sáinz A., de la Torre M.L., López N. 2000b. Caracterización de procesos AMD y ARD en la cuenca del río Odiel mediante aplicación de análisis univariante. *Ingeopres*, 88, 52-60.

Grande J.A., Borrego J., de la Torre M.L., Sáinz A. 2003a. Application of cluster analysis to the geochemistry zonation of the estuary waters in the Tinto and Odiel rivers (Huelva, Spain). *Environmental Geochemistry and Health*, 25, 233-246.

Grande J.A., Borrego J., Morales J. A., de la Torre M.L. 2003b. A description of how metal pollution occurs in the Tinto–Odiel rias (Huelva-Spain) through the application of cluster analysis. *Marine Pollution Bulletin*, 46 (4), 475-480.

Grande J.A., Beltrán R., Sáinz A., Santos J.C., de la Torre M.L., Borrego J. 2005a. 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), 185-196.

Grande J.A., Andújar J.M., Aroba J., de la Torre M.L., Beltrán R. 2005b. Precipitation, pH and metal load in AMD river basins: An application of fuzzy clustering algorithms to the process characterization. *Journal of Environmental Monitoring*, 7 (4), 325-334.

Grande J.A., Andújar J.M., Aroba J., de la Torre M.L. 2010a. Presence of As in the fluvial network due to AMD processes in the Riotinto mining area (SW Spain): A fuzzy logic qualitative model. *Journal of Hazardous Materials*, 176 (1-3), 395-401.

Grande J.A., Andújar J.M., Aroba J., Beltrán R., de la Torre M.L., Cerón J.C., Gómez T. 2010b. Fuzzy modelling of the spatial evolution of the chemistry in the Tinto river (SW Spain). *Water Resources Management*, 24, 3219-3235.

Grande J.A., Jiménez A., Romero S., de la Torre M.L., Gómez T. 2010c. Quantification of heavy metals from AMD discharged into a public water supply dam in the Iberian Pyrite Belt (SW Spain) using centered moving average. *Water, Air and Soil Pollution*, 212, 299-307.

Grande J.A., de la Torre M.L., Cerón J.C., Beltrán R., Gómez T. 2010d. Overall hydrochemical characterization of the Iberian Pyrite Belt. Main acid mine drainage generating sources (Huelva, SW Spain) *Journal of Hydrology*, 390, 123-130.

Grande J.A., Jiménez A., Borrego J., de la Torre M.L., Gómez T. 2010e. Relationships between conductivity and pH in channels exposed to acid mine

drainage processes: study of a large mass of data using classical statistics. *Water Resources Management*, 24, 4579-4587.

Grande J.A. 2011a. 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), 472-478.

Grande J.A., Aroba J., Andujar J.M., Gómez T., de la Torre M.L., Borrego J., Romero S., Barranco C., Santisteban M. 2011b. Tinto versus Odiel: two AMD polluted rivers and an unresolved issue. An artificial intelligence approach. *Water Resources Management*, 25, 3575- 3594.

Grande J.A., de la Torre M.L., Cerón J.C., Sánchez-Rodas D., Beltrán R. 2011c. Arsenic speciation in the Riotinto mining area (SW Spain) during a hydrological year. *Water Practice and Technology*.

Grande J.A., de la Torre M. L., Andújar J., Valente T., Santisteban M. 2013a. Definition of a clean energy system for decontamination of acid mine waters and recovering their metal load. *Mineralogical Magazine*.

Grande J. A., Santisteban M., de la Torre M. L., Valente T., Pérez- Oсталé E. 2013b. Characterisation of AMD Pollution in the Reservoirs of the Iberian Pyrite Belt. *Mine Water and the Environment*.

Grande J.A., de la Torre M.L., Valente T., Fernández J.P., Borrego J., Santisteban M., Cerón J.C., Sánchez-Rodas D. 2014a. Stratification of Metal and Sulphate Loads in Acid Mine Drainage Receiving Water Dams Variables Regionalization by Cluster Analysis. *Water Environment Research*.

Grande J. A., de la Torre M. L., Santisteban M., Valente T., Fernandez J.P., Pérez-Ostalé E. 2014b. Spatial evolution of an AMD stream in the Iberian Pyrite Belt: process characterization and control factors on the hydrochemistry. *Water Environment Research*.

Grande J.A., de la Torre M.L. Valente T., Fernández J.P., Borrego J., Santisteban M., Cerón J.C., Sánchez-Rodas D. 2015. Stratification of metal and sulphate loads in acid mine drainage receiving water dams-Variables regionalization by cluster analysis. *Water Environ. Res*, 87, 626–634.

Grande J.A., de La Torre M.L., Santisteban M., Valente T., Fernandez J.P. & Pérez-Ostalé E. 2016. Spatial evolution of an AMD stream in the Iberian Pyrite Belt: process characterization and control factors on the hydrochemistry, *Hydrological Sciences Journal*, 61,8, 1503-1511.

Grande, J.A. (Ed.) 2016. Drenaje Ácido de Mina en la Faja Pirítica Ibérica: Técnicas de Estudio e Inventario de Explotaciones; Servicio de Publicaciones de la Universidad de Huelva: Huelva, Spain, 348pp.

Grande J.A., Santisteban M., Valente T., de la Torre M.L., Gomes P. 2017a. Hydrochemical characterization of a river affected by acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt *J. A Water Sci Technol*, 75 (11), 2499-2507.

Grande J.A., Santisteban M., Valente T., de la Torre M.L., Gomes P. 2017b. Caracterización hidroquímica de un río afectado por el drenaje ácido de una mina en la Faja Pirita Ibérica. *Water Sci. Technol*, 75, 2499–2507.

Grande J. A., Santisteban M., de la Torre M. L., Fortes J. C., de Miguel E., Curiel J., Dávila J. M., Bioca B. 2018a. The paradigm of circular mining in the world: the Iberian Pyrite Belt as a potential scenario of interaction. *Environmental Earth Sciences*, 77, 391.

Grande J.A., Santisteban M., de la Torre M.L., Davila J.M., Perez-Ostalvé E. 2018b. Map of impact by acid mine drainage in the river network of the Iberian Pyrite Belt (Sw Spain). *Chemosphere*, 199, 269-277.

Grande J.A., Santisteban M., Pérez-Ostalé E. et al. 2018c. Dilución versus contaminación en cursos de agua afectados por el drenaje ácido de una mina: un modelo gráfico para la Faja Pirita Ibérica (SO de España). *Mine Water Environ*, 37, 211–216.

Grande J. A., de la Torre M. L., Santisteban M., Fortes J.C. 2018d. Hydrochemical characterization and evaluation of the impact of AMD processes on river basin areas in the Iberian Pyrite Belt. *Política del agua*, 20 (1), 146-157.

Grande J.A., Loayza-Muro R., Alonso-Chaves F.M., Fortes J.C., Willems B., Sarmiento A.M., Santisteban M., Dávila J.M., de la Torre M.L., Durães N., Diaz-Curiel J., Luís A.T. 2019. The Negro River (Ancash-Peru): A unique case of water pollution, three environmental scenarios and an unresolved issue, *Science of The Total Environment*, 648, 398-407.

Gray B.R., Hill W.R. 1995. Nickel sorption by periphyton exposed to different light intensities. *Journal of North American Benthological Society*, 14, 299-305.

Gray J.B., Vis M.L., 2013. Reference diatom assemblage response to restoration of an acid mine drainage stream. *Ecol. Indic.*, 29, 234–245.

Greenaway C. M., Paterson A. M., Keller W. B., Smol J. P. 2012. Scaled-chrysophyte assemblage changes in the sediment records of lakes recovering from marked acidification and metal contamination near Wawa, Ontario, Canada. *Journal of Limnology*, 71 (2).

Gross S., Robbins E. 2000. Acidophilic and acid-tolerant fungi and yeasts. *Hydrobiologia*, 433, 91-109.

Gray N. F. 1998. Acid mine drainage composition and the implications for its impact on lotic systems. *Water Resources*, 32, 2122-2134.

Gomà J., Ortiz R., Cambra J., Ector L. 2004. Water quality evaluation in Catalanian Mediterranean rivers using epilithic diatoms as bioindicators. *Vie Milieu*, 54, 81–90.

Gonçalves P. J. R. d, Hume C. C. D., Ferreira A. J., Tsui S., Brocchi M., Wren B. W., Araujo W. L. 2019. Environmental interactions are regulated by temperature in *Burkholderia seminalis* TC3.4.2R3. *Scientific Reports*, 9, 5486.

Gustavson K., Wängberg S.-Å. 1995. Tolerance induction and succession in microalgae communities exposed to copper and atrazine. *Aquat. Toxicol.* 32, 283–302.

Gómez N., Licursi M. 2001. The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquatic Ecology*, 35, 173-181.

Gold C., Feurtet-Mazel A., Coste M., Boudou A. 2003. Impacts of Cd and Zn on the development of periphytic diatom communities in artificial streams located along a river pollution gradient. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44, 189–197.

Gómez N. 1999. Epipellic diatoms from the Matanza-Riachuelo river (Argentina), a highly polluted basin from the Pampean plain: biotic indices and multivariate analysis. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, 2, 301-309.

Guasch H., Leira M., Montuelle B., Geiszinger A., Roulier J.L., Tornés E., Serra A. 2009. Use of multivariate analyses to investigate the contribution of metal pollution to diatom species composition: search for the most appropriate cases and explanatory variables. *Hydrobiologia*, 627 (1), 143-158.

Haeckel E. 1878. On the Liberty of Science and of Teaching 1. *Nature* 19, 113–115.

Hand D. J. 1998. Data mining: statistics and more. *The American Statistician*, 52, 112–118.

Hargreaves J. W., Lloyd E. J. H., Whitton, B. A. 1975. Chemistry and vegetation of highly acidic streams. *Freshwater Biology*, 5, 564–576.

Harvey C. E. 1981. The Río Tinto Company. An economic history of leading international mining concern. 1873-1954. Perzance, Cornwall.

Hathaway R. J., Bezdek J. C. 1993. Switching regression models and fuzzy clustering. *IEEE Transactions on Fuzzy Systems*, 1, 195–204.

Capítulo 7: Bibliografia

Havas M., Hutchinson T. 1983. The Smoking Hills: natural acidification of an aquatic ecosystem. *Nature* 301, 23–27.

Hill B. et al. 2003. Periphyton community responses to elevated metal concentrations in a Rocky Mountain stream. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 6, 177 – 183.

Hinton J.J., Veiga M.M. 2001. Mitigation of Mercury Pollution in an Artisanal Gold Mining Community, Cachoeira do Piriá, Brazil. *Proc. 6th International Conference on Mercury as a Global Pollutant*, 197.

Hirst H., Jüttner I., Ormerod S.J. 2002. Comparing the responses of diatoms and macroinvertebrates to metals in upland streams of Wales and Cornwall. *Freshwater Biol*, 47, 1752–1765

Hofmann G. 1994. Aufwuchs-Diatomeen in Seen un ihre Eignung als Indikatoren der Trophie. *Bibliotheca Diatomologica*. J. Cramer, Berlin.

Hubbard C.G., Black S., Coleman M.L. 2009. Aqueous geochemistry and oxygen isotope compositions of acid mine drainage from the Río Tinto, SW Spain, highlight inconsistencies in current models. *Chemical Geology*, 265 (3-4), 321-334.

Hudson-Edwards K.A., Schell C., Macklin M.G. 1999. Mineralogy and geochemistry of alluvium contaminated by metal mining in the Riotinto area, southwest Spain. *Applied Geochemistry*, 14, 1015–30.

INAG I. P. 2008. Manual para a avaliação biológica da qualidade da água em sistemas fluviais segundo a Directiva Quadro da Água. Protocolo de amostragem e análise para os macroinvertebrados bentónicos. Ministério do Ambiente, Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Instituto da Água IP, Lisbon, Portugal.

Jiménez A., Aroba J., de la Torre M.L., Andújar J.M., Grande J.A. 2009. Model of behaviour of conductivity versus pH in acid mine drainage water, based on fuzzy logic and data mining techniques. *Journal of Hydroinformatics*, 11 (2), 147-153.

Jüttner I., Sharma S., Dahal B. M., Ormerod S. J., Chimonides P.J., Cox J. 2003. Diatoms as indicators of stream quality in the Kathmandu Valley and Middle Hills of Nepal and India. *Freshwater Biology*, 48, 2065-2084.

Kaufman L., Rousseeuw P. J. 2009. Finding groups in data: an introduction to cluster analysis. New York: Wiley & Sons.

Kelly M. G. 1998. Use of the trophic diatom index to monitor eutrophication in rivers. *Water Research*, 32, 236-242.

Kelly M. G., Whitton B. A. 1998. Biological monitoring of eutrophication in rivers. *Hydrobiologia*, 384, 55–67.

Kelly M.G., Cazaubon A., Coring E., Dell'Uomo A., Ector L., Goldsmith B., Guasch H., Hürlimann J., Jarlman A., Kawecka B., Kwadrans J., Laugaste R., Lindstrom E.A., Leitao M., Marvan P., Padisak J., Pipp E., Prygiel J., Rott E., Sabater S., Van Dam H., Vizinet J. 1998. Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. *J. Appl. Phycol*, 10, 215-224.

Kelly M., Juggings S., Guthrie R., Pritchard S., Jamieson J., Rippey B., Hirst H., Jallop M. 2008. Assessment of ecological status in U.K. rivers using diatoms. *Freshwater Biology*, 53, 403-422.

Kelly M., Bennett C., Coste M., Delgado C., Delmas F., Denys L., Ector L., Fauville C., Ferreol M., Golub M., Jarlman A., Kahlert M., Lucey J., Chathain B., Pardo I., Pfister P., Picinska-Faltynowicz J., Rosebery J., Schranz C., Schaumburg J., van Dam H., Vilbaste S. 2009. A comparison of national approaches to setting ecological status boundaries in phytobenthos assessment for the European Water Framework Directive: results of an intercalibration exercise. *Hydrobiologia*, 621, 169–182.

Kendall D.G. 1975. *Analysis Multivariant*. Griffin & Co. Bristol.

Kim Y.S., Choi J.S., Kim J.H., Kim S.C., Park J.W., Kim H.S. 2008. The effects of effluent from a closed mine and treated sewage on epilithic diatom communities in a Korean stream. *Nova Hedwig*, 86, 507–524.

King L., Barker P., Jones R.I. 2000. Epilithic algal communities and their relationship to environmental variables in lakes of the English Lake District. *Freshwater Biology*, 45, 425–442.

King L., Jones R.I., Barker P. 2002. Spatial variation in epilithic algal communities around an oligotrophic and a mesotrophic lake in the English Lake District. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 28, 455–461.

King L., Clarke G., Bennion H., Kelly M., Yallop M. 2006. Recommendations for sampling littoral diatoms in lakes for ecological status assessments. *J. Appl. Phycol.* 18, 15–25.

Kohut C., Warren C. 2002. Chlorites. In: Dixon JB, Schulze DG (eds) *Soil mineralogy with environmental applications: SSSA Book Series*, vol 7. SSSA, Madison, 531–553.

Krammer K., Lange-Bertalot H. (1986–1991) *Bacillariophyceae*. (1) Naviculaceae. pp 876; (2) Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. pp 596; (3) Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. pp 576; (4) Achnanthaceae. pp 437. 2(1). H. Ettl, J. Gerloff, H. Heynig and D. Mollenhauer, Stuttgart.

Kupe L., Schanz F., Bachofen R. 2007. Biodiversity in the benthic diatom community in the upper River Töss reflected in water quality indices. *Clean-Soil, Air, Water*, 36, 84-91.

Kwandrans J., Eloranta P., Kawecka B., Wojtan K. 1998. Use of benthic diatom communities to evaluate water quality in rivers of southern Poland. *Journal of Applied Phycology*, 10, 193–201.

Kwandrans J. 2007. Diversity and ecology of benthic diatom communities in relation to acidity, acidification and recovery of lakes and rivers. *Diatom Monographs* 9. Gantner Verlag KG, Ruggell.

Lange-Bertalot H. 2001. In: Lange-Bertalot, H. (Ed.) *Diatoms of Europe. Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats* 2. A.R.G. Gantner Verlag K.G., Ruggell, Liechtenstein, 526.

Lange-Bertalot H. 1979. Pollution tolerance of diatoms as a criterion for water quality estimation. *Nova Hedwigia*, 64, 285–304.

Leblanc M, Morales JM, Borrego J, Elbaz-Poulichet F. 2000. 4.500 year-old mining pollution in Southwestern Spain: Long-term implications for modern mining pollution. *Economic Geology*, 95, 655-662.

Lyew D., Sheppard J. 2001. Use of conductivity to monitor the treatment of acid mine drainage by sulphate reducing bacteria. *Water Resour*, 35(8), 2081–2086.

Lobo A., Valente T., de la Torre M.L., Grande J.A., Santisteban M., Salmerón I., Sánchez Requena, J. 2014. Spatial behavior of acid mine drainage in a peculiar stream: physical-chemical evolution from the source until the temporarily receptor in the Iberian Pyrite Belt. *Proceedings of the Energy and Environment Knowledge Week Toledo, Spain 30th-31st – October*.

Loredo J., Álvarez R., Ordoñez A. 2005. Release of toxic metals and metalloids from Los Rueldos mercury mine (Asturias, Spain). *Science of the Total Environment*, 340, 247– 260.

López-Archilla A.I., Amils R. 1999. A comparative ecological study of two acidic rivers in southwestern Spain. *Microbial Ecol*, 38, 146-156.

López-Pamo, E., Sánchez España, J., Díez Ercilla, M., Santofimia Pastor, E., Réyes Andrés, J., 2009. Cortas mineras inundadas de la Faja Pirítica Ibérica:

inventario e hidroquímica. Instituto geológico y Minero de España. Serie: medio Ambiente. Número,13.

López Zafra F., Sanz Santacruz M. 2001. Desarrollo sostenible: presa del Andévalo Huelva. Cauce 2000. COICCP Madrid. 46-53.

Lavoie I., Hamilton P.B., Morin S., Kim Tiam S., Kahlert M., Gonçalves S., et al., 2017. Diatom teratologies as biomarkers of contamination: are all deformities ecologically meaningful Ecol. Indic, 82, 539–550.

Leland H.V., Carter J.L. 1984. Effects of copper on species composition of periphyton in a Sierra Nevada, California stream. Freshw. Biol, 14, 281–296.

Lyew D., Sheppard J. 2001. Use of conductivity to monitor the treatment of acid mine drainage y sulphate-reducing bacteria. Water Resources Management, 35(8), 2081–2086.

Luís A. T, Teixeira P., Almeida S. F. P., Ector L., Matos J. X., Ferreira da Silva E. A. 2009. 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, 147–167.

Luís A.T., Teixeira P., Almeida S., Matos J. X., Da Silva E. F. 2011. Environmental impacto of mining activities in the Lousal area (Portugal): chemical and diatom characterization of metal-contaminated stream sediment and surface water of Corona stream. Science of the Total Environment, 409(20), 4312–4325.

Luís A. T., Novais M. H., Van de Vijver B., Almeida S. F.P., Ferreira da Silva E. A., Hoffmann L., Ector L. 2012. *Pinnularia aljustrellica* sp. nov. (Bacillariophyceae), a new diatom species found in acidic waters in the Aljustrel mining area (Portugal), and further observations on the taxonomy, morphology and ecology of *P. acidophila* HOFMANN et KRAMMER and *P. acoricola* HUSTEDT. Fottea, 12(1), 27–400.

Luís A., Coelho H., Almeida S., Ferreira 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. *Fundam Appl Limnol*,182(1), 47–59

Luís A.T., Bonet B., Corcoll N., Almeida S.F.P., Ferreira 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) in fluvial biofilms. *Ecotoxicology*, 23,1270-1282.

Luís A. T., Duraes N., Almeida S. F. P., Ferreira da Silva E. 2016. Integrating geochemical (surface waters, stream sediments) and biological (diatoms) approaches to assess environmental impact in a pyritic mining area: Aljustrel (Alentejo, Portugal). *Journal of Environmental Sciences*, 42, 215–226.

Luís, A.T., Hlúbiková D., Vaché V., Choquet P., Hoffmann L., Ector L. 2017. Atomic Force Microscopy (AFM) application to diatom study: review and perspectives. *Journal of Applied Phycology*, 29, 2989–3001.

Luís A. T., Grande J. A., Davila J. M., Aroba J., Duraes N., Almeida S. F. P., de la Torre M.L., Sarmiento A.M., Fortes J. C., Ferreira da Silva E., Santisteban M. 2018. Application of fuzzy logic tools for the biogeochemical characterisation of (un)contaminated waters from Aljustrel mining area (South Portugal). *Chemosphere*, 211, 736–744.

Luís A.T., Grande J.A., Durães N., Dávila J.M., Santisteban M., Almeida S.F.P., Sarmiento A.M., de la Torre M.L., Fortes J.C., Ferreira da Silva E. 2019. Biogeochemical characterization of surface waters in the Aljustrel mining área (South Portugal). *Environ. Geochem. Health*, 41, 1909–1921.

Luo X.S., Yo S., Li X.D. 2011 Distribution, availability, and sources of trace metals in different particle size fractions of urban soils in Hong Kong: implications for assessing the risk to human health. *Environ Pollut* 159,1317–1326.

Leira M., Sabater S. 2005. Diatom assemblages distribution in Catalan rivers, NE Spain, in relation to chemical and physiographical factors. *Water Research*, 39, 73–82.

Leistel J.M., Marcoux E., Thieblemont D., Quesada C., Sánchez A., Almodóvar G., Pascual S., Sáez R. 1998. The volcanic hosted massive sulphide deposits of the Iberian Pyrite Belt. *Mineral Deposita*, 33, 2-30.

Leduc D., Leduc L.G., Ferroni G.D. 2002. Quantification of bacterial populations indigenous to acid drainage streams. *Water, Air, and Soil Pollution*, 135, 1-21.

López-Pamo E., Sánchez España J., Díez Ercilla M., Santofimia Pastor E., Réyes Andrés J. 2009. Cortas mineras inundadas de la Faja Pirítica Ibérica: inventario e hidroquímica. Instituto geológico y Minero de España. Serie: medio Ambiente. Número, 13.

Macías, F., Caraballo Monge M. A., Nieto Liñán J. M. 2012a. Evaluación ambiental y manejo de desechos ricos en metales generados en sistemas de remediación pasiva de drenaje ácido de minas. Universidad de Huelva. Departamento de Geología.

Macías F., Caraballo M.A., Rötting T.S., Pérez-López R., Nieto J.M., Ayora C. 2012b. From highly polluted Zn-rich acid mine drainage to non-metallic waters: implementation of a multi-step alkaline passive treatment system to remediate metal pollution *Sci. Total Environ*, 433, 323-330.

Macías F., Caraballo M.A., Nieto J.M. 2012c. Environmental assessment and management of metal-rich wastes generated in acid mine drainage passive remediation systems. *J Hazard Mater*, 229-230, 107–114.

Macías F., Pérez-López R., Caraballo M.A., Sarmiento A.M., Cánovas C.R., Nieto J.M., Olías M., Ayora C. 2017a. geochemical approach to the restoration plans for the Odiel River basin (SW Spain), a watershed deeply polluted by acid mine drainage *Environ. Sci. Pollut. Res*, 24, 4506-4516.

Macías F., Pérez-López R., Caraballo M.A., Cánovas C.R., Nieto J.M. .2017b. Management strategies and valorization for waste sludge from active treatment of extremely metal-polluted acid mine drainage: a contribution for sustainable mining J. Clean. Prod, 141,1057-1066.

Mann H., Tazaky K., Fyfe W.S., Beveridge T.J., Humphrey R. 1987. Cellular lepidocrocite precipitation and heavy metal sorption in *Euglena* sp. (unicellular alga): implications for biomineralization. Chemical Geology, 63, 39-43.

Márquez-García B., Pérez-López R., Ruíz-Chancho M. J., López-Sánchez J. F., Rubio R., Abreu M. M., Nieto J. M., Córdoba F. 2012. Arsenic speciation in soils and *Erica andevalensis* Cabezudo; *Rivera* and *Erica australis* L. from São Domingos Mine area, Portugal. Journal of Geochemical Exploration, 119–120, 51–59.

McFarland B.H., Hill B.H., Willingham W.T. 1997. Abnormal *Fragilaria* spp. (Bacillariophyceae) in streams impacted by mine drainage. J Freshw Ecol 12, 141–149.

McGinness S., Johnson D.B. 1993. Seasonal variations in the microbiology and chemistry of an acid mine drainage stream. Science of the Total Environment, 132, 27-41.

Monterroso C., Macias F. 1998. Drainage waters affected by pyrite oxidation in coal mine in Galicia (NW Spain): Composition and mineral stability. The Science of the Total Environment, 216, 121-132.

Medley, C.N.; Clements, W.H. Responses of diatom communities to heavy metals in streams: The influence of longitudinal variation. Ecol. Appl, 8, 631–644.

Margalef R. 1955. Los organismos indicadores en la limnología. Ministerio de Agricultura, Dirección General de Montes, Caza y Pesca. Madrid.

Capítulo 7: Bibliografía

Martín G., Alcalá E., Solá C., Plazuelo A., Burgos M.D., Reyes E., Toja J. 2004. Efecto de la contaminación minera sobre el perifiton del río Guadiamar. *Limnética*, 23, 315-330.

Masmoudi S., Nguyen-Deroche N., Caruso A., Ayadi H., Morant-Manceau A., Tremblin G., Bertrand M., Schoefs B. 2013 Cadmium, copper, sodium and zinc effects on diatoms: from heaven to hell - A review. *Cryptogamie Algologie*, 34 (2), 185-225.

Montesanto B., Ziller S., Coste M. 1999. Diatomées épilithiques et qualité biologique des ruisseaux du mont Stratonikon, Chalkidiki (Grèce). *Cryptogamie Algologie*, 20, 235-251.

Moreno C. 1987. Las facies Culm del anticlinorio de la Puebla de Guzmán (Huelva, España). Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 375.

Moreno C. 1993. Postvolcanic paleozoic of the Iberian Pyrite Belt: An example of basin morphologic control on sediment distribution in a turbidite basin. *Journal Sedimentary Petrology*, 63, 1118-1128.

Moreno C., González F., Sáez R., Sierra S. 2003. Inicio del vulcanismo en el sector de Calañas (Faja Pirítica Ibérica). Caracterización y datación. *Geogaceta*, 33, 59-62.

Moreno C., González F. 2004. Estratigrafía de la Zona Surportuguesa. En: *Geología de España* (Vera, J.A. eds). SGE-IGME, Madrid, 201-205.

Morin S., Duong T.T., Dabrin A., Coynel A., Herlory O., Baudrimont M., Delmas F., Durrieu G., Schafer J., Winterton P., Blanc G., Coste M. 2008a. Long-term survey of heavy-metal pollution, biofilm contamination and diatom community structure in the Riou Mort watershed, South-West France. *Environmental Pollution*, 115(3), 532-542.

Morin S., Coste M., Hamilton P.B. 2008b. Scanning electron microscopy observations of deformities in small pennate diatoms exposed to high cadmium concentrations. *Journal of Phycology*, 44,1512–1518.

Morin S., Cordonier A., Lavoie I., Arini A., Blanco S., Duong T.T., Tornés E., Bonet B., Corcoll N., Faggiano L. 2012. Consistency in diatom response to metal-contaminated environments. *Handbook of Environmental Chemistry* (H. Guasch, A. Ginebreda & A. Geiszinger), Springer, Heidelberg, 19, 117–146.

Mulholland P.J., Elwood J.W., Palumbo A.V., Stevenson R.J. 1986. Effects of stream acidification on periphyton composition, chlorophyll and productivity. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43, 1846–1858.

Nakajima H. 1996. Lógica difusa y minería de datos. En *Proceedings of the Soft Computing in Intelligent Systems and Information Processing. Actas del Simposio Asian Fuzzy Systems*. Kenting, Taiwán, 133-138.

Nieto J.M., Capitán M.A., Sáez R., Almodóvar G.R. 2003. Beudantita: un sumidero natural de As y Pb en los procesos de oxidación de sulfuros *Appl Tierra Sci* (Trans Inst Min Metall B), 112, 293 – 296.

Nieto J.M., Sarmiento A., Olías M., Cánovas C., Riba I., Kalman J, Delvalls T.A. 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. *Environmental International*, 33, 445-455.

Nieto J.M., Sarmiento A.M., Canovas C.R., Olias M., Ayora C. 2013. Acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt: 1. Hydrochemical characteristics and pollutant load of the Tinto and Odiel rivers *Environ. Sci. Pollut. Res*, 20 (11), 7509-7519.

Niyogi D.K., Lewis Jr.W.M., McKnight D.M. 2002. Effects of stress from mine drainage on diversity, biomass, and function of primary producers in mountain streams. *Ecosystems* 5, 554–567.

Nocete F., Linares J.A. 1999. Las primeras sociedades mineras en Huelva. Alosno. Historia de la Provincia de Huelva. Huelva, Editorial Mediterráneo, 49-64.

Nocete F., Sáez R., Nieto J. M., Lizcano R., Bayona M. R., Álex E., Inácio N. 2005. Nouvelles perspectives pour les analyses historiques de la première exploitation minière et de la première métallurgie dans la Péninsule Ibérique: La production du cuivre à Cabezo Juré (2900-2200 BC) *CU*, 4, 24-28.

Nakanishi Y., Sumita M., Yumita K., Yamada T., Honjo T. 2004. Heavy-metal pollution and its state in algae in Kakehashi River and Godani River at the foot of Ogoya mine, Ishikawa Prefecture. *Analytical Sciences*, 20 (1), 73-78.

Nicholson R.V. 1994. Iron-sulfite oxidation mechanism. En: White A.F., Brantley R.J. (eds.), *Chemical weathering rates of silicate minerals*. Mineralogical Society of America, 31, 173–225.

Nijboer R.C., Johnson R.K., Verdonschot P.F.M., Sommerhäuser M., Buffagni A. 2004. Establishing reference conditions for European streams. *Hydrobiologia*, 516, 91-105.

Nunes M. L., Ferreira Da Silva E., Almeida S.F.P. 2003. Assessment of water quality in the Caima and Mau river basins (Portugal) using geochemical and biological indices. *Water, Air, Soil Pollution*, 149, 227–250.

Oberholster P.J., Genthe B., Hobbs P., Cheng P.H., de Klerk A.R., Botha A.M. 2013. An ecotoxicological screening tool to prioritise acid mine drainage impacted streams for future restoration. *Environ. Pollut*, 176, 244–253.

Ochieng G.M., Seanego E.S., Nkwonta O.I. 2010. Impacts of mining on water resources in South Africa: A review, *Scientific Research and Essays*, 5 (22), 3351-3357.

Olenici A., Blanco S., Borrego-Ramos M., Momeu L., Baciú C. 2017. Exploring the effects of acid mine drainage on diatom teratology using geometric morphometry. *Ecotoxicology*, 26,1018-1030.

Olías M., Nieto J.M., Sarmiento A.M., Cerón J.C., Cánovas C.R. 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, 267-281.

Olías M., Nieto J.M., Sarmiento A.M., Canovas C.R., Galvan L. 2011. Water Quality in the Future Alcolea Reservoir (Odiel River, SW Spain): A Clear Example of the Inappropriate Management of Water Resources in Spain. *Water Resources Management*, 25 (1), 201-215.

Oliveira J.T., Wagner-Gentis C.H.T. 1983. The Mértola and Mira formations boundary between Dugueno and Almada de Ouro, Marine Carboniferous of South Portugal. In: Lemos de Sousa (ed.). *Contributions to the Carboniferous geology and paleontology of the Iberian Peninsula*. University of Porto, 1-39.

Oliveira J.T. 1990. South Portuguese Zone: Introduction. Stratigraphy and synsedimentary tectonism. In: *PreMesozoic Geology of Iberia*. Dallmeyer, R.D. and Martínez García, E. (eds.). Springer Verlag. Heidelberg, 333-347.

Ortiz M. 2003. Aproximación a la minería y metalurgia de minas de Riotinto desde la antigüedad al siglo XIX. PhD Thesis. UPM, Madrid, Spain

Palau A. 2002. La sedimentación en embalses. Medidas preventivas y correctoras. Congreso de Ingeniería Civil, Territorio y Medio Ambiente, 847-856.

Paulsson M., Nyström B., Blanck H. 2000. Long-term toxicity of zinc to bacteria and algae in periphyton communities from the river Göta Älv, based on a microcosm study. *Aquatic Toxicology*, 47, 243-257.

Pérez-Ostale. 2014. Caracterización ambiental de estructuras mineras en la Faja Pirítica Ibérica como soporte metodológico de gestión territorial. Thesis Doctoral, Universidad de Huelva.

Capítulo 7: Bibliografía

Peszek L., Zgrundo A., Noga T., Kochman-Kedziora N., Poradowska A., Rybak M., Puchalski C., Lee J. 2021. The influence of drought on diatom assemblages in a temperate climate zone: A case study from the Carpathian Mountains, Poland. *Str Ecological Indicators*, 125, 107579.

Peterson C. G., Boulton A.J. 1999. Stream permanence influences microalgae food availability to grazing tadpoles in arid-zone springs. *Oecologia*, 118,340-352.

Pinedo Vara I. 1963. *Piritas de Huelva*. Summa, Madrid.

Planas D. 1996. Acidification effects. In *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems*; Stevenson, R.J., Bothwell, M.L., Lowe, R.L., Eds.; Academic: San Diego, CA, USA, 497–530.

Prygiel J., Coste M. 1999. Progress in the use of diatoms for monitoring rivers in France. In: *Use of Algae for Monitoring Rivers III*. J. Prygiel, B. A. Whitton, J. Bukowska (eds.), Agence de l'Eau Artois-Picardie, Douai, 39-56pp.

Prygiel J., Coste M., Bukowska J. 1999. Review of the major diatom-based techniques for the quality assessment of rivers-state of the art in Europe. In J. Prygiel, B. A. Whitton, J. Bukowska (eds.). *Use of algae for monitoring Rivers III*, 224-238.

Prygiel J., Coste M. 2000. *Guide Méthodologique pour la mise en oeuvre de l'Indice Biologique Diatomées*. NF T 90-354, France,134.

Prygiel J. 2002. Management of the diatom monitoring networks in France. *Journal of Applied Phycology*, 14, 19-26.

Quesada C. 1996. Estructura del sector español de la Faja Pirítica: implicaciones para la exploración de yacimientos. *Boletín Geológico y Minero* 107, 65–78.

Reiss H., Kröncke I. 2005. Seasonal variability of benthic indices: An approach to test the applicability of different indices for ecosystem quality assessment. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 1490–1499.

Rivera M.J., Luís A.T., Grande J.A., Sarmiento A.M., Dávila J.M., Fortes J.C., Córdoba F., Diaz-Curiel J., 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, 4516.

Rivera M.J., Santisteban M., Aroba J., Grande J.A., Dávila J.M., Sarmiento A.M., Fortes J.C., Diaz-Curiel J., Luís A.T. 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 and Soil Pollution*, 231,142.

Riato L., Leira M., Della Bella V. 2018. Oberholster P.J. *Science of the Total Environment*, 612, 214–222.

Robbins E.I. 2000. Bacteria and Archaea in acidic environments and a key to morphological identification. *Hydrobiologia*, 433, 61-89.

Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G. 1990. *The diatoms. Biology and morphology of the genera*. Cambridge University Press, Cambridge.

Sabater S., Sabater F., Armengol J.1988. Relationships between Diatom Assemblages and Physico-chemical Variables in the River Ter (NE Spain). *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie*, 73 (2),171-179.

Sabater S. 2000. Diatom communities as indicators of environmental stress in the Guardamar River, S-WSpain, following a major mine tailings spill. *Journal of Applied Phycology*, 12(2),113–24.

Capítulo 7: Bibliografía

Sabater S., Buchaca T., Cambra J., Catalan J., Guasch H., Ivorra N., Romaní, A. 2003. Structure and function of benthic algal communities in an extremely acid river. *Journal of Phycology*, 39, 481–489.

Sabater S., Feio M.J., Graça M.A.S., Muñoz I. 2009. AM Romaní Los ríos ibéricos K. Tockner, U. Uehlinger, CT Robinson (Eds.), *Rivers of Europe*, Academic Press, Londres, 113 – 149pps.

Saboski E. M. 1977. Effects of mercury and tin on frustular ultrastructure of the marine diatom *Nitzschia liebthuthii*. *Water, Air, Soil Pollution*, 8, 461–466.

Schermerhorn L.J.G. 1971. An outline of the stratigraphy of the Iberian Pyrite Belt. *Boletín Geológico Minero*, 82, 239-268.

Sáez R., Pascual E., Toscano M., Almodovar G.R. 1999. The Iberian type of volcanosedimentary massive sulphide deposits. *Mineralium Deposita*, 34, 549-570.

Sáez R., Nocete F., Nieto J. M., Capitán M. A., Rovira S. 2003. The extractive metallurgy of copper from Cabezo Juré, Huelva, Spain: Chemical and mineralogical study of slags dates to the third millenium B,C. *The Canadian Mineralogist*, 41, 627-638.

Sáez R., Moreno C., González F. 2005. Los diques clásticos de Filón Norte (Tharsis). Interpretación en relación con la crisis finidevónica de la cuenca de la Faja Pirítica Ibérica, *Geogaceta* 37, 59-62.

Sáez, R. 2010. *La Faja Pirítica Ibérica, Una perspectiva geológica, arqueológica y ambiental*. Thesis Doctoral, University of Huelva, 305pp.

Sáinz A., Grande J.A., de la Torre M.L. 2000a. El Tinto y el Odiel: dos ríos para una reflexión. *Tecnología del agua*, 207, 28-35.

Sáinz A., Grande J. A., De la Torre M. L., Lopez N. 2000b. Influencia de la fracción granulométrica de corte en los contenidos de metales pesados de los sedimentos del curso principal del río Odiel. *Hidropres*, 26, 44-49.

Sáinz A., Grande J.A., de la Torre M.L., Sánchez-Rodas D. 2002. Characterisation of sequential leachate discharges of mining waste rock dumps in the Tinto and Odiel rivers. *Journal of Environmental Management*, 64(4), 345-353.

Sainz A., Grande J. A., De la Torre M. L. 2003a. Analysis of the impact of local corrective measures on the input of contaminants from the Odiel River to the Ria of Huelva (Spain). *Water Air and Soil Pollution*, 144(1), 375-389.

Sainz A., Grande J. A., de la Torre M. L. 2003b. Odiel River, acid mine drainage and current characterisation by means of univariate analysis. *Environment International*, 29, 51-59.

Sáinz A., Grande J.A., de la Torre M.L. 2004. Characterisation of heavy metal discharge into the ria of Huelva. *Environment international*, 20, 557-566.

Sáinz A., Grande J.A., de la Torre M.L. 2005. Application of a systemic approach to the study of pollution of the Tinto and Odiel rivers (Spain). *Environmental Monitoring and Assessment*, 102, 435-445.

Salmerón I., Valente T., Grande J.A., de la Torre M.L., Santisteban M., Lobo A., Sánchez Requena J. 2014. Four abandoned mines, one acid mine drainage affected river and an unsolved issue for a water supply reservoir. *Proceedings of the Energy and Environment Knowledge Week 2014 Toledo, Spain*.

Sánchez-España J., López-Pamo E., Santofimia E., Aduvire O., Reyes J., Baretino D. 2005. Acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt (Odiel river watershed, Huelva, SW Spain): Geochemistry, mineralogy and environmental implications. *Applied Geochemistry*, 20, 1320-1356.

Santisteban M., Grande J.A., de la Torre M.L., Valente T., Fernández J.P. 2012. Estudio preliminar de la afección por AMD en embalses de la Faja Pirítica Ibérica. SIAGA 2012, Instituto Geológico y minero de España, 535, Cádiz, 1-3 Octubre.

Santisteban M., Grande J.A., de la Torre M.L., Valente T., Cerón J.C. 2013. Acid mine drainage in semi-arid regions: the extent of the problem in the waters of reservoirs in the Iberian Pyrite Belt (SW Spain). *Hydrology Research*.

Santisteban M., Valente T., Grande J.A., de la Torre M.L., Almeida S., Pérez-Ostalé E., García Pérez M. 2014a. Proposal of a model of the horizontal moving of pollutants in a water reservoir receiving acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt (SW Spain). *Proceedings of the Energy and Environment Knowledge Week 2014 Toledo, Spain*.

Santisteban M., Valente T., Grande J.A., de la Torre M.L., Almeida S., Pérez-Ostalé E., García Pérez M. 2014b. Study of the transit and attenuation of pollutants in a water reservoir receiving acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt (SW Spain). *Environmental Science and Pollution Research*.

Santisteban M. 2015. Incidencia de procesos AMD en la hidroquinona de embalses afectados en la Faja Pirítica Ibérica. Ph.D. Thesis, Universidad de Huelva, Huelva, Spain.

Santisteban M., Grande J.A., de la Torre M.L., Valente T., Pérez-Ostalé E., Cerón J.C. 2015. Fuzzy intelligence approach for modeling the migration of contaminants in a reservoir affected by AMD pollution. *Mine Water and the Environment*, 34, 352-360.

Santisteban M., Grande J.A., de La Torre M.L., Valente T., Perez-Ostalé E., Garcia-Pérez M. 2016. Estudio del tránsito y atenuación de contaminantes en un depósito de agua que recibe drenaje ácido de mina en la Faja Ibérica de Pirita (SO de España). *Water Sci Technol*, 16, 128-134.

Santisteban M., Viers J., Sarmiento A.M., Grande J.A., Luís A.T., de la Torre A.T., Fortes J.C., Dávila J.M. 2019. Proposal of precipitation–dissolution models in a

channel affected by acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt during torrential rain regimes. *Applied Sciences*, 1(8).

Santofimia E., López-Pamo E., Montero E. 2013a. Environmental Management of Aznalcóllar Mine and Its Influence in the Hydrogeochemical of the Pit lake. *Water Environment Research*, 85 (8).

Santofimia E., López-Pamo E. 2013b. The role of surface water and mine groundwater in the chemical stratification of an acidic pit lake (Iberian Pyrite Belt, Spain). *Journal of Hydrology*, 490.

Santofimia E., González-Toril E., López-Pamo E., Gomariz M., Amils R., Aguilera Á. 2013c. Microbial Diversity and Its Relationship to Physicochemical Characteristics of the Water in Two Extreme Acidic Pit Lakes from the Iberian Pyrite Belt (SW Spain).

Santofimia E., López-Pamo E., Montero E. 2015. Selective precipitation of schwertmannite in a stratified acidic pit lake of Iberian Pyrite Belt. *Mineralogical Magazine*, 79 (2).

Santofimia E., López-Pamo E. 2016. Performance of an open limestone channel for treating a stream affected by acid rock drainage (León, Spain). *Environmental Science and Pollution Research*, 23 (14).

Sarmiento A. M., Nieto J. M., Ollas M. 2004. The contaminant load transported by the river Odiel to the Gulf of Cádiz (SW Spain). *Applied Earth Science*, 113(2), 117-122.

Sarmiento A. M., Nieto J. M., Ollas M., Cánovas C. R. 2006. Pollution of a river basin impacted by acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt (SW Spain). En: 7th International Conference on Acid Rock Drainage. Barnhisel, R. I. American Society of Mining and Reclamation, 1850-1862. March, 26-30, St. Louis, Missouri, USA.

Sarmiento A.M. 2007. Estudio de la contaminación por drenajes ácidos de mina de las aguas superficiales en la cuenca del río Odiel (SO España). Thesis Doctoral, Universidad de Huelva, 395pp.

Sarmiento A.M., Del Valls A., Nieto J.M., Salamanca M.J., Caraballo M.A. 2011. Evaluación de toxicidad y riesgo potencial de un río contaminado por drenaje ácido de mina en la Faja Ibérica de Pirita (SO de España). *Sci Total Environ* 409, 4763-4771.

Sarmiento A.M., Bonnail E., Nieto J.M., Del Valls A. 2016. Biodisponibilidad y toxicidad de los metales de un sedimento contaminado por el drenaje ácido de una mina: vinculación de las relaciones exposición-respuesta del bivalvo de agua dulce *Corbicula fluminea* con el sedimento contaminado Reinar. *Sci. Pollut. Res.*, 23 (22), 22957-22967.

Sarmiento A.M., Grande J.A., Luís A.T., Dávila J.M., Fortes J.C., Santisteban M. Curiel J., de la Torre M.L., 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. *Sci. Total Environ*, 644, 1244-1253.

Sarmiento A.M., Fortes J.C., Dávila J.M., Grande J.A., Córdoba F., Santisteban M., Luis A.T. 2019. Proceedings, XII Congreso Ibérico de Geoquímica, vol 1, 473-476.

Say P.J. 1978. The Riou-Mort, a tributary to the river Lot polluted by heavy metals. I. Preliminary observations on the chemistry and benthic algae. *Annales of Limnology*, 14(1-2),113-31.

Schaumburg J., Schranz C., Foerster J., Gutowski A., Hofmann G., Meilinger P., Schneider S., Schmedtje U. 2004. Ecological classification of macrophytes and phytobenthos for rivers in Germany according to the Water Framework Directive. *Limnologica*, 34, 283-301.

Schowe K. A., Harding J. S., Broady P. A. 2013. Diatom community response to an acid mine drainage gradient. *Hydrobiologia*, 705,147–158.

Schowe K.A., Harding J.S. 2014. Development of two diatom-based indices: a biotic and a multimetric index for assessing mine impacts in New Zealand streams. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 48(2), 163-176.

Simancas J. F., Carbonell R., González Lodeiro F., Pérez-Es-taún A., Juhlin C., Ayarza Kashubin A., Azor A., Martínez Poyatos D., Almodóvar G. R., Pascual E., Sáez, R., Expósito, I. 2003. The Crustal Structure of the Transpressional Variscan Orogen of SW Iberia: The IBERSEIS Deep Seismic Reflection Profile. *Tectonics*, 22 (6), 1062.

Singer P.C., Stumm W.1970. Acidic mine drainage: the rate determining step. *Science*, 167, 1121-1123.

Smucker N. J., Vis M. L. 2013. Can pollution severity affect diatom succession in streams and could it matter for stream assessments. *Journal of Freshwater Ecology*, 28, No. 3, 329-338.

Sugeno M., Yasukawa A. 1993. A fuzzy-logic based approach to qualitativemodelling. *IEEE Trans Fuzzy Syst*, 1, 7–31.

Strauss G. K. 1970. Sobre la geología de la provincia piritífera del suroeste de la Península Ibérica y de sus yacimientos, en especial sobre la mina de piritita de Lousal (Portugal). *Mem. Inst. Geol. Esp*, 77, 266.

Stevenson R.J., Pan Y. 1999. Assessing environmental conditions in rivers streams with diatoms. In: STOERMER E.F. & SMOL J.P. (eds.) *The diatoms: Applications for the environmental and earth sciences*, 11-40. Cambridge University Press, Cambridge.

Stubbington R., Paillex A., England J., Barthes A., Bouchez A., Rimet F., Sánchez-Montoya M. M., Westwoo C.G., Datry T. 2019. A comparison of biotic groups as dry-phase indicators of ecological quality in intermittent rivers and ephemeral streams. *Ecological Indicators*, 97,165-174.

Capítulo 7: Bibliografía

Takamura N., Kasai F., Watanabe M. 1998. Effects of Cu, Cd and Zn on photosynthesis of freshwater benthic algae, *Journal of Applied Phycology*, 1, 39-52.

Taylor J.C., Prygiel J., Vosloo A., De la Rey P.A., Van Rensburg L. 2007. Can diatom-based pollution indices be used for biomonitoring in South Africa. A case study of the Crocodile West and Marico water management area. *Hydrobiologia*, 592, 455-464.

Tolotti R., Consani S., Carbone C., Vagge G., Capello M., Cutroneo L. 2019. Benthic diatom community response to metal contamination from an abandoned Cu mine: Case study of the Gromolo Torrent (Italy). *Journal of environmental sciences*, 75, 233-246.

Tornos F., 2008. La Geología y Metalogenia de la Faja Pirítica Ibérica. *MACLA* 10, 13-23.

Tornos F., Oggerin M., de los Ríos A., Rodríguez N., Amils R., Sanz J.L., Rojas P., Velasco F., Escobar J.M., Gómez C., Slack J.F. 2019. Do microbes control the formation of giant copper deposits?. *Geology*. 47 (2), 143-146.

Torrise M. C. & Dell'uomo A. 2006. Biological monitoring of some Apennine rivers (Central Italy) using the Diatom-based Eutrophication/Pollution Index (EPI-D) compared to other European diatom indices. *Diatom Research*, 21, 159-174.

USEPA. 1994. Acid Mine Drainage Prediction. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Solid Waste.

Urrea G., Sabater S. 2009. Epilithic diatom assemblages and their relationship to environmental characteristics in an agricultural watershed (Guadiana River, SW Spain). *Ecological Indicat*, 9, 693-703.

Valente T. 1996. Evolução de sistemas actuais desequilibrados por intervenções extractivas. Exemplos do Minho. O couro mineiro de Valdearcas. Tese de Mestrado, Univ. Minho, Braga, 202.

Valente T.M., Leal Gomes C. 2007. The role of two acidophilic algae as ecological indicators of acid mine drainage sites. *Journal of Iberian Geology*, 33 (2), 283-294.

Valente T., Leal Gomes C. 2009. Occurrence, properties and pollution potential of environmental minerals in acid mine drainage. *Science of the Total Environment*, 407, 1135-1152.

Valente T.M., Antunes M., Sequeira Braga A., Prudencio M. I., Marques R., Pamplona J. 2012. Mineralogical attenuation for metallic remediation in a passive system for mine water treatment. *Environmental Earth Sciences*, 66, 39-54.

Valente T., Grande J. A., de la Torre M. L., Santisteban M., Cerón J. C. 2013. Mineralogy and environmental relevance of AMD-precipitates from the Tharsis mines, Iberian Pyrite Belt (SW, Spain). *Applied Geochemistry*, 39, 11-25.

Valente T., Grande J.A., Cerón J.C.1, de la Torre M.L., Santisteban M., Borrego J., Fernández P., Sánchez-Rodas D. 2014. Distribution of trace elements in a mining dam in the Iberian Pyrite Belt (SW Spain): Sources and relationship between elements of environmental concern. *International Geology Review*. In Press.

Valente T., Rivera M.J., Almeida S.F.P., Delgado C., Gomes P., Grande J.A., de la Torre M.L. 2016a. Characterization of water reservoirs affected by acid mine drainage: Geochemical, mineralogical and biological (diatoms) properties of the water. *Environ Sci and Pollut Res. Int.*, 23, 6002-6011.

Valente T., Rivera M.J., Almeida S.F.P., Delgado C., Gomes P., Grande J.A., de la Torre M.L. 2016b. Erratum to: Characterization of water reservoirs affected by acid mine drainage: geochemical, mineralogical, and biological (diatoms) properties of the water. *Environ Sci Pollut Res*, 23, 6012-6013.

Capítulo 7: Bibliografía

Van Dam H., Suurmond G., Braak C.J.F.T. 1981. Impact of acidification on diatoms and chemistry of Dutch moorland pools. *Hydrobiologia*, 83, 425-459.

Van Dam H., Mertens A., Sinkeldam J. 1994. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from The Netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology*, 28, 117-133.

Vera J.A. 2004. *Geología de España*, 890, Serv. Geol. de España. Instituto Geológico y Minero de España (SGE/IGME), Madrid.

Verb R.G., Vis M.L. 2000. Comparison of benthic diatom assemblages from streams draining abandoned and reclaimed coal mines and nonimpacted sites. *J. North Am. Benthol. Soc*, 19, 274-288.

Wetzel R. G. 1993. *Limnologia*. Lisboa; Fundação Calouste Gulbenkian 919pp.

Whitton B.A. 1984. Algae as monitors of heavy metals in freshwaters. In: *Algae as ecological indicators* (Ed. L.E. Shubert). Academic Press, New York.

Whitton B. A., Diaz B. M. 1981. Influence of environmental factors on photosynthetic species composition in highly acidic waters. *Verh. Int. Ver. Limnol*, 21, 1459-1465.

Vicente-Martorell J.J., Galindo-Riaño M.D., García-Vargas M., Granado-Castro Ma. D. 2008. Heavy metal speciation of estuarine sediments affected by acid mine drainage in the Tinto and Odiel estuary, Spain, Relationship to bioconcentration of fish tissues. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17(10B), 1744-1754.

Wang H. 2010. Characteristics of acid mine drainage and its pollution control, 2010 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, ICBBE 2010, art no, 5517409. *Water Works Association*, 37(10), 963-984.

Wong C.S.C., Li X.D., Thornton I. 2006. Urban environmental geochemistry of trace metals. *Environ Pollut*, 142, 1-16

Wu J.T. 1999. A generic index of diatom assemblages as bioindicator of pollution in the Keelung River of Taiwan. *Hydrobiologia*, 397, 79-87.

Wu J.T. & Kow L.T. 2002. Applicability of generic index of diatom for monitoring water pollution in the tropical river Tsanwun (Taiwan). *Journal of Applied Phycology*, 14, 63-69.

Younger P.L. 2001. Mine water pollution in Scotland: Nature, extent and preventative strategies. *Science of the Total Environment*, 265(1-3), 309-326.

Younger P.L., Banwart S.A., Hedin R.S. 2002. Mine water: Hidrology, Pollution, Remediation. *Environmental Pollution*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 5, 442.

Zalack J.T., Smucker N.J., Vis M.L. 2010. Development of a Diatom Index of biotic integrity for acid mine drainage impacted streams. *Ecological Indicators*, 10, 287-295.

Zadeh L. A. 1965. Fuzzy Sets. *Information and Control*, 8, 338-353.

Webgrafía:

SEPREM – Sociedade Española de Presas y Embalses. Madrid. [consultado 27/07/2021] Disponible en: <https://www.seprem.es/enlaces.php>

