



CONAMA10
CONGRESO NACIONAL
DEL MEDIO AMBIENTE

COMUNICACIÓN TÉCNICA

Efecto del estrés térmico y salino en coleópteros acuáticos

Autor: Susana Pallarés Párraga

Institución: Universidad de Murcia

e-mail: susana.pallares87@gmail.com

Otros Autores: Andrés Millán Sánchez (Universidad de Murcia); Josefa Velasco García (Universidad de Murcia); Paula Arribas Blázquez (Universidad de Murcia); Vanessa Céspedes Castejón (Universidad de Murcia)

RESUMEN

Los ecosistemas acuáticos salinos se encuentran dentro de los más afectados por las actividades humanas, que inducen cambios en su hidrología natural y niveles de salinidad. A estos problemas se une el cambio climático global, que en estos medios puede suponer un aumento de la salinidad debido al incremento de las temperaturas y disminución de las precipitaciones, resultando en una reducción del hábitat disponible para muchas especies. Los efectos de estas alteraciones sobre las especies dependerán en gran medida de la capacidad de colonización de las mismas, es decir de su habilidad para la dispersión y su tolerancia fisiológica a las condiciones ambientales y bióticas. Especies con menor capacidad de colonización, que no sean capaces de modificar sus rangos geográficos ni adaptarse a las nuevas condiciones, serán más vulnerables frente a cambios en las condiciones de sus hábitat. En el presente estudio se analizaron la tolerancia y respuestas de escape frente a la temperatura y salinidad de cuatro especies de Coleópteros comunes en los ecosistemas acuáticos salinos mediterráneos para predecir cómo podrían afectarles cambios en dichos factores como consecuencia del cambio global. Son pares de especies taxonómicamente relacionadas pero con diferentes rangos de distribución y distinta ocupación de hábitat (lótico-lenítico): *Enochrus bicolor*, *Enochrus falcarius*, *Nebrioporus ceresyi* y *Nebrioporus baeticus*. Los individuos fueron sometidos a distintos tratamientos combinados de temperatura y salinidad durante 30 minutos registrando las respuestas de emersión, vuelo y mortalidad. Sólo la temperatura tuvo efecto significativo sobre las respuestas estudiadas. Las tolerancias térmicas fueron similares en todas las especies, por lo que no parecen estar correlacionadas con los divergentes patrones biogeográficos. El patrón de la respuesta de escape fue similar en todas las especies, incrementándose con la temperatura hasta un máximo en 36-39°C y decayendo severamente a 44°C (límite letal). Sin embargo, la respuesta de escape fue de mayor magnitud en las especies de distribución amplia y que ocupan hábitat leníticos. Los resultados sugieren que las especies lóticas, *E. falcarius* y *N. baeticus*, podrían ser más vulnerables frente a incrementos de temperatura en sus hábitat debido al cambio global, que las especies leníticas.

Palabras Clave: ecosistemas acuáticos salinos, cambio global, Coleópteros acuáticos, capacidad de colonización, tolerancia fisiológica, capacidad de dispersión, estrés ambiental, distribución geográfica, hábitat lóticos, hábitat leníticos

1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- Los ecosistemas acuáticos salinos.

Los ecosistemas acuáticos salinos resultan de gran interés por la singularidad de la fauna que albergan. Se trata de ambientes extremos que, por su contenido y composición variable en sales, limitan el número de especies que los colonizan. Las condiciones estresantes que predominan en estos medios constituyen una barrera infranqueable, destacando la salinidad y las altas temperaturas como los principales factores limitantes para el asentamiento de la flora y la fauna. Ambos factores en medios salinos pueden interactuar de manera sinérgica o antagónica sobre los organismos.

En este sentido, estudios centrados en diferentes organismos han encontrado coincidencias entre los límites de distribución y las condiciones climáticas (p. e. Root, 1988; Iversen, 1994). El estudio del efecto conjunto de distintas variables ambientales es fundamental para determinar la importancia de la tolerancia fisiológica en los patrones biogeográficos de las especies (Gaston, 2003).

Como se ha comentado, en estos medios es frecuente encontrar una menor riqueza de especies que en agua dulce, sin embargo el grado de rareza y endemidad de las comunidades salinas es significativamente alto (Moreno *et al.*, 1997; Abellán *et al.*, 2007). Las especies salinas están adaptadas a las condiciones extremas de los ambientes que ocupan, y a menudo presentan poblaciones fragmentadas y muy aisladas lo que les confiere un mayor interés de conservación. La alta singularidad fisiológica, ecológica y genética de dichas especies las hacen componentes clave a considerar para la conservación de la biodiversidad. Así, recientemente, se han propuesto algunas especies salinas para su inclusión en listas rojas nacionales e internacionales (Sánchez-Fernández *et al.*, 2008).

Por otro lado, los Coleópteros acuáticos son un grupo de insectos capaces de ocupar una gran diversidad de medios (Ribera, 2000), siendo especialmente dominantes en los ecosistemas salinos. En la Península Ibérica existen en torno a 510 especies y subespecies bien reconocidas, de las que, aproximadamente, 120 son endémicas (Sánchez-Fernández *et al.*, 2008) y un 15 % exclusivas de ambientes salinos. La colonización de los medios salinos ha sido un proceso múltiple en el caso de los Coleópteros acuáticos, de forma que en los ambientes salinos encontramos especies correspondientes a linajes muy divergentes. Las condiciones extremas que imponen la salinidad y las altas temperaturas de los medios salinos, ha sido y es fundamental en la evolución de este grupo, moldeando su biogeografía y ecología.

A pesar del gran interés de conservación de estos ecosistemas y de encontrarse dentro de los más afectados por las actividades humanas, se conoce poco de estos medios acuáticos tan singulares y de los mecanismos que permiten a determinadas especies vivir en ellos. Las principales amenazas que sufren dichos sistemas son los cambios en la hidrología natural y en los niveles de salinidad, que provocan una importante pérdida de biodiversidad (Velasco *et al.*, 2006). A estos problemas se une el cambio climático global, que puede resultar en un aumento de temperatura y una disminución de las precipitaciones en las áreas mediterráneas, lo cual en medios salinos supondría un

aumento paralelo de la salinidad, así como una reducción del hábitat disponible para muchas especies (Calosi *et al.*, 2008a, 2008b).

Los efectos de estas alteraciones sobre las especies dependerán, en gran medida, de la capacidad de éstas para modificar sus rangos de distribución geográfica o de adaptar su comportamiento a las nuevas condiciones. Así, los taxones con menor capacidad de colonización tendrán riesgo de extinción, sobre todo si no son capaces de responder fisiológicamente ni modificar su comportamiento (Davis y Shaw, 2001, Kearney *et al.*, 2009). En este contexto resulta especialmente interesante estudiar las tolerancias fisiológicas de las especies, puesto que de dicha tolerancia depende, en gran medida, su supervivencia ante los cambios ambientales.

Por otra parte, el tamaño del rango de distribución de las especies está determinado por numerosos factores ecológicos y evolutivos (Gaston, 2003), entre los que destacan la capacidad de dispersión, la amplitud del nicho ecológico y el hábitat ocupado. Estudios previos han mostrado una estrecha relación entre tipo de hábitat y el tamaño del rango geográfico para distintas especies de invertebrados acuáticos (Ribera y Vogler, 2000; Ribera *et al.*, 2003, 2008; Hof *et al.*, 2006; Marten *et al.*, 2006). Dicha correlación se ha explicado a través de la hipótesis denominada “*Aquatic Habitat Constraint*” o *restricción del hábitat acuático* (Ribera, 2008). Esta hipótesis plantea que las especies que ocupan hábitat acuáticos leníticos (cuerpos de agua cerrados), de carácter en general inestable y efímero, se ven forzadas a la colonización de nuevos cuerpos de agua cuando los que ocupan desaparecen, y por lo tanto es esperable que su capacidad de colonización y consiguiente rango de distribución, sean mayores que los de las especies que ocupan hábitat lóticos (sistemas de agua corriente), más estables.

Otro factor con demostrada correlación con el rango de distribución de las especies es la amplitud de sus nichos. En este sentido, la hipótesis de Brown (Brown, 1984; Brown y McLachlan, 1994) sugiere que las especies con nichos más amplios tendrán mayores rangos de distribución, debido a una mayor plasticidad fisiológica y tolerancia ambiental en comparación con taxones de distribución restringida (Stanley y Parsons, 1984; Gaston y Spicer, 2001; Calosi *et al.*, 2010).

La capacidad de colonización de un organismo hace referencia a su habilidad para generar nuevas poblaciones. Dicho atributo está compuesto por dos capacidades combinadas: la capacidad de dispersión y la capacidad de establecimiento en un nuevo lugar (Reaka, 1980; Gaston, 1994). La capacidad de establecimiento está determinada en gran medida por la tolerancia que presenten las especies ante las condiciones ambientales y bióticas. Por otro lado, la capacidad de dispersión se refiere a la habilidad de los individuos para llegar a un nuevo fragmento de hábitat (Gaston, 1994). Dicha capacidad incluye tanto la habilidad locomotora de los organismos, como rasgos de su comportamiento relacionados con las respuestas de huida ante condiciones cambiantes (Gaston, 1994). A pesar de la reconocida importancia que tiene la capacidad de colonización para explicar la distribución geográfica de los invertebrados acuáticos, pocos estudios han explorado este interesante rasgo (Bilton *et al.*, 2001; Rundle *et al.*, 2002, 2007).

1.2.- Objetivos

En el marco de los ecosistemas acuáticos salinos se plantearon los siguientes objetivos para este estudio:

- Analizar la tolerancia y respuestas de escape frente a la temperatura y salinidad de especies típicas de medios salinos mediterráneos, estrechamente relacionadas taxonómicamente, pero con distinto rango geográfico y ocupación de hábitats.
- Determinar si existe relación entre tolerancia térmica, comportamiento de huida, estabilidad del hábitat ocupado y amplitud del rango geográfico en estas especies.
- Identificar las especies más vulnerables a los posibles cambios en sus hábitats como consecuencia del cambio global.

2.- MATERIAL Y MÉTODOS

2.1.- Especies estudiadas.

Se seleccionaron dos pares de especies de Coleópteros, pertenecientes a las familias Hydrophilidae y Dytiscidae, respectivamente, comunes en los ecosistemas acuáticos salinos mediterráneos, que cumplieran los siguientes requisitos:

- a) especies taxonómicamente relacionadas,
- b) con distintos rangos de distribución geográfica (distribución amplia frente a distribución restringida),
- c) con distinta ocupación de hábitat (lóticos frente a leníticos).

El primer par de especies pertenecen al género *Enochrus* (*E. falcarius* y *E. bicolor*) y el segundo par al género *Nebrioporus* (*N. baeticus* y *N. ceresyi*). En la Tabla 1 se muestran algunas características ecológicas y fisiológicas diferenciadoras de las especies.

Tabla 1. Descripción del rango geográfico, habitat y ventana térmica (UTL: límite térmico superior e LTL: límite térmico inferior, para unas condiciones de aclimatación de 20°C y 35 g·l⁻¹). de las especies objeto de estudio

	<p><i>Enochrus falcarius</i> Hebauer, 1991 (Coleoptera, Hydrophilidae)</p> <p>Hábitat: Ambientes lóticos (ramblas mesosalinas e hipersalinas).</p> <p>UTL: 54,27 °C; LTL: -11,36 °C (Arribas <i>et al.</i>, en preparación)</p>
	<p><i>Enochrus bicolor</i> (Fabricius, 1792) (Coleoptera, Hydrophilidae)</p> <p>Hábitat: Ambientes leníticos (cuerpos de agua estancados meso e hipersalinos), tanto costeros como de interior.</p> <p>UTL: 52,96 °C; LTL: -11,66 °C (Arribas <i>et al.</i>, en preparación)</p>
	<p><i>Nebrioporus baeticus</i> (Schaum, 1864) (Coleoptera, Dytiscidae)</p> <p>Hábitat: Ambientes lóticos (ramblas mesosalinas e hipersalinas (Sánchez-Fernández <i>et al.</i>, 2010)).</p> <p>UTL: 45,20 °C; LTL: -6,40 °C (Sánchez-Fernández <i>et al.</i>, 2010)</p>
	<p><i>Nebrioporus ceresyi</i> (Aubé, 1836) (Coleoptera, Dytiscidae)</p> <p>Hábitat: Sistemas salinos leníticos (cubetas salineras y charcas salinas, especialmente aquellas localizadas en llanuras litorales (Fery <i>et al.</i>, 1996)).</p> <p>UTL: 45,50 °C; LTL: -6,6 °C (Sánchez-Fernández <i>et al.</i>, 2010)</p>

2.2.- Recolección de individuos, mantenimiento y aclimatación

Los individuos de *E. bicolor*, *E. falcarius*, *N. ceresyi* y *N. baeticus* se recolectaron en cuatro cuerpos de agua salinos de las provincias de Murcia y Albacete (Tabla 2) en Abril de 2010. Se capturaron aproximadamente 200 individuos de cada especie.

También se midió la salinidad *in situ* (Tabla 2) y se recolectó vegetación y sedimento, que sirvieron como alimento y soporte físico para su mantenimiento en el laboratorio.

Tabla 2. Zonas de recolección de individuos y salinidad del medio.

Especie	Zona de recolección	Salinidad (g/l)
<i>Nebrioporus ceresyi</i>	Charca litoral (Parque Regional de Calblanque, Monte de las Cenizas y Peña del Águila, Murcia)	7,2
<i>Nebrioporus baeticus</i>	Río Chícamo (Murcia)	9,1
<i>Enochrus bicolor</i>	Laguna del Mojón Blanco (Albacete)	7,4
<i>Enochrus falcarius</i>	Rambla Salada (Paisaje Protegido Humedal del Ajauque y Rambla Salada, Murcia)	42

Los individuos fueron transportados al laboratorio en seco, dentro de recipientes con vegetación de la zona de recolección, en condiciones de alta humedad, y en una bolsa aislante para evitar cambios bruscos de temperatura.

Tras la recolección, los individuos se mantuvieron en condiciones de laboratorio durante una semana en cuatro acuarios de 6 litros (uno por cada especie), con aireación artificial, proporcionando alimento periódicamente. En cada uno se introdujo sustrato, vegetación y agua filtrada procedente de las zonas de recolección. Los acuarios se cubrieron con film de plástico para evitar el escape de individuos y la evaporación del agua (Figura 1).

Posteriormente, los individuos fueron aclimatados en acuarios de 2 litros con agua filtrada de la zona de recolección de cada especie (aproximadamente 600 ml) y sin ninguna fuente de alimento disponible (Figura 1). En estas condiciones los individuos fueron aclimatados durante 24 horas a temperatura constante (20°C), con régimen de luz/oscuridad de 12 h. /12 h., e intensidad de una lámpara ($15 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) en una cámara de incubación (Sanyo modelo MLR-351).



Figura 1. Acuarios de mantenimiento (izq.) y de aclimatación (dcha.)

2.3.- Diseño experimental

Para evaluar las tolerancias y respuestas diferenciales en las cuatro especies se realizaron un total de 12 tratamientos combinados de temperatura y salinidad por especie (Tabla 3). Se establecieron tres valores de salinidad (12, 35 y 60 g/l) que se encuentran dentro del rango natural de los hábitats de las especies estudiadas. En cuanto a la temperatura, se seleccionaron cuatro valores que constituyen un gradiente desde temperaturas habituales en los medios naturales de las especies (20 - 36 °C) hasta temperaturas extremas (39 - 44 °C), próximas a los límites térmicos superiores (UTLs) de las especies y a temperaturas consideradas como letales para la mayoría de insectos (Christian y Morton, 1992). Para alcanzar las temperaturas correspondientes a cada tratamiento se utilizó un baño húmedo donde la temperatura se controló realizando ajustes con el fin de que la variación en los acuarios no fuera mayor de $\pm 1^\circ\text{C}$.

Para cada tratamiento se realizaron 3 réplicas. Cada réplica estaba constituida por un acuario conteniendo 3 individuos (tres unidades de evaluación por réplica). Se utilizaron acuarios de cristal con una piedra artificial parcialmente sumergida para facilitar la emersión y el vuelo (Figura 2). Con el fin de agilizar el procedimiento y reducir el tiempo de experimentación, las pruebas se realizaron introduciendo en un mismo acuario dos especies de géneros distintos, teniendo en cuenta que no existen interacciones conocidas de competencia o depredación entre las mismas.

Las pruebas consistieron en someter cada conjunto de individuos al tratamiento asignado durante un periodo de 30 minutos. En cada acuario se depositaron simultáneamente tres individuos de cada especie. Las variables medidas fueron mortalidad final tras el periodo de exposición, frecuencia de emersión y número de vuelos de los individuos. La observación de las respuestas fue continua registrando cada 2 minutos los individuos que en ese momento estaban emergidos (encima de la piedra o en la interfase entre la piedra y el agua), muertos, o que habían volado. Los individuos que volaban durante la prueba se retiraron de los acuarios para que no interfirieran en el tratamiento.

Tabla 3. Tratamientos experimentales de Temperatura x Salinidad a los que fueron sometidas las especies

	<i>E. falcarius + N. baeticus</i>			<i>E. bicolor + N. ceresyi</i>		
	12 g/l	35 g/l	60 g/l	12 g/l	35 g/l	60 g/l
20 ± 1 °C	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)
36 ± 1 °C	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)
39 ± 1 °C	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)
44 ± 1 °C	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)	3 R x (3 l)

R = réplicas, l = individuos



2.4.- Análisis de datos

Las variables analizadas fueron mortalidad total (tras los 30 min de exposición), frecuencia de emersión, vuelo, y la suma de emersión + vuelo. Los datos correspondientes al número de individuos que emergen o vuelan registrados cada 2 min durante el experimento se corrigieron para expresarlos respecto al número de individuos vivos presentes en el acuario en cada momento, es decir, teniendo en cuenta los vuelos e individuos muertos acumulados a lo largo del experimento. La frecuencia de emersión durante los 30 min de duración de cada tratamiento, y el número total de vuelos producidos en cada tratamiento se obtuvieron sumando los valores corregidos obtenidos a intervalos de 2 minutos.

Para testar los efectos de las variables temperatura, salinidad y su interacción y las diferencias de respuesta entre las especies se realizaron análisis ANOVA univariantes multifactoriales para cada variable respuesta, especie por especie (incluyendo la temperatura y salinidad como factores fijos) y por pares de especies (agrupadas por género o por hábitat), incluyendo en este caso también la especie como factor.

Se calcularon los estadísticos descriptivos (media y desviación típica) para cada variable, por tratamiento de temperatura, salinidad, y para las interacciones.

Para comprobar el cumplimiento de los requisitos del ANOVA, se testó la homocedasticidad mediante el test de Levene y la normalidad de residuos, analizando los residuos no tipificados con la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Para los factores que tuvieron un efecto significativo, se realizaron pruebas post-hoc para detectar diferencias entre los distintos tratamientos. En este caso se utilizó el test de Bonferroni, más conservativo, para compensar el hecho de que en algunos de los análisis no se cumplieron los requisitos de homocedasticidad ni normalidad de residuos. Por este mismo motivo, para determinar diferencias entre tratamientos en las pruebas post-hoc el nivel de significación se redujo de 0,05 a un nivel más restrictivo, de 0,01. Los análisis estadísticos de los datos se realizaron con el programa SPSS 15.0 para Windows.

4.- RESULTADOS

4.1.- Tolerancia a la temperatura y salinidad

4.1.1- MORTALIDAD

La mortalidad se vio afectada significativamente ($p \leq 0,01$) por la temperatura en todas las especies, pero la salinidad no tuvo efecto significativo.

Para todas las especies, la mortalidad fue nula o muy baja a 20°C, 36°C y 39°C, no existiendo diferencias significativas entre dichos tratamientos. En cambio el tratamiento de 44°C se diferenció notablemente del resto, registrándose las mortalidades más altas a esta temperatura (Figuras 3 y 4). Pese a no encontrar diferencias claras en la mortalidad final para el tratamiento de 44 °C, los datos dinámicos de mortalidad muestran que la respuesta fue más rápida en las especies del género *Nebrioporus* que en las del género *Enochrus*, (Figura 5) siendo estas últimas más resistentes en exposiciones cortas a dicha temperatura.

No se encontraron diferencias significativas en la mortalidad entre especies del mismo género ni del mismo hábitat, sin embargo los valores más bajos de mortalidad a 44 °C fueron registrados en la especie *E. bicolor*, no habiendo diferencias apreciables para el resto de especies.

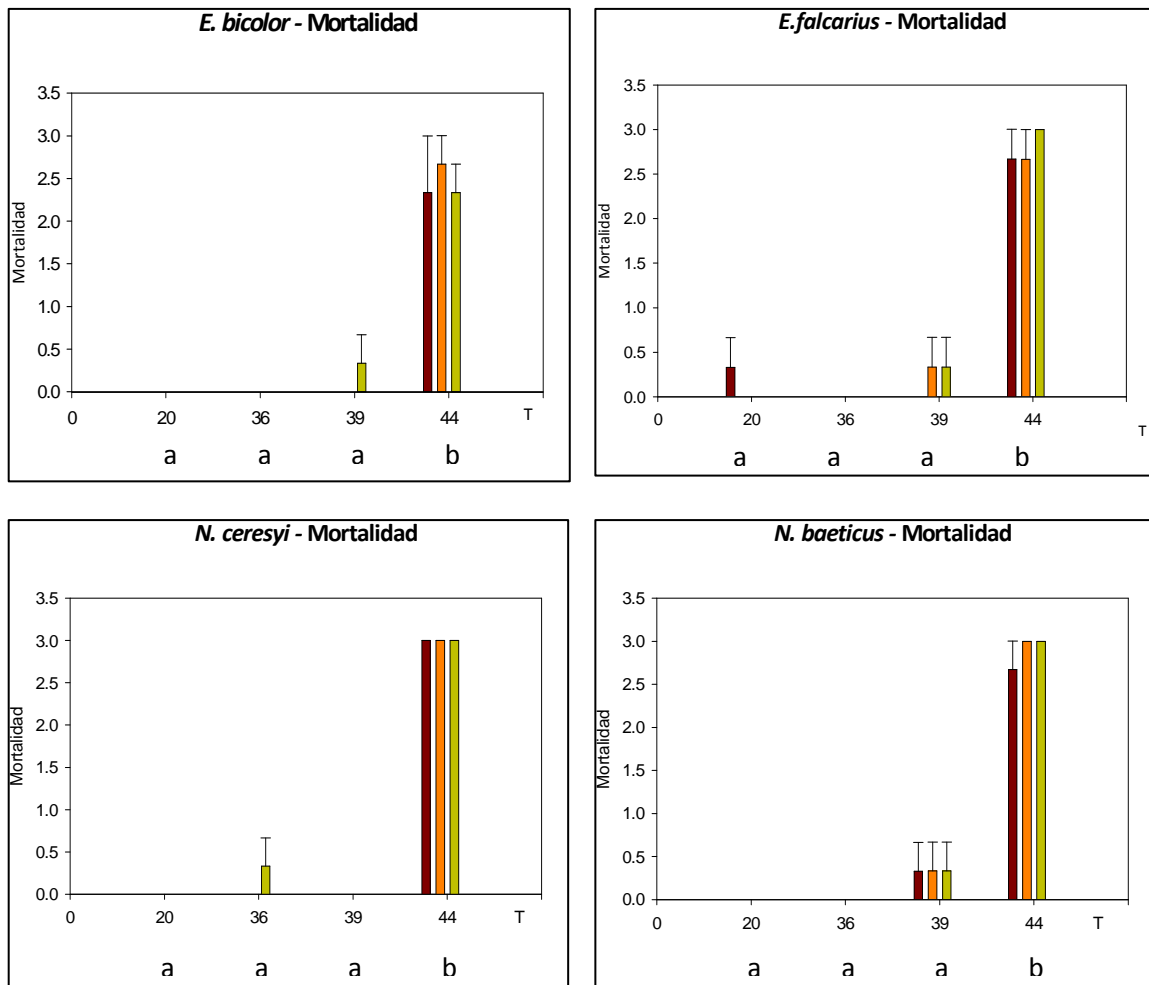
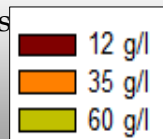


Figura 3. Mortalidad media \pm ES para los diferentes tratamientos de temperatura y salinidad para las cuatro especies estudiadas

Los grupos de tratamientos de temperatura (designados con letras) han sido establecidos según el test post hoc de Bonferroni ($p \leq 0,01$).



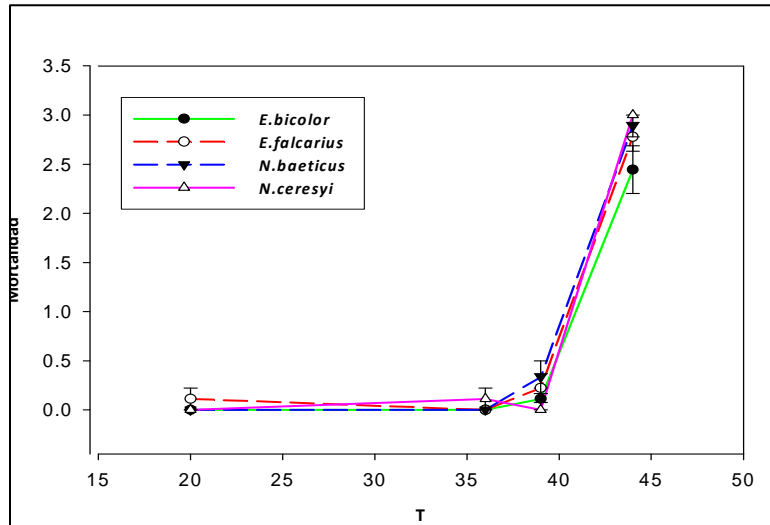


Figura 4. Mortalidad media \pm ES para los diferentes tratamientos de temperatura de las cuatro especies estudiadas.

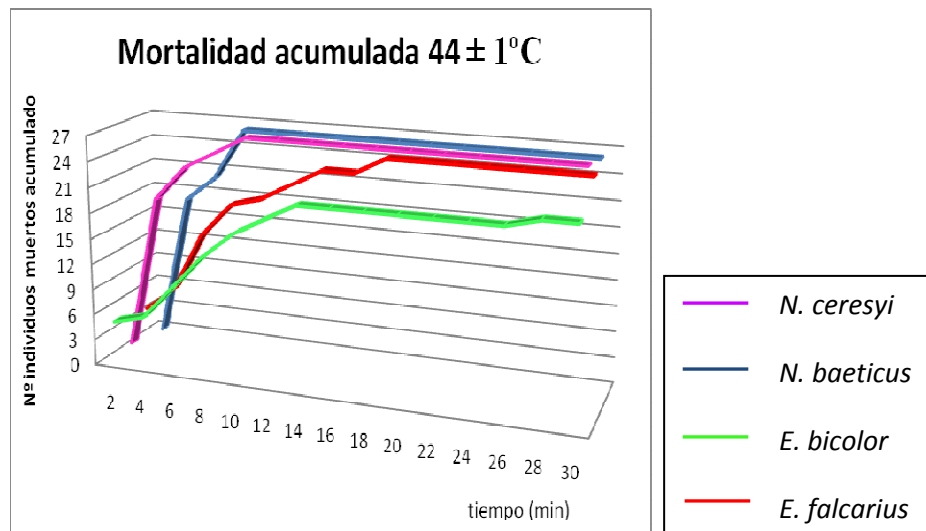


Figura 5. Mortalidad acumulada en el tratamiento de $44 \pm 1^\circ\text{C}$

4.2- Respuesta de huida frente al estrés ambiental

4.2.1- EMERSIÓN

Para las cuatro especies el único factor que tuvo efectos significativos sobre la variable emersión fue la temperatura (*E. bicolor*, $p = 0,000$; *E. falcarius*, $p = 0,001$; *N. ceresyi*, $p = 0,000$; *N. baeticus*, $p = 0,005$).

En todos los casos la máxima emersión correspondió al tratamiento de 39°C, siendo en este tratamiento *E. bicolor* la especie con mayores valores (13,8), seguida por *E. falcarius* (10,3), *N. ceresyi* (11,6), y *N. baeticus* (7,7); y los valores mínimos se dieron en el tratamiento de 44°C (Figura 6). Para las cuatro especies se observó una clara tendencia de incremento en la respuesta de emersión paralela a la temperatura de exposición, que se ve truncada en todos los casos en el tratamiento de 44 °C.

E. bicolor y *E. falcarius*, mostraron un patrón de respuesta similar, encontrándose diferencias significativas ($p \leq 0,01$) entre los tratamientos de 39°C y 44°C, correspondientes con los valores máximo y mínimo. Así mismo, la tendencia ascendente de la respuesta de emersión queda reflejada en ambas especies ($p \leq 0,05$) para los tratamientos de 20, 36 y 39°C (Figura 6). La magnitud de la respuesta por el contrario, presentó diferencias significativas entre las especies de *Enochrus* ($p = 0,011$), siendo la frecuencia de emersión de *E. bicolor* superior a la de *E. falcarius* en prácticamente la totalidad de tratamientos (Figura 6) y en los valores medios (4,0 y 3,5, respectivamente) (Figura 7).

N. baeticus y *N. ceresyi* mostraron el mismo patrón de emersión observado para las especies de *Enochrus*. Dentro del género *Nebrioporus* no se encontraron diferencias significativas entre las dos especies en la respuesta de emersión (Figura 6), aunque los valores medios fueron mayores en *N. ceresyi* que en *N. baeticus* (Figura 7).

Para las especies lólicas, el factor especie y la temperatura fueron significativos ($p = 0,005$ y $p = 0,000$, respectivamente), siendo la respuesta mayor en *E. falcarius* que en *N. baeticus*, aunque el patrón de respuesta fue muy similar (Figura 8). Para las especies leníticas fueron significativos los efectos de la temperatura ($p = 0,000$), especie ($p = 0,000$) y la interacción entre ambos factores (Sp^*T , $p = 0,045$), mostrando las especies una respuesta diferente en el tratamiento de 20 °C (Figura 8).

En ambos casos, las especies correspondientes al género *Enochrus* mostraron una mayor magnitud de respuesta que las del género *Nebrioporus*.

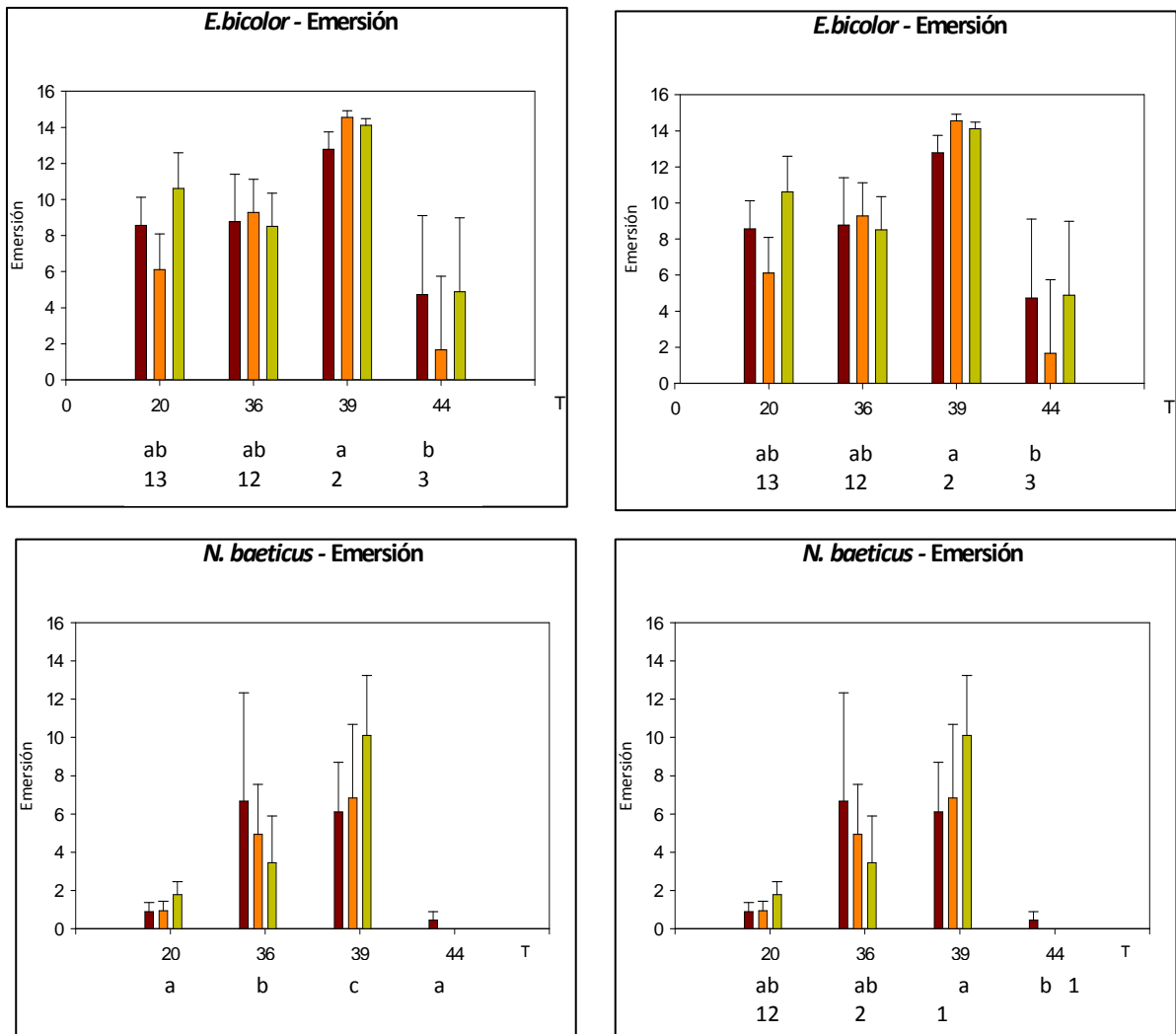
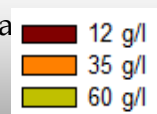


Figura 6. Emersión media \pm ES para los diferentes tratamientos de temperatura y salinidad para las cuatro especies estudiada

Los grupos de tratamientos de temperatura han sido establecidos según el test post hoc

de Bonferroni ($p \leq 0,01$ en letras, $p \leq 0,05$ en números).



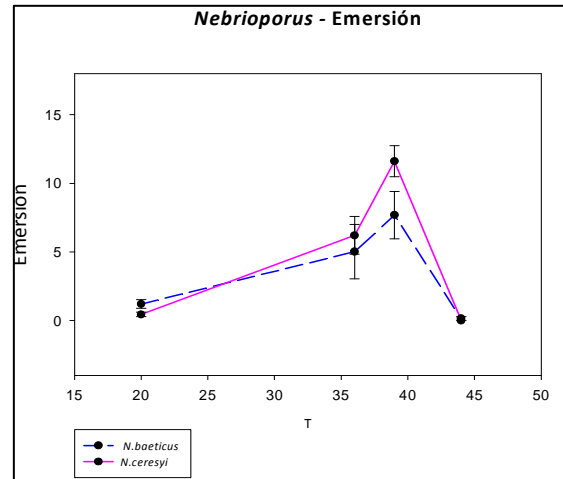
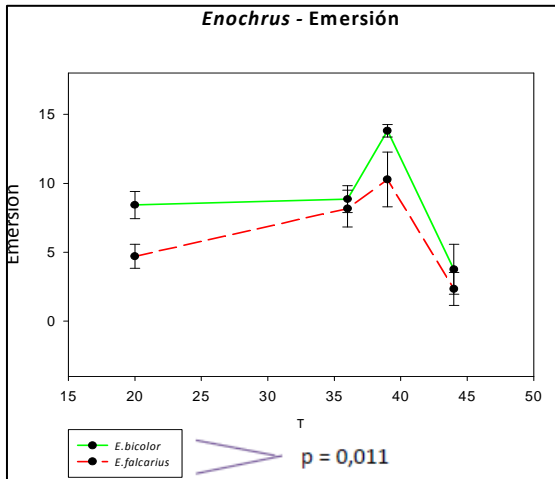


Figura 7. Emersión media \pm ES para los diferentes tratamientos de temperatura. Comparación entre especies de cada género.

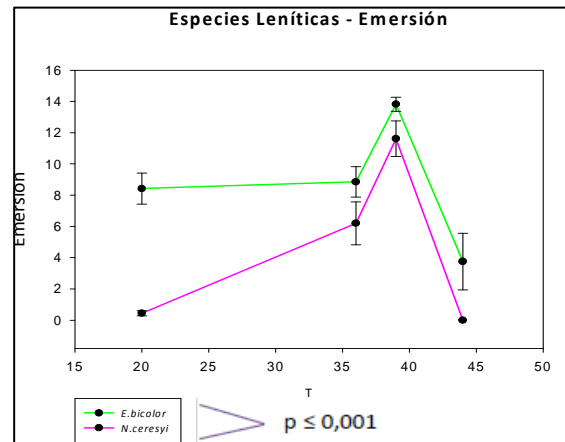
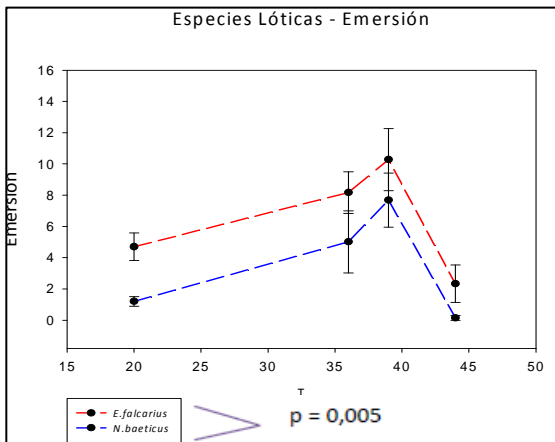


Figura 8. Emersión media \pm ES para los diferentes tratamientos de temperatura. Comparación entre especies de cada hábitat.

4.2.2- VUELO

No hubo grandes diferencias de magnitud en la respuesta de vuelo de las cuatro especies estudiadas, aunque fue mayor en *N. baeticus* y *E. bicolor* que en *N. ceresyi* y *E. falcarius* (Figura 9). La máxima respuesta de vuelo en las cuatro especies se dio en el tratamiento de 36°C, y los valores más bajos en los tratamientos de 20°C y 44°C.

Para *E. bicolor* y *N. baeticus* la temperatura tuvo efecto significativo sobre el vuelo ($p = 0,031$ y $p = 0,000$, respectivamente). En *E. falcarius* y *N. ceresyi* la respuesta de vuelo fue muy baja (Figura 9) y no se vio afectada por ninguno de los factores estudiados.

En el caso de *E. bicolor* el vuelo fue significativamente mayor ($p \leq 0,05$) a 36°C (1,2) y menor a 44°C (0,2) (Figura 9). En cuanto a *N. baeticus*, se diferencian significativamente ($p \leq 0,01$) dos grupos de tratamientos: por un lado los de 20°C y 44°C, con el mínimo número medio de vuelos (0,2 y 0,0, respectivamente), y por otro los de 36°C y 39°C, con el máximo número de vuelos (1,2 y 1,1, respectivamente) (Figura 9).

En el género *Enochrus* el vuelo se vio afectado significativamente por la temperatura ($p = 0,005$) y también se encontraron diferencias entre especies ($p = 0,000$). El número medio de vuelos fue algo mayor en *E. bicolor* que en *E. falcarius* (0,7 frente a 0,4), aunque su patrón de variación con respecto a la temperatura fue muy similar (Figura 10).

Para el género *Nebrioporus* además del efecto significativo de la temperatura, se encontraron efectos del factor especie y de la interacción de Sp*T ($p = 0,000$). El número medio de vuelos para *N. baeticus* (0,6) fue superior que la de *N. ceresyi* (0,3), siendo significativamente mayor en los tratamientos de 36°C y 39°C (Figura 10).

Para las especies lólicas, los factores temperatura, especie y la interacción entre ambos fueron significativos ($p \leq 0,01$), encontrándose diferencias entre especies en los tratamientos de 36°C y 39°C (Figura 11). En el caso de las especies leníticas, también se encontraron efectos significativos de la temperatura ($p = 0,006$) y diferencias entre especies ($p = 0,000$), aunque no de la interacción entre ambos factores.

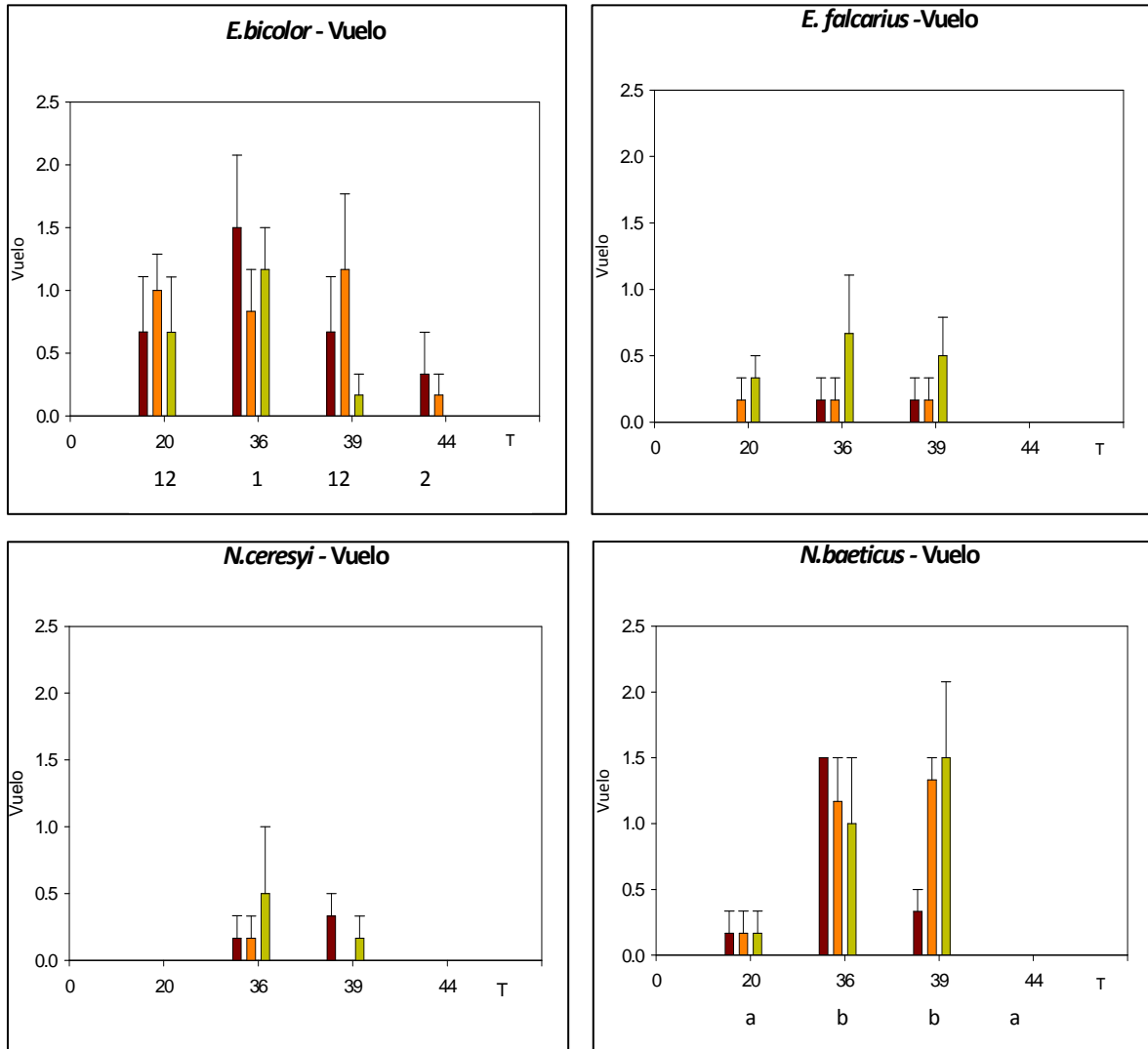
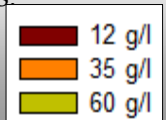


Figura 9. Número medio de vuelos \pm ES para los diferentes tratamientos de temperatura y salinidad para las cuatro especies estudiadas.

Los grupos de tratamientos de temperatura han sido establecidos según el test post hoc de

Bonferroni ($p \leq 0,01$ en letras, $p \leq 0,05$ en números).



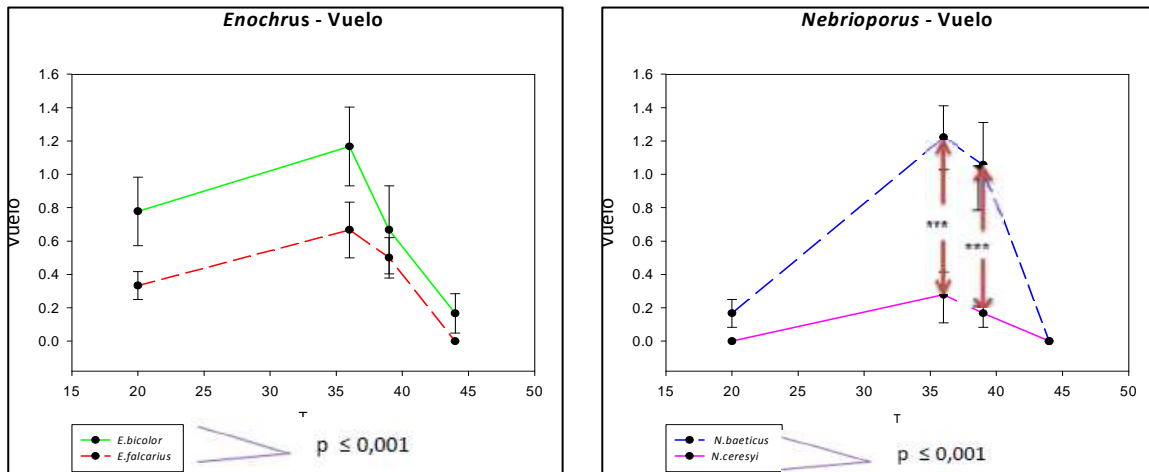


Figura 10. Número medio de vuelos \pm ES para los diferentes tratamientos de temperatura. Comparación entre especies de cada género.

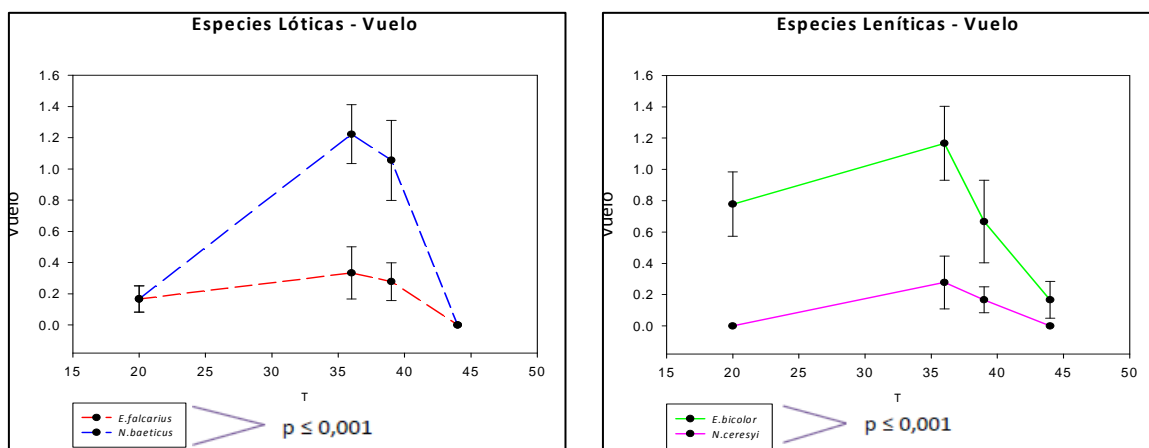


Figura 11. Número medio de vuelos \pm ES para los diferentes tratamientos de temperatura. Comparación entre especies de cada hábitat.

4.2.3- EMERSIÓN + VUELO

Considerando conjuntamente las variables emersión y vuelo, al igual que ocurre con la variable emersión, los valores máximos se dieron en el tratamiento de 39°C y los mínimos en el de 44°C para todas las especies estudiadas, teniendo la temperatura un efecto significativo ($p \leq 0,01$). La adición de los datos correspondientes al vuelo no hace sino reforzar los patrones observados para la emersión, mostrando el incremento en la respuesta con la temperatura, y su ausencia en el tratamiento de 44°C. (Figuras 12 y 13). De igual modo, la mayor magnitud de la respuesta de huida de *E. bicolor* y *N. ceresyi* queda patente (Figuras 12 y 13).

Para las especies de *Enochrus* se encontraron diferencias de magnitud de la respuesta entre las dos especies ($p = 0,003$), mientras que para las especies de *Nebrioporus* solo tuvo significación la temperatura ($p = 0,000$).

La comparación entre especies lólicas y entre especies leníticas mostró los mismos resultados que para la variable respuesta emersión (Figura 14), encontrándose diferencias significativas ($p \leq 0,01$) entre especies del mismo tipo de hábitat.

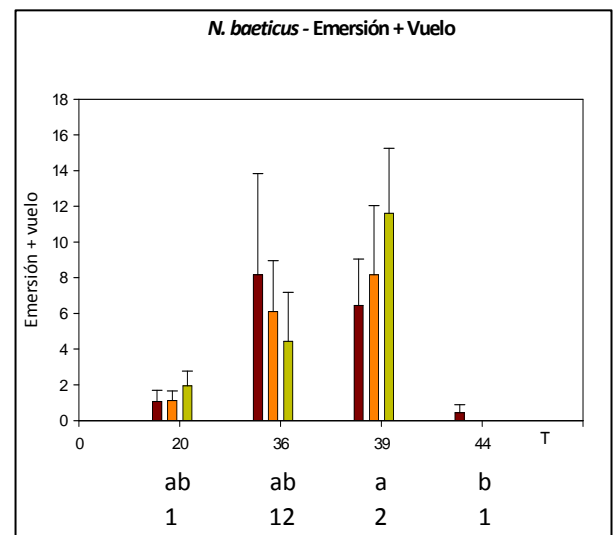
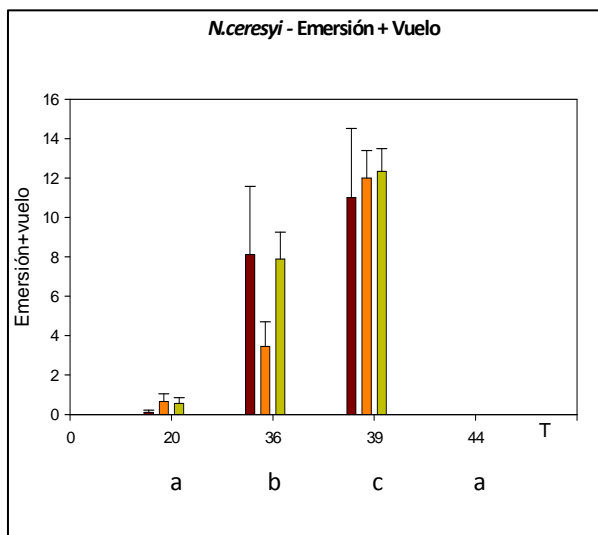
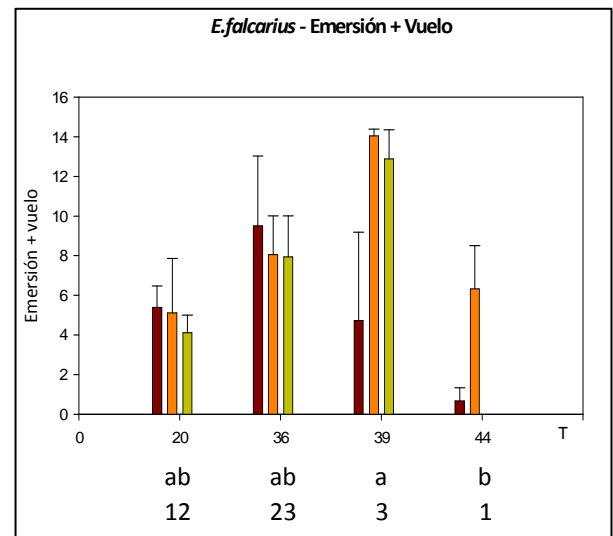
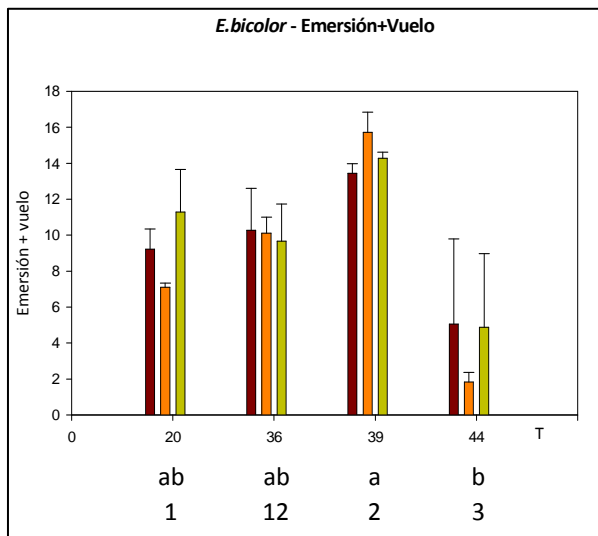
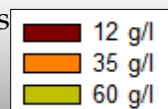


Figura 12. Emersión + vuelo \pm ES para los diferentes tratamientos de temperatura y salinidad para las cuatro especies estudiadas

Los grupos de tratamientos de temperatura han sido establecidos según el test post hoc de

Bonferroni ($p \leq 0,01$ en letras, $p \leq 0,05$ en números).



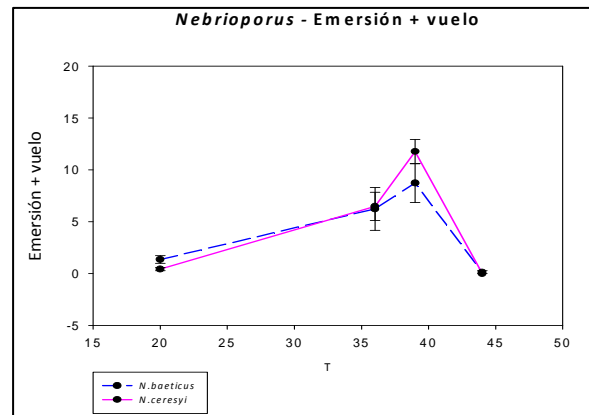
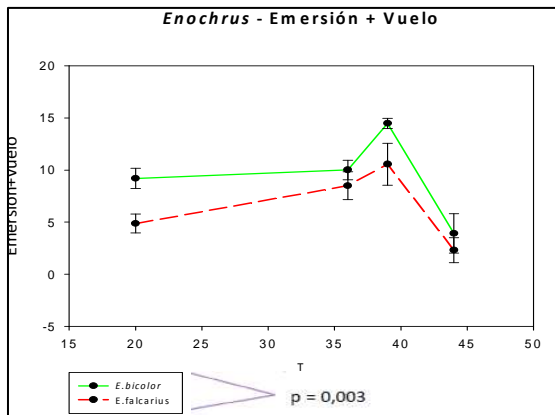


Figura 13. Frecuencia media de dispersión (Emersión + Vuelo) ± ES para los diferentes tratamientos de temperatura. Comparación entre especies de cada género.

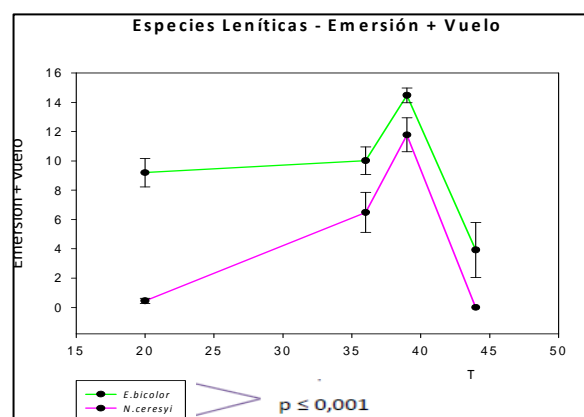
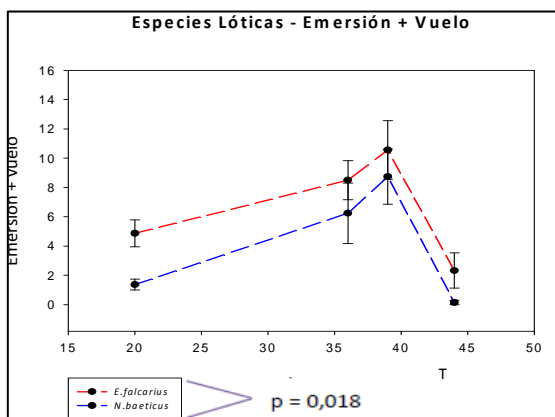


Figura 14. Frecuencia media de dispersión (Emersión + Vuelo) ± ES para los diferentes tratamientos de temperatura. Comparación entre especies de cada hábitat.

5.- DISCUSIÓN

La determinación de los límites letales de exposición corta frente a un factor ambiental para cada especie ofrece no sólo una información valiosa sobre la biología de estas especies, sino una herramienta para determinar su amplitud de nicho relativa y ahondar en aspectos de su ecología, biogeografía y evolución.

En el presente trabajo, la mortalidad ofrece una medida general de la tolerancia de cada especie ante los condicionantes estudiados. Los resultados obtenidos nos permiten situar en el rango de 40 a 44 °C el límite letal de exposición corta a la temperatura para las cuatro especies salinas estudiadas. Dichos valores son acordes con los encontrados para otros insectos (Calosi *et al.*, 2008a y b; Sánchez-Fernández *et al.*, 2010). Todas las especies murieron a 44 °C, aunque algunas diferencias entre géneros se detectaron durante los 30 minutos de exposición a dicha temperatura. Así, los individuos del género *Nebrioporus* morían instantáneamente, mientras que los del género *Enochrus* fueron más resistentes, sobreviviendo algunos individuos de *E. bicolor*. Dichos resultados están en concordancia con las diferencias en los límites letales máximos encontradas entre los géneros (Sánchez-Fernández *et al.* 2010, Arribas *et al.* en preparación), mayores en *Enochrus* que en *Nebrioporus*. Las diferencias podrían ser debidas al tipo de microhábitat que ocupa cada género. Mientras que ambas especies de *Nebrioporus* son nadadoras y ocupan la columna de agua donde los cambios de temperatura son menores, las especies de *Enochrus*, prefieren zonas someras en la orilla, donde los cambios de temperatura son más pronunciados.

Los resultados obtenidos de tolerancia térmica están por debajo de los límites letales obtenidos para estas mismas especies en experiencias de calentamiento y enfriamiento dinámico en seco (Sánchez-Fernández *et al.* 2010, Arribas *et al.* en preparación), pero al igual que en nuestro estudio, las diferencias entre las especies fueron muy pequeñas. Por tanto, la tolerancia térmica no parece explicar los divergentes patrones biogeográficos que muestran las especies de *Enochrus* y *Nebrioporus*. Los resultados obtenidos, por tanto, no parecen acordes con la hipótesis de Brown (Brown, 1984; Brown y McLachlan, 1994), al contrario de lo que ocurre con otras especies de Coleópteros acuáticos de agua dulce (Calosi *et al.*, 2008b).

La baja mortalidad observada a 39 °C, similar a las encontradas en los tratamientos de temperatura inferior, nos informa de la alta capacidad de estas especies para tolerar incrementos de temperatura en el medio. Cabe resaltar sin embargo, que los límites letales que nos muestran las cuatro especies salinas se podrían llegar a alcanzar en futuros escenarios de cambio global en el área Mediterránea (Bonada *et al.*, 2007).

Por otro lado, este estudio no detectó ninguna respuesta letal en el rango de salinidades testado. En un tiempo de exposición corto (30 min) el efecto del shock térmico fue mucho más importante que el shock osmótico. La falta de efecto asociado a la salinidad podría deberse a que mientras las temperaturas máximas (39 °C y 44 °C) a las que fueron sometidos los individuos eran cercanas a los límites críticos y letales de las especies, los

tratamientos de salinidad se encontraban dentro del rango de variación natural de los medios donde habitan comúnmente estas especies, llegando a colonizar, con cierta asiduidad, hábitat con salinidades claramente superiores a los 60 g/l (Velasco *et al.*, 2006; Abellán *et al.*, 2009; Millán *et al.*, en prensa).

En diferentes estudios se ha demostrado que la salinidad influye sobre la fisiología térmica en algunos organismos marinos (e.g Kir y Kumlu, 2008, Rajagopal *et al.*, 2005; Sardella *et al.*, 2008a,b). Recientemente se ha analizado esta interacción en ambos géneros de Coleópteros (Sánchez-Fernández *et al.*, 2010; Arribas *et al.*, en preparación), encontrándose que individuos de *N. baeticus*, *N. ceresyi* y *E. falcarius*, aclimatados a salinidades y temperaturas altas, presentaron mayor tolerancia térmica (mayores UTLs) como consecuencia de un efecto sinérgico de la salinidad. En este sentido, la salinidad parece ejercer un efecto sobre la fisiología térmica de los organismos sólo a través de exposiciones crónicas, al menos para el rango testado.

La respuesta de huida frente al estrés ambiental se manifestó fundamentalmente mediante la emersión, siendo la respuesta de vuelo aleatoria y de baja magnitud. El patrón de respuesta de emersión fue similar para las especies de *Enochrus* y *Nebrioporus*, incrementándose con la temperatura hasta un valor crítico de 39 °C, donde se registró el máximo de emersión, y un declive severo a 44 °C, límite letal. En cuanto al vuelo, aunque no se encontró un patrón tan claro, la respuesta máxima se dio a temperaturas inferiores (36°C). Temperaturas próximas a los límites letales parecen tener un efecto tan severo en la fisiología de los individuos que son incapaces de desencadenar una respuesta inmediata de huida. En este sentido, también otros estudios han encontrado respuestas similares, como en el caso de *Graptocorixa serrulata* (Hemiptera, Corixidae), con una máxima actividad de vuelo a 36 °C y un límite letal de 40 °C (Velasco y Millán, 1998).

Entre las especies hermanas de cada género se encontraron diferencias en la magnitud de la respuesta de huida, que pueden estar relacionadas con el tipo de hábitat que ocupan. *E. bicolor* y *N. ceresyi*, las especies que ocupan hábitat leníticos, más inestables geológica y ecológicamente, presentaron una mayor capacidad de huir (emersión + vuelo) ante condiciones adversas que sus respectivas especies hermanas, *E. falcarius* y *N. baeticus*, de hábitat lóticos mas estables. Dichos resultados están de acuerdo con la hipótesis de *Aquatic Habitat Constraint* (Ribera, 2008). El comportamiento de escape podría haber sido seleccionado generación tras generación en las especies leníticas por estar sometidas a una mayor variabilidad ambiental de sus hábitat que las especies lóticas. El comportamiento de huida más activo de las especies leníticas (*E. bicolor*, y *N. ceresyi*) les habría posibilitado expandir más su rango geográfico que las especies lóticas (*E. falcarius* y *N. baeticus*).

Por tanto, de acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, las especies más vulnerables ante los cambios ambientales en sus hábitat inducidos por el cambio climático y las actividades antrópicas serían *E. falcarius* y *N. baeticus*, las especies lóticas. Dichas especies presentan, además de una distribución restringida, una menor tendencia a la dispersión lo que las hace aún más susceptibles, acentuándose su estado de especies vulnerables ya reconocido en parte por Sánchez-Fernández *et al.*, (2008).

6.- CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio han aportado información significativa sobre la fisiología de cuatro especies hasta ahora poco conocidas a pesar de su alta singularidad, y nos han permitido arrojar predicciones sobre la vulnerabilidad de dichas especies ante los cambios en sus hábitats derivados del calentamiento global y las actividades humanas. Sería interesante seguir trabajando en esta línea para obtener una información completa que permita ampliar el conocimiento sobre la ecología, evolución y patrones biogeográficos de estas especies, y entender mejor los mecanismos que posibilitan a los organismos vivir en unos medios de condiciones tan extremas como son los ecosistemas acuáticos salinos.

Como síntesis, podemos destacar las siguientes conclusiones:

- 1) La temperatura tuvo un efecto significativo en todas las respuestas estudiadas, encontrándose valores críticos de temperatura en los que las respuestas fueron máximas (39 °C para la emersión y 36 °C para el vuelo) y límites letales a 44 °C.
- 2) La salinidad no tuvo efecto significativo en ninguna respuesta.
- 3) La tolerancia térmica no parece estar correlacionada con los divergentes patrones biogeográficos que muestran las especies de *Enochrus* y *Nebrioporus*.
- 4) En todas las especies, la respuesta de huida aumenta con la temperatura hasta una temperatura crítica de 39 °C, donde se registra el máximo, y disminuye a 44 °C, límite letal.
- 5) Las especies leníticas (*E. bicolor* y *N. ceresyi*) presentaron mayor capacidad de escape que las especies lólicas (*E. falcarius* y *N. baeticus*), posibilitando una mayor expansión de sus rangos geográficos.
- 6) A pesar de su excepcional tolerancia a las altas temperaturas, *E. falcarius* y *N. baeticus*, especies con distribución restringida y con una menor tendencia a la dispersión podrían verse afectadas por los cambios inducidos por el calentamiento global y las actividades antrópicas.

7.- AGRADECIMIENTOS

El estudio ha sido realizado gracias a la financiación de los proyectos de investigación CGL2006-04159 y 023/200 y a una beca de iniciación a la investigación de la Universidad de Murcia a S. Pallarés. Mención especial al convenio entre la Universidad de Murcia y la asociación CONAMA10, que ha permitido la presentación de la presente comunicación.

8.- BIBLIOGRAFÍA

Abellán, P.; Gómez-Zurita, J.; Millán, A.; Sánchez-Fernández, D.; Velasco, J.; Galián, J. y Ribera, I. 2007. Conservation genetics in hypersaline inland waters: mitochondrial diversity and phylogeography of an endangered Iberian beetle (Coleoptera: Hydraenidae). *Conservation Genetics*, 8 (1): 79-88.

Abellán, P.; Millán, A. y Ribera, I. 2009. Parallel habitat-driven differences in the phylogeographical structure of two independent lineages of Mediterranean saline water beetles. *Molecular Ecology*, 18: 3885-3902.

Bilton, D.T.; Freeland, J.R. y Okamura, B. 2001. Dispersal in freshwater invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32: 159-81.

Bonada, N.; Dolédec, S. y Statzner, B. 2007. Taxonomic and biological trait differences of stream macroinvertebrate communities between mediterranean and temperate regions: implications for future climatic scenarios. *Global Change Biology*, 13(8): 1658-1671.

Brown, J.H. 1984. On the relationship between abundance and distribution of species. *The American Naturalist*. 255-279.

Brown, M.T. y Mclachlan, A. 1994. *Ecology of sandy shores*. Elsevier, Amsterdam.

Calosi, P.; Bilton, D.T. y Spicer, J.I. 2008a. Thermal tolerance, acclimatory capacity and vulnerability to global climate change. *Biology Letters*, 4: 99–102.

Calosi P.; Bilton D.T.; Spicer J.I.; Atfield, A. 2008b. Thermal tolerance and geographic range size in the *Agabus brunneus* group of European diving beetles (Coleoptera: Dytiscidae). *Journal of Biogeography*, 35: 295-305.

Calosi, P.; Bilton, D.T.; Spicer, J.I. *et al.* 2010. What determines a species' geographical range? Thermal biology and latitudinal range size relationships in European diving beetles (Coleoptera: Dytiscidae). *Journal of Animal Ecology*, 79: 194–204.

Christian, K.A. y Morton, S.R. 1992. Extreme thermophilia in a Central Australian ant, *Melophorus bagoti*. *Physiological Zoology*, 65: 885–905.

Davis, M.B. y Shaw, R.G. 2001. Range shifts and adaptive responses to Quaternary climate change. *Science*, 292: 673–679.

Fery, H.; Fresneda, J. y Millán, A. 1996. Bemerkungen zur *Nebrioporus ceresyi*-Gruppe sowie Beschreibung von *Nebrioporus schoedli* n. sp. (Coleoptera: Dytiscidae). *Entomologische Zeitschrift*, 106, 306–328.

Gaston, K.J. 1994. *Rarity*. Chapman y Hall, London.

Gaston, K.J. 2003. *The Structure and Dynamics of Geographic Ranges*. Oxford University Press, U.K.

Gaston, K.J. y Spicer, J.I. 2001. The relationship between range size and niche breadth: a test using five species of *Gammarus* (Amphipoda). *Global Ecology and Biogeography*, 10: 179-188.

Hansen, M. 2004. Hydrophilidae. En: Löbl I. y Smetana A. (Eds). *Catalogue of Palaearctic Coleoptera. Vol.2. Hydrophiloidea-Histeroidea-Staphylinoidea*: 44-67. Apollo Books, Copenhagen.

Hof, C.; Brandle, M. y Brandl, R. 2006. Lentic odonates have larger and more northern ranges than lotic species. *Journal of Biogeography*, 33: 63-70.

Iversen, J. 1994. *Viscus, Hedera* and *Ilex* as climate indicators. *Geologiska Foreningens*, 66: 463-483.

Kearney, M.; Shine, R. y Porter, W.P. 2009. The potential for behavioral thermoregulation to buffer 'cold-blooded' animals against climate warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106: 3835–3840.

Kir, M. y Kumlu, M. 2008. Effect of temperature and salinity on low thermal tolerance of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae). *Aquaculture Research*, 39: 1101–1106.

Marten, A.; Brändle, M. y Brandl, R. 2006. Habitat type predicts genetic population differentiation in freshwater invertebrates. *Molecular Ecology*, 15: 2643–2651.

Millán, A.; Velasco, J.; Gutiérrez-Cánovas, C.; Arribas, P.; Picazo, F.; Sánchez-Fernández, D. y Abellán, P. Mediterranean saline streams in southeast Spain: what do we know about them?. *Journal of Arid Environments*. (En prensa).

Moreno, J.L.; Angeler, D.J. y De las Heras, J. 2010. Seasonal dynamics of macroinvertebrate communities in a semiarid saline spring stream with contrasting environmental conditions. *Aquatic Ecology*, 44 (1): 177-193.

Moreno, J.L.; Millán, A.; Suárez, M.L.; Vidal-Abarca, M.R. y Velasco, J. 1997. Aquatic Coleoptera and Heteroptera assemblages in waterbodies from ephemeral coastal streams ("ramblas") of South-Eastern Spain. *Archiv für Hydrobiologie*, 141: 93-107.

- Rajagopal, S.; van der Velde, G.; van der Velde, M. y Jenner, H.A. 2005. Factors influencing the upper temperature tolerances of three mussel species in a brackish water canal: size, season and laboratory protocols. *Biofouling*, 21: 87–97.
- Reaka, M.L. 1980. Geographic Range, Life-History Patterns, and Body Size in a Guild of Coral-Dwelling Mantis Shrimps. *Evolution*, 34: 1019-1030.
- Ribera, I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, 92: 131-150.
- Ribera, I. 2008. Habitat constraints and the generation of diversity in freshwater macroinvertebrates. En Lancaster J. y Briers R.A. (Eds). *Aquatic Insects: Challenges to Populations*, 289-311. CAB International Publishing, Wallingford, UK.
- Ribera, I.; Foster, G.N. y Vogler, A.P. 2003. Does habitat use explain large scale species richness patterns of aquatic beetles in Europe? *Ecography*, 26: 145-152.
- Ribera, I. y Vogler, A.P. 2000. Habitat type as a determinant of species range sizes: the example of lotic-lentic differences in aquatic Coleoptera. *Biological Journal of the Linnean Society*, 71: 33-52.
- Root, T.L. 1988. Environmental factors associated with avian distributional boundaries. *Journal of Biogeography*, 15: 489-505.
- Rundle, S.D.; Bilton, D.T. y Foggo, A. 2007. By wind, wings or water: body size, dispersal and range size in aquatic invertebrates. En Hildrew, A.G.; Raffaelli, D.G. y Edmonds-Brown R. (Eds). *Body Size: The Structure and Function of Aquatic Ecosystems*, 186-209. Cambridge University Press, Cambridge.
- Rundle S.D.; Bilton D.T.; Shiozawa D.K. y Galassi D. 2002. The Geographical Ecology of Freshwater Meiofauna. En: Rundle, S.D.; Robertson, A. y Schmid-Araya, J.M. (Eds.) *Freshwater Meiofauna: Biology and Ecology*. Backhuys, Leiden.
- Sánchez-Fernández, D.; Bilton, D.T.; Abellán, P. *et al.* 2008. Are the endemic water beetles of the Iberian Peninsula and the Balearic Islands effectively protected? *Biological Conservation*, 141: 1612–1627.
- Sánchez-Fernández, D.; Calosi, P.; Atfield, A.; Arribas, P.; Velasco, J.; Spicer, J.I.; Millán, A. y Bilton, D.T. 2010. Reduced salinities compromise the thermal tolerance of hypersaline specialist diving beetles. *Physiological Entomology*, 35: 265-273.
- Sardella, B.A.; Kultz, D.; Cech, J.J. y Brauner, C.J. 2008a. Salinity-dependent changes in Na⁺/K⁺-ATPase content of mitochondria-rich cells contribute to differences in thermal tolerance. *Journal of Comparative Physiology B— Biochemical Systematic and Environmental Physiology*, 178: 249–256.
- Sardella, B.A.; Sanmarti, E. y Kultz, D. 2008b. The acute temperature tolerance of green sturgeon (*Acipenser medirostris*) and the effect of environmental salinity. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 309: 477–483.

Schodl, S. 1998. Taxonomic revision of *Enochrus* (Coleoptera:Hydrophilidae) I. The *E.bicolor* species complex. *Entomological Problems*, 29: 111-127.

Stanley, S. y Parsons, P.A. 1984. The response of the cosmopolitan species *Drosophila melanogaster* to ecological gradients. *Proceedings of the ecological society of Australia*, 11: 121-130.

Velasco, J. y Millán, A. 1998. Insect dispersal in a drying desert stream: effect temperatura and wáter loss. *The Southwestern Naturalist*, 43 (1): 80-87.

Velasco, J.; Millán, A.; Hernández, J.; Gutiérrez, C.; Sánchez, D.; Abellán, P. y Ruiz, M. 2006. Response of biotic communities to salinity changes in a Mediterranean hypersaline stream. *Saline Systems*, 12 (2): 1-15.