



Departamento de Ecología e Hidrología
Facultad de Biología
Universidad de Murcia

Conservación de la biodiversidad acuática en el Sureste Ibérico: métodos y estrategias a partir de inventarios de coleópteros acuáticos

Conservation of freshwater biodiversity in southeastern Spain: methods and approaches from water beetle data



Tesis doctoral

Pedro Abellán Ródenas

2006



Departamento de Ecología e Hidrología
Facultad de Biología
Universidad de Murcia

**Conservación de la biodiversidad acuática en el
Sureste Ibérico: métodos y estrategias a partir de
inventarios de coleópteros acuáticos**

**Conservation of freshwater biodiversity in
southeastern Spain: methods and approaches
from water beetle data**

Memoria presentada para optar al grado
de doctor en Biología por el licenciado

Pedro Abellán Ródenas
2006

A muchos parece pueril haya quien se ocupe de coger y coleccionar insectos, y preguntan con aire de desprecio “¿Para qué sirve eso?” ¡Pueril lo que eleva y dirige el espíritu a Dios! Dejando aparte cuán útil sea a la ciencia, a la agricultura y a la industria el conocer la estructura, forma y costumbres de los seres vivientes que pueblan el mundo, sirve su estudio de un modo particular para que los jóvenes empleen su tiempo en algo provechoso y no pierdan sus mejores años en los frívolos y peligrosos pasatiempos que debilitan y enervan la más fuerte complexión.

Don Miguel Cuní y Martorel. 1885. Excursión entomológica a varias localidades de la provincia de Gerona (Cataluña). *Am. Soc. Hist. Nat.* 14, pp 51-69.

A mis padres

Agradecimientos

Una tesis da para mucho, y por eso son muchas las personas que, de una u otra forma, hicieron posible su desarrollo o que colaboraron en él. De entre todas ellas, no puedo dejar de mencionar a algunas:

A mi familia, especialmente mis padres, por su apoyo constante e imprescindible. Su soporte económico, siempre incondicional, fue decisivo además en aquellos años en los que pasaban de largo todas las becas. Pero sobre todo, por haber sabido contagiarme su amor por la Naturaleza.

A mis directores Pepa y Andrés, por todos estos años de investigación y amistad, primero como alumno interno, después con la tesina y los últimos años con la tesis. Gracias por la confianza depositada, por haber estado siempre ahí y por ser antes que directores amigos. Muchas gracias también a Ignacio Ribera, que, aunque se incorporó más tarde a la dirección de esta tesis, su ayuda y disposición a resolver dudas y a hacer valiosas sugerencias, ha sido inestimable.

A Narci, por su apoyo y ánimo constantes, y también por su paciencia mientras esta tesis nos robaba horas de pasar juntos.

A David, amigo y compañero del alma, porque esta tesis es mitad suya; porque han sido muchas las horas que hemos compartido, de bases de datos, de muestreos, de precariedad y de risas. Y por supuesto, a Carlos, Pepe y Miguel, por su amistad, y también por su ánimo y confianza. Esta tesis es también fruto de los buenos ratos que hemos pasado juntos.

A mis compañeros y amigos del grupo de investigación, Félix, Tano, Mar, Lázaro, Javi, Sara... (también Rubén y Augusto), y del departamento, Ilu, Andrés, Viqui, María, Jimi, Paqui, Javi, Muro... Todos ellos hicieron que estos años se hayan pasado como un suspiro.

A los profesores del Departamento de Ecología e Hidrología, por su apoyo y ayuda en los momentos apropiados. Y a Pepa Martínez, alma del departamento.

A Txus Gómez-Zurita, que me inició en el árido (para mí entonces) mundo de la genética molecular, porque su paciencia y su ánimo fueron un estímulo considerable. El apoyo prestado por Pepe Galián fue también imprescindible en mi periplo molecular.

A David Bilton, que me acogió con entusiasmo y hospitalidad en la Universidad de Plymouth. Paul Ramsay y Balbina Lara hicieron también agradables los días de cielo gris de mi estancia británica.

A los profesores Robert Angus, Steve Ormerod, Rui Cortes y Garth Foster, por haberse prestado a leer esta tesis y elaborar sus informes para la obtención del Doctorado Europeo.

A la Caja de Ahorros del Mediterráneo, cuya ayuda económica, en forma de beca predoctoral, llegó cuando empezaba a perder la fe en las becas y fue fundamental para concluir esta tesis. Las aportaciones del Instituto de Estudios Albacetenses, en aquellos primeros años de penuria monetaria, pusieron también su grano de arena.

A todos los que, por mi mala memoria, me dejó en el tintero.

Índice

Conservación de la biodiversidad acuática en el Sureste Ibérico: métodos y estrategias a partir de inventarios de coleópteros acuáticos

Resumen general.....	1
Introducción general.....	3
Capítulo 1. Asignación de prioridades de conservación a insectos: vulnerabilidad de los coleópteros acuáticos del sureste de España.....	15
Capítulo 2. Conservación de la biodiversidad de ecosistemas acuáticos: una comparación de diferentes métodos de selección de áreas.....	41
Capítulo 3. Eficiencia de las áreas protegidas para representar la biodiversidad de ecosistemas acuáticos: el caso de una cuenca mediterránea (SE España).	65
Capítulo 4. Utilidad de la diferenciación taxonómica para evaluar impactos antrópicos en aguas continentales. Un caso de estudio en una cuenca mediterránea..	87
Capítulo 5. Genética de la conservación en ecosistemas hipersalinos: diversidad genética y filogeografía de un escarabajo acuático amenazado.....	109
Conclusiones generales.....	131

Conservation of freshwater biodiversity in southeastern Spain: methods and approaches from water beetle data

General abstract.....	135
General introduction.....	137
Chapter 1. Assessing conservation priorities for insects: status of water beetles in southeast Spain.	149
Chapter 2. Conservation of freshwater biodiversity: a comparison of different area selection methods.	171
Chapter 3. Effectiveness of protected area networks in representing freshwater biodiversity: the case of a mediterranean river basin (SE Spain).	193
Chapter 4. Can taxonomic distinctness assess anthropogenic impacts in inland waters? A case study from a Mediterranean river basin.....	213
Chapter 5. Conservation genetics in hypersaline inland waters: mitochondrial diversity and phylogeography of an endangered Iberian beetle.....	235
General conclusions.....	257
Apéndices / Appendixes.....	261

**Conservación de la biodiversidad acuática en
el Sureste Ibérico: métodos y estrategias a
partir de inventarios de coleópteros
acuáticos**

Resumen general

La presente tesis doctoral aborda distintas estrategias y metodologías en el contexto de la conservación de la biodiversidad de ecosistemas de aguas continentales en el Sureste Ibérico, utilizando inventarios de coleópteros acuáticos.

En primer lugar, se propone un método para evaluar la vulnerabilidad de especies y para asignar prioridades de conservación a especies y poblaciones, especialmente insectos. Las especies de coleópteros acuáticos de dos provincias españolas del sureste de la Península Ibérica son clasificadas de acuerdo a su prioridad de conservación a escala local, nacional y global tomando en cuenta un conjunto de seis variables: distribución general, endemidad, rareza, persistencia, rareza del hábitat y pérdida de hábitat. *Ochthebius glaber*, *O. irenae*, *O. montesi*, *O. albacetus* e *Hydraena mecai* aparecieron como las más vulnerables. La protección efectiva de estas especies requiere medidas dirigidas a la conservación de sus hábitats.

A continuación, se compara la eficacia de diferentes métodos de selección de áreas, variando desde índices tradicionales hasta algoritmos basados en el principio de complementariedad, teniendo en cuenta diferentes criterios como riqueza, rareza y vulnerabilidad. Los métodos de complementariedad fueron más eficaces que los índices y los *hotspots* de riqueza y rareza a la hora de representar los objetivos de conservación en un número determinado de áreas y para identificar un conjunto mínimo de áreas que recojan todas las especies al menos una vez. Dentro de éstos, el algoritmo basado en la riqueza fue más eficiente que el basado en la rareza de las especies. Los hábitats de mayor interés para la conservación de la biodiversidad de ecosistemas acuáticos en el área estudiada son los arroyos de media altitud, los arroyos hipersalinos y los complejos kársticos y endorreicos.

Como complemento a la selección de áreas de interés de conservación, se estudia el rendimiento de las áreas protegidas actuales y futuras en el contexto de la conservación de la biodiversidad de sistemas acuáticos. Los resultados muestran que la distribución y extensión de los espacios protegidos son aún insuficientes para

proteger la biodiversidad acuática, especialmente las especies con interés de conservación. Los métodos alternativos de selección de áreas (*hotspots* y complementariedad) fueron más eficaces que las áreas protegidas para representar los coleópteros acuáticos. Dentro de estos, la complementariedad fue el método más eficaz, siendo capaz de representar todas las especies en un área significativamente menor.

Por otro lado, se testa el comportamiento de tres índices de diferenciación taxonómica con relación a los niveles de impacto antrópico en aguas continentales, así como su utilidad potencial en monitoreo ambiental. Las medidas de diferenciación taxonómica no fueron capaces de identificar los efectos de perturbación humana y no hubo una clara relación entre estos nuevos índices de biodiversidad y el nivel de impacto registrado en localidades individuales. Se pone así de manifiesto que su comportamiento y su capacidad de detectar impactos antrópicos puede depender de la estructura filogenética de los taxones muestreados dentro de una región, y de su historia evolutiva y ecológica.

Finalmente, se estudia la variación genética y la filogeografía de *Ochthebius glaber*, un escarabajo acuático raro y amenazado endémico de arroyos hipersalinos del sur y sureste de la Península Ibérica. Los análisis filogeográficos revelaron un inesperado alto grado de estructura geográfica, apreciable entre poblaciones separadas por distancias relativamente cortas, con tres grupos principales de haplotipos que han estado aparentemente aislados durante significativos periodos de tiempo. Las principales causas inferidas para las asociaciones geográficas detectadas fueron eventos de fragmentación alopátrica y expansión contigua del rango. Dada la inestabilidad natural de los ambientes hipersalinos, sería necesaria la conservación de una red de poblaciones y hábitats potenciales para la preservación de los procesos que están generando y manteniendo la diversidad de la especie.

Introducción General

Conservación de la biodiversidad en ecosistemas acuáticos continentales

Una de las mayores crisis a las que nos enfrentamos actualmente es la extinción masiva de formas de vida como consecuencia de las actividades humanas (Humphries y Fisher, 1994; Kerr y Currie, 1995; Purvis y Hector, 2000). De hecho, la conservación de la diversidad biológica ha llegado a ser una preocupación global y un objetivo reconocido como ineludible. Esta circunstancia se ha visto plasmada en la Convención sobre Diversidad Biológica, suscrita por 150 estados (Programa Ambiental de Naciones Unidas, 2005). Aunque nuestro conocimiento de la biodiversidad global y las tasas de extinción es muy limitado, se ha estimado que, de los entre aproximadamente 2 y 100 millones de especies que se cree que existen en el planeta, más de 17500 se pierden cada año, es decir, se extinguen dos especies cada hora (Wilson, 1988; Stork, 1994). De ellas, la inmensa mayoría pertenece a grupos poco estudiados como los insectos (Dunn, 2005). A pesar de su papel fundamental en la naturaleza y su potencial en la definición de áreas prioritarias, los insectos, y los invertebrados en general, han sido ignorados sistemáticamente en los trabajos de conservación (Franklin 1993; Kremen *et al.*, 1993). No obstante, y si tenemos en cuenta el sesgo en el grado de conocimiento, este grupo de organismos muestra mayores tasas de extinción y proporción de especies amenazadas que otros grupos bien conocidos como aves y mamíferos (Thomas y Morris, 1994; MacKinney, 1999).

A pesar de la falta generalizada de información sobre las especies, existe consenso entre los científicos al afirmar que la biodiversidad de los sistemas de aguas continentales está altamente amenazada, para muchos autores incluso aún más que otros ecosistemas (Allan y Flecker, 1993; Master *et al.*, 1998; Ricciardi y Rasmussen, 1999). Por ejemplo, la mayor parte de las más de 200 especies de vertebrados de ecosistemas acuáticos, o sistemas asociados a éstos, se encuentra en regresión (WCMC, 1998). Los datos disponibles sugieren que alrededor del 30% de los peces epicontinentales están amenazados (IUCN, 2006). No obstante, todas las estimas de pérdida de biodiversidad en ambientes acuáticos son conservativas si tenemos en cuenta la falta de información para muchos grupos de organismos, como los invertebrados (Lévêque *et al.*, 2005). Además de la pérdida de especies, la degradación de los hábitats, la eutrofización y la introducción de especies exóticas

afectan a los cuerpos de aguas continentales de forma generalizada. El rápido incremento de las demandas de agua para consumo humano, regadío y producción de energía está casi invariablemente asociado con la pérdida y degradación de hábitats acuáticos, ocasionando la construcción de presas, canalización de ríos, y alteración de los regímenes naturales de caudal. Así, los ecosistemas acuáticos se encuentran entre los más vulnerables del planeta (Abell, 2002; Saunders *et al.*, 2002). Y a pesar de los signos de cambio rápido y destructivo en estos sistemas, la biodiversidad de ambientes acuáticos continúa teniendo baja prioridad en las iniciativas de conservación llevadas a cabo por organizaciones nacionales e internacionales (Balmford *et al.*, 2002; Saunders *et al.*, 2002).

La pérdida de biodiversidad acuática es particularmente importante en el sureste de la Península Ibérica, una de las áreas de máxima biodiversidad (*hotspots*) de la Cuenca mediterránea (Médail y Quézel, 1999). Esta región, a pesar de ser una de las zonas más áridas de Europa, alberga un amplio rango de ecosistemas acuáticos, desde arroyos de montaña, charcas y humedales hasta ramblas hipersalinas o cubetas salineras. Muchos de estos ecosistemas son únicos debido a sus características ecológicas y a las comunidades que albergan, algunas especialmente ricas en especies raras y/o endémicas (Moreno *et al.*, 1997; Gómez *et al.*, 2005). Por otro lado, los paisajes de esta región han estado sujetos a una fuerte influencia humana durante siglos, que ha ocasionado la pérdida progresiva de especies y hábitats. No obstante, la transformación de los paisajes agrícolas, desde cultivos extensivos de secano a agricultura intensiva de regadío, se ha acelerado en las últimas décadas, y la actual expansión de las tierras de regadío en este área está incrementando las demandas de agua más allá de los recursos disponibles, ocasionando la pérdida de los flujos naturales en ríos y cursos efímeros, la sobreexplotación de los acuíferos, la pérdida de fuentes y humedales y el agotamiento de las reservas de agua (Martínez-Fernández y Esteve, 2005). Por tanto, la conservación de los ecosistemas acuáticos y de su biodiversidad en esta región se ha convertido en una tarea crucial y urgente.

Una de las estrategias fundamentales en conservación es maximizar la protección de la biodiversidad. En aras de este objetivo, recientemente, se han incorporado aspectos como la representatividad y la persistencia, es decir, identificar y proteger a largo plazo la muestra más amplia posible de biodiversidad de una región (Humphries *et al.*, 1995; Margules y Pressey, 2000). Tales objetivos llevan asociados, fundamentalmente, aspectos relacionados con el diseño y la localización de áreas protegidas y con la protección de especies concretas. Teniendo en cuenta que los recursos destinados a la conservación son siempre limitados, se hace necesaria la asignación de prioridades, es decir, identificar aquellas especies y aquellos espacios que necesitan protección de forma más urgente y que serán objeto de los mayores esfuerzos de conservación (Margules y Pressey, 2000; Sutherland, 2000).

En lo que a la asignación de prioridades a especies se refiere, los insectos (acuáticos o no) han recibido tradicionalmente escasa protección legal, presumiblemente debido a su reducido tamaño y a la relación evolutiva lejana con los

humanos (Metrick y Weitzman, 1996), pero indudablemente también a causa de la dificultad para categorizar sus especies con sistemas tradicionales de análisis de vulnerabilidad o riesgo de extinción (Samways, 1994; New, 1999). La falta generalizada de atención en protección se hace evidente a partir del número desproporcionadamente bajo de insectos listados como amenazados. Por ejemplo, sólo 623 especies de insectos aparecen como amenazados en la Lista Roja de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza; IUCN, 2006), frente a las 5624 especies de vertebrados. Estas cifras parecen sorprendentes si tenemos en cuenta la abundancia relativa de insectos y la facilidad con la que pueden ser recolectados y estudiados. Aunque estos factores han contribuido posiblemente a su uso generalizado como organismos modelo en otras facetas del estudio biológico, no han recibido la atención necesaria en biología de la conservación. El establecimiento de prioridades de conservación para taxones de insectos simplemente no es tan fácil como resulta para otros grupos como aves, mamíferos y la mayoría de las plantas (Martín-Piera, 1997). Así, el diseño de protocolos objetivos y repetibles que permitan clasificar las especies de insectos en función de su vulnerabilidad es una tarea crucial para evitar la pérdida irremediable de muchas de ellas, así como para asignar prioridades de conservación a áreas en una región.

Por otro lado, la designación de áreas protegidas ha sido históricamente oportunista, y las áreas a proteger han sido seleccionadas en base a la disponibilidad, la competencia con usos del suelo alternativos, el valor estético u otros factores, pero a menudo, al margen de consideraciones teóricas sobre el diseño de espacios protegidos (Pressey, 1994). Como consecuencia de ello, las áreas protegidas están con frecuencia concentradas en paisajes fáciles de proteger o con menor necesidad de protección (Adam 1992; Barnard *et al.*, 1998), y la biodiversidad cubierta por los espacios protegidos existentes es, generalmente, insuficiente. En este contexto, los esfuerzos para conservar la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos han sido con frecuencia inexistentes o ineficientes, creándose pocas reservas para proteger la biota acuática (Saunders *et al.*, 2002). Por tanto, una de las primeras fases para resolver este problema ha de ser evaluar hasta qué punto las áreas protegidas existentes representan la biodiversidad de los sistemas acuáticos e identificar elementos que necesitan protección (Scott *et al.*, 1993).

Sobre la base de los problemas de las designaciones *ad hoc*, los esfuerzos en el campo de la selección de áreas prioritarias con bases científicas se han centrado en el desarrollo de principios y herramientas para configurar redes de reservas eficientes y representativas. Independientemente del grupo taxonómico utilizado para ello, muchos métodos y estrategias han tratado de responder a las cuestiones de qué, cómo y dónde proteger. Así, se han utilizado numerosas estrategias para identificar áreas de elevado interés de conservación (e.g. índices de diversidad, *hotspots*, selección iterativa y soluciones matemáticas, etc.), en los que los esfuerzos de conservación cosecharían la mayor eficiencia (Williams, 1998), desarrollando sistemas de reservas defendibles desde una perspectiva científica y de eficiencia (Margules y Pressey, 2000). Sin embargo, la eficiencia de estas metodologías no ha sido testada en

sistemas acuáticos. Así, no conocemos si los *hotspots* de riqueza y rareza coinciden a escala regional para los ambientes de aguas continentales, o si los índices tradicionales de interés de conservación son eficientes en términos de la cantidad de biodiversidad que recogen, o cómo las áreas complementarias basadas en algoritmos iterativos maximizan la biodiversidad protegida en este tipo de ecosistemas.

Los métodos de selección de áreas prioritarias se basan a menudo en datos de distribución de especies, aunque lo cierto es que la biodiversidad permanece deficientemente conocida respecto a la distribución y taxonomía de algunos grupos. Esto es especialmente cierto en los ecosistemas de aguas continentales, para los que existe una escasez general de inventarios completos de los que, además, no será posible disponer en un futuro cercano para muchas cuencas (Lévêque *et al.*, 2005). Por tanto, nos enfrentamos a la tarea de identificar áreas prioritarias para la conservación en base a información parcial. Una estrategia común para superar esta limitación ha sido el uso de subconjuntos de especies como indicadores o sustitutos del total de especies (Gaston, 1996), *i.e.* indicadores de biodiversidad o *biodiversity surrogates* (en inglés). Estos consisten en aquellas especies pertenecientes a uno o varios grupos taxonómicos, generalmente ricos en especies, consideradas para representar al conjunto de la biodiversidad de una región (Noss, 1990). En este contexto, los coleópteros acuáticos proporcionan un grupo ideal para ser utilizados como indicadores de biodiversidad (Foster, 1991; Ribera y Foster, 1993): aparecen a lo largo de todo el espectro de cuerpos de agua e incluyen especies con un amplio rango de tolerancias ecológicas; tienden a ser el grupo de macroinvertebrados dominantes en muchos ambientes acuáticos, y su biología y distribución son bien conocidas. En la Península Ibérica, los coleópteros acuáticos son un grupo bien conocido con un elevado número de especies (*e.g.* Ribera *et al.*, 1998; Ribera, 2000), y son uno de los grupos de invertebrados acuáticos mejor estudiados en el Sureste Ibérico (*e.g.* Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003; Millán *et al.*, 2006). Además, diversos autores han demostrado que la diversidad de coleópteros acuáticos representa la diversidad del resto de invertebrados en sistemas de aguas continentales (Jeffries, 1988; Fairchild *et al.*, 2000; Bilton *et al.*, 2006; Sánchez-Fernández *et al.*, en prensa).

Con el fin de diseñar políticas de conservación, hemos de medir y evaluar la diversidad biológica, no sólo desde una perspectiva de la selección de áreas, sino también en términos de valorar los efectos de las actividades humanas sobre los ecosistemas. Aunque tradicionalmente la diversidad se ha medido sólo en términos de riqueza de especies, o en forma de índices que combinan riqueza con abundancia, más recientemente se tiende a considerar como medidas más adecuadas de diversidad aquellas basadas en la distancia genética o taxonómica entre las especies. Medidas de la estructura filogenética, basadas en el análisis de cladogramas de determinados grupos de organismos, se han utilizado ampliamente en el diseño de redes de áreas protegidas, con objeto de conservar conjuntos de especies que incluyen la mayor cantidad de historia evolutiva posible (*e.g.* Williams *et al.*, 1991; Faith, 1992; Nee y May, 1997). Sin embargo, las medidas filogenéticas y taxonómicas han tenido un uso limitado en el monitoreo ambiental, donde el énfasis no está en

elegir qué especies conservar, sino sobre el estado de conservación de los sistemas y los efectos de la perturbación antrópica sobre la biodiversidad. Además, la utilidad de estas nuevas medidas de biodiversidad ha sido testada casi exclusivamente en sistemas marinos, existiendo un vacío de información en lo que se refiere a su utilidad en ambientes de aguas continentales, donde estas métricas podrían ayudar a evaluar el estado de conservación de estos ecosistemas.

Por otro lado, si el objetivo último de la biología de la conservación es conservar la biodiversidad global, a todos sus niveles jerárquicos, desde los genes a los ecosistemas, el campo de la conservación biológica debe ser multidisciplinar, integrando disciplinas diferentes y complementarias, desde la ecología y la historia natural hasta la sociología o la economía. Uno de las últimas disciplinas incorporadas a la biología de la conservación es la genética. En este contexto, la genética de la conservación proporciona información para priorizar los esfuerzos de protección usando herramientas moleculares. Esta información, tal como diversidad genética, estructura poblacional, relaciones filogenéticas o filogeografía, pueden ayudar a la asignación de prioridades de conservación y en la gestión de las especies, siendo particularmente útil en la implementación de medidas de conservación para aquellas especies identificadas como más vulnerables o en peligro. En este sentido, aunque nuestro conocimiento de la diversidad genética y la filogeografía de los invertebrados de agua dulce se ha visto incrementado en la última década (e.g., Hughes *et al.*; 1996, 2003; King *et al.*, 1999; Kauwe *et al.*, 2004), la información concerniente a las poblaciones en ambientes salinos es muy escasa, a pesar de su reconocido valor de conservación (Foster, 2000; Gómez *et al.*, 2005).

Teniendo en cuenta todo lo expuesto anteriormente, y a través del hilo conductor de la conservación de los ambientes acuáticos continentales en el Sureste Ibérico, la presente tesis doctoral aborda distintas estrategias y metodologías desde la doble perspectiva, necesariamente complementaria, de la asignación de prioridades a organismos y áreas. En primer lugar, se centra en el estudio de los organismos, en este caso los coleópteros acuáticos, de forma que la información relativa a su distribución, demografía, hábitat o amenazas hacia sus poblaciones, ofrezca una de las bases para la conservación de la biodiversidad de estos sistemas. En este sentido, a continuación se abordan cuestiones relacionadas con la identificación de áreas de interés de conservación en base a esta información, estudiándose la eficacia de distintas metodologías y criterios. En estrecha relación con este punto, se estudia el grado de protección que aportan, para los organismos y la biodiversidad en general, los espacios protegidos, así como su adecuación respecto a otros conjuntos de áreas elaborados a partir de distintas metodologías alternativas. Finalmente, se afronta el empleo de herramientas para la caracterización y gestión de las áreas y los organismos o unidades que éstas albergan, como son la utilidad de nuevas medidas de diversidad para evaluar el estado de conservación de los ecosistemas, y el estudio de la singularidad de los organismos por debajo del nivel de especie.

Así, los principales objetivos de esta tesis son:

- Desarrollar una metodología que permita clasificar las especies de insectos en función de su grado de vulnerabilidad, e identificar aquellas especies de coleópteros acuáticos de mayor interés de conservación del Sureste Ibérico

- Evaluar la eficiencia relativa de diferentes métodos de identificación de áreas prioritarias para la conservación de la biodiversidad en ecosistemas acuáticos, desde índices hasta algoritmos de complementariedad, basados en diferentes criterios (riqueza, rareza, vulnerabilidad).

- Identificar los hábitats de mayor interés para la conservación de la biodiversidad de ecosistemas acuáticos en el sureste de la Península Ibérica.

- Evaluar la eficacia de las redes de áreas protegidas en la representación de la biodiversidad de ecosistemas acuáticos, examinar su eficiencia respecto a redes alternativas a partir de otras estrategias, e identificar áreas adicionales necesarias para completar los vacíos en la protección.

- Evaluar el comportamiento de medidas de diversidad taxonómica en relación con niveles de impacto antropogénico en aguas continentales y su utilidad potencial en monitoreo ambiental en este tipo de ambientes.

- Determinar la diversidad genética y la estructura filogeográfica de las poblaciones de *Ochthebius glaber*, una de las especies identificadas como de mayor grado de vulnerabilidad en el área de estudio.

Estructura de la tesis

Todos los capítulos que componen esta tesis han sido ya publicados como artículos (1, 2 y 4) o se encuentran actualmente en prensa (3 y 5) para ser publicados en revistas internacionales del SCI. Por ello, cada capítulo puede ser leído de forma independiente del resto de la tesis. Este hecho puede ocasionar cierta reiteración en algunas afirmaciones y argumentos, aunque esto no es necesariamente malo, pues las ideas más recurrentes deberían estar presentes de forma continua en la mente del lector. Así, la tesis está basada en los siguientes artículos:

Capítulo 1 Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005. Assessing conservation priorities for insects: status of water beetles in southeast Spain. *Biological Conservation*, **121**, 79–90.

Capítulo 2 Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005. Conservation of freshwater biodiversity: a comparison of different area selection methods. *Biodiversity and Conservation*, **14**, 3457-3474.

- Capítulo 3 Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. En prensa. Effectiveness of protected area networks in representing freshwater biodiversity: the case of a Mediterranean river basin (SE Spain). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. (publicado *on line*. DOI: 10.1002/aqc.778)
- Capítulo 4 Abellán P., Bilton D.T., Millán A., Sánchez-Fernández D., Ramsay P.M. 2006. Can taxonomic distinctness assess anthropogenic impacts in inland waters? A case study from a Mediterranean river basin. *Freshwater Biology*, **51**, 1744-1756.
- Capítulo 5 Abellán P., Gómez-Zurita J., Millán A., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Galián J., Ribera I. En prensa. Conservation genetics in hypersaline inland waters: mitochondrial diversity and phylogeography of an endangered Iberian beetle (Coleoptera: Hydraenidae). *Conservation Genetics*. (publicado *on line*. DOI: 10.1007/s10592-006-9150-9)

En el capítulo 1, se propone un método objetivo para evaluar el grado de vulnerabilidad de las especies, y para priorizar especies y poblaciones para la conservación, especialmente insectos. De acuerdo con la metodología diseñada, las especies de coleópteros acuáticos de dos provincias españolas del Sureste Ibérico han sido clasificadas en función de su prioridad de conservación a escala local, nacional y global. Esta evaluación de la vulnerabilidad de las especies puede proporcionar información interesante sobre las amenazas y las prioridades de conservación de distintos taxones restringidos a la Península Ibérica, pero además proporciona una base para el diseño y la comparación de métodos y estrategias para priorizar áreas de cara a la conservación de la biodiversidad.

En el capítulo 2, se utilizan datos de coleópteros acuáticos de una provincia del Sureste Ibérico para identificar áreas y hábitats prioritarios a escala local para la conservación de la biodiversidad de sistemas acuáticos y para comparar la eficiencia de distintos métodos de selección de áreas (desde índices tradicionales a algoritmos de complementariedad) basados en diferentes criterios, como riqueza, rareza y vulnerabilidad. Así, se busca resolver las siguientes cuestiones: (1) ¿Qué método proporciona el menor conjunto de sitios protegiendo todas las especies?, y (2) para una superficie determinada a proteger, ¿Qué estrategia proporciona la mayor acumulación de objetivos de conservación?

En el capítulo 3, se investiga la eficiencia de los espacios naturales protegidos en una cuenca mediterránea para proteger la diversidad de coleópteros acuáticos, tomados como indicadores de biodiversidad de ecosistemas acuáticos. Para ello, se evalúa la eficiencia de la red actual de áreas protegidas y de la futura Red Natura 2000 en la Cuenca del Segura. Además, se examina su rendimiento en comparación con

redes de áreas alternativas seleccionadas a partir de otros métodos, y se identifican áreas adicionales para complementar el sistema actual de espacios protegidos.

En el capítulo 4, se trata de determinar si las nuevas medidas de biodiversidad basadas en la diversidad taxonómica son útiles en el monitoreo ambiental de ambientes de aguas continentales, y si proporcionan información complementaria a medidas tradicionales de diversidad como riqueza y rareza. Para ello, se utiliza un conjunto extensivo de datos de coleópteros acuáticos de la Cuenca del Río Segura con el fin de testar si estos nuevos índices de diversidad taxonómica reflejan los cambios en la biodiversidad de diferentes tipos de hábitats como consecuencia de la actividad humana.

Finalmente, en el capítulo 5, se estudia la diversidad genética y filogeografía de *Ochthebius glaber* Montes y Soler, una de las especies de coleópteros acuáticos identificada como de mayor prioridad de conservación en el Sureste Ibérico. Se utiliza ADN mitocondrial para determinar la variación genética, la estructura poblacional, las relaciones filogenéticas y la filogeografía de esta especie, y se interpretan orientados hacia sus requerimientos de conservación. Los datos sobre la diversidad genética, la historia evolutiva y la subdivisión geográfica de las poblaciones de *O. glaber* pueden ayudar en la gestión de esta y otras especies adaptadas a los ambientes salinos.

Bibliografía

Abell R. 2002. Conservation biology for the biodiversity crisis: a freshwater follow-up. *Conservation Biology*, **16**, 1435-1437.

Adam, P. 1992. The end of conservation on the cheap. *National Parks Journal*, **36**, 19-22.

Allan J.D., Flecker A.S. 1993. Biodiversity conservation in running waters: Identifying the major factors that threaten destruction of riverine species and ecosystems. *BioScience*, **43**, 32-43.

Balmford A., Bruner A., Cooper P., Costanza R., Farber S., Green R.E., Jenkins M., Jefferiss P., Jessamy V., Madden J., Munro K., Myers N., Naeem S., Paavola J., Rayment M., Rosendo S., Roughgarden J., Trumper K., Turner RK. 2002. Why conserving wild nature makes economic sense. *Science*, **297**, 950-953.

Barnard, P., Brown, C.J., Jarvis, A.M. and Robertson, A. 1998. Extending the namibian protected area network to safeguard hotspots of endemism and diversity. *Biodiversity and Conservation*, **7**, 531-547.

Bilton D.T., McAbendroth L., Bedford A., Ramsay, P.M. 2006. How wide to cast the net? Cross-taxon congruence of species richness, community similarity and indicator taxa in ponds. *Freshwater Biology*, **51**, 578-590.

Dunn RR. 2005. Modern insect extinctions, the neglected majority. *Conservation Biology*, **19**, 1030-1036.

Fairchild G.W., Faulds A.M., Matta J.F. 2000. Beetle assemblages in ponds: effects of habitat and site age. *Freshwater Biology*, **44**, 523-534.

Faith D.P. 1992. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biological Conservation*, **61**, 1–10.

Foster G.N. 1991. Conserving insects of aquatic and wetland habitats, with special reference to beetles. In: *The conservation of insects and their habitats* (eds N.M. Collins, J.A. Thomas), pp. 237–262. 15th Symposium of the Royal Entomological Society of London. Academic Press, London.

Foster G.N. 2000. The aquatic Coleoptera of British saltmarshes: extremes of generalism and specialism, In: *British Saltmarshes* (eds Sherwood BR, Gardiner BG, Harris, T), pp. 223-233. Linnean Society, London.

Franklin J.F. 1993. Preserving biodiversity: species, ecosystems, or landscapes? *Ecological Applications*, **3**, 202-205.

Gaston K.J. 1996. Biodiversity: congruence. *Progress in Physical Geography*, **20**: 105–112.

Gómez R., Hurtado I., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R. 2005. Ramblas in south-east Spain: threatened and valuable ecosystems. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **15**, 387-402.

Hughes J.M., Bunn S.E., Hurwood D.A., Choy S., Pearson R.G. 1996. Genetic differentiation among populations of *Caridina zebra* (Decapoda: Atyidae) in tropical rainforest streams, northern Australia. *Freshwater Biology*, **36**, 289–296.

Hughes J.M., Mather P.B., Hillyer M.J., Cleary C., Peckarsky B. 2003. Genetic structure in a montane mayfly *Baetis bicaudatus* (Ephemeroptera: Baetidae), from the Rocky Mountains, Colorado. *Freshwater Biology*, **48**, 2149–2162.

Humphries C.J., Fisher C.T. 1994. The loss of Banks's legacy. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, **344**, 3-8.

Humphries C.J., Williams P.H., Vane-Wright R.I. 1995. Measuring biodiversity value for conservation. *Annual review of ecology and systematics*, **26**, 93-111.

IUCN 2006. 2006 IUCN Red List of Threatened Species. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 4 May 2006.

Jeffries M. 1988. Do water beetle communities reflect the wider freshwater community? A trial run. *Newsletter Balfour-Browne Club*, **42**, 14-17.

Kauwe J.S.K., Shiozawa D.K., Evans R.P. 2004. Phylogeographic and nested clade analysis of the stonefly *Pteronarcys californica* (Plecoptera:Pteronarcyidae) in the western USA. *Journal of the North American Benthological Society*, **23**, 824–838.

Kerr J.T., Currie D.J. 1995. Effects of human activity on global extinction risk. *Conservation Biology*, **9**, 1528-1538.

King T.L., Eackles M.S., Gjetvaj B., Hoeh W.R. 1999 Intraspecific phylogeography of *Lasmigona subviridis* (Bivalvia: Unionidae): conservation implications of range discontinuity. *Molecular Ecology*, **8**, 65-78.

Kremen C., Colwell R.K., Erwin T.L., Murphy D.D., Noss R.F., Sanjayan M.A. 1993. Terrestrial arthropod assemblages: their use in conservation planning. *Conservation Biology*, **7**, 796-808.

Lévêque C., Balian E.V., Martens K. 2005. An assessment of animal species diversity in continental waters. *Hydrobiologia*, **542**, 39-67.

MacKinney M.L. 1999. High rates of extinction and threat in poorly studied taxa. *Conservation Biology*, **13**, 1273-1281.

Margules C.R., Pressey R.L. 2000. Systematic conservation planning. *Nature*, **405**, 243–253.

Martínez-Fernández J., Esteve M.A. 2005. A critical view of the desertification debate in southeastern Spain. *Land Degradation and Development*, **16**, 529-539.

Martín-Piera F. 1997. Apuntes sobre Biodiversidad y Conservación de Insectos: Dilemas, ficciones y ¿Soluciones?. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **20**, 25-55.

Master L.L., Flack S.R., Stein B.A. 1998. *Rivers of Life: Critical Watersheds for Protecting Freshwater Biodiversity*. The Nature Conservancy, Arlington, Virginia.

Médail F., Quézel P. 1999. Biodiversity hotspots in the Mediterranean basin: setting global conservation priorities. *Conservation Biology*, **13**, 1510–1513.

Metrick A., Weitzman M.L. 1996. Patterns of behavior in endangered species preservation. *Land Economics*, **72**, 1-16.

Millán A., Abellán P., Ribera I., Sánchez-Fernández D., Velasco J. 2006. The Hydradephaga (Coleoptera) of the Segura basin (SE Spain): twenty-five years studying water beetles. *Memorie della Società Entomologica Italiana*, **85**, 137-158.

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2002. *Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos y semiacuáticos de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses, Albacete.

Moreno J.L., Millán A., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R., 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.

Nee S., May R.M. 1997. Extinction and the loss of evolutionary history. *Science*, **278**, 692–694.

New T.R. 1999. Limits to Species Focusing in Insect Conservation. *Annals of the Entomological Society of America*, **92**, 853-860.

Noss R.F. 1990. Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology*, **4**, 355-364.

Prendergast JR, Quinn RM, Lawton JH. 1999. The gaps between theory and practice in selecting nature reserves. *Conservation Biology*, **13**: 484–492.

Pressey R.L. 1994. Ad hoc reservations: forward or backward steps in developing representative reserve systems. *Conservation Biology*, **8**, 662–668.

Pressey R.L., Humphries C.J., Margules C.R., Vane-Wright R.I., Williams P.H. 1993. Beyond opportunism: key principles for systematic reserve selection. *Trends in Ecology and Evolution*, **8**, 124–128.

Programa Ambiental de Naciones Unidas (2005) Convención sobre diversidad biológica. www.biodiv.org (consultada 18 agosto 2005).

Purvis A., Hector A. 2000. Getting the measure of biodiversity. *Nature*, **405**, 212–219.

Ribera I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, **92**, 131–150.

Ribera I., Foster G. 1993. Uso de Coleópteros acuáticos como indicadores biológicos (Coleoptera). *Elytron*, **6**, 61–75.

Ribera I., Hernando C., Aguilera P. 1998. An Annotated checklist of the Iberian water beetles (Coleoptera). *Zapateri*, **8**, 43–111.

Ricciardi A., Rasmussen J.B. 1999. Extinction rates in north American freshwater fauna. *Conservation Biology*, **13**, 1220-1222.

Samways M.J. 1994. Insects in biodiversity conservation: some perspectives and directives. *Biodiversity and Conservation*, **2**, 258-282.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Millán A., Velasco J. 2003. Los coleópteros acuáticos de la Región de Murcia. Catálogo faunístico y áreas prioritarias de conservación. Monografías SEA 10. Zaragoza.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Mellado A., Velasco J., Millán A. En prensa. Are water beetles good indicators of biodiversity in Mediterranean aquatic ecosystems? The case of the Segura river basin (SE Spain). *Biodiversity and Conservation*.

Saunders D., Meeuwig J., Vincent A.J. 2002. Freshwater protected areas: Strategies for conservation. *Conservation Biology*, **16**, 30–41.

Scott J.M., Davis F., Csuti B., Noss R., Butterfield B., Groves C., Anderson H., Caicco S., Derchia F., Edwards T.C., Ulliman J., Wright R.G. 1993. Gap analysis: a geographic approach to protection of biological diversity. *Wildlife Monographs*, **123**, 1-41.

Stork N.E. 1994. Inventories of biodiversity: more than a question of numbers. In P.L. Forey, C.J. Humphries, R.I. Vane-Wright (eds.) *Systematics and conservation evaluation*. Oxford University Press, Oxford, UK. pp. 81-100.

Sutherland W.J. 2000. *The conservation Handbook. Research, management and policy*. Blackwell Science. Cambridge.

Thomas J.A., Morris M.G. 1994. Patterns, mechanisms and rates of extinction among invertebrates in the United Kingdom. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, **344**, 47-54.

WCMC 1998. *Freshwater Biodiversity: a preliminary global assessment*. World Conservation Press, Cambridge.

Williams P.H. 1998. Key sites for conservation: area-selection methods for biodiversity. In G. M. Mace, A. Balmford, and J. R. Ginsberg, editors. *Conservation in a changing world*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom. pp 211–250.

Williams P.H., Humphries C.J., Vane-Wright R.I. 1991. Measuring biodiversity: taxonomic relatedness for conservation priorities. *Australian Systematic Botany*, **4**, 665–679.

Wilson E.O. 1988. The current state of biological diversity. In E.O. Wilson & M. P. Peters (eds.) *Biodiversity*. National Academy Press, Washington DC, USA. pp. 3-18.

Capítulo 1

Asignación de prioridades de conservación a insectos: vulnerabilidad de los coleópteros acuáticos del sureste de España.

Resumen

Se propone un método objetivo para evaluar la vulnerabilidad de especies y para asignar prioridades de conservación a especies y poblaciones, especialmente insectos. Las especies de coleópteros acuáticos de dos provincias españolas del sureste de la Península Ibérica fueron clasificadas de acuerdo a su prioridad de conservación a escala local, nacional y global tomando en cuenta un conjunto de seis variables: distribución general, endemismo, rareza, persistencia, rareza del hábitat y pérdida de hábitat. Cada variable fue clasificada en cuatro valores (0-3) de riesgo creciente de extinción. *Ochthebius glaber*, *O. irenae*, *O. montesi*, *O. albacetus* y *Hydraena mecai* aparecieron como las más vulnerables, por lo que se propone su inclusión en el Catálogo Nacional de Especies Amenazadas. Además, se propone la inclusión de *Ochthebius glaber*, *O. irenae* y *O. montesi* en la lista roja de la UICN como "Vulnerables". Estas especies son endemismos ibéricos con rangos geográficos restringidos al Sureste y se encuentran, además, amenazados por pérdida de hábitat. La protección efectiva de estas especies requiere medidas dirigidas a la conservación de sus hábitats. Entre los hábitats prioritarios para la ser protegidos en el sureste de la Península Ibérica se incluyen los arroyos de agua dulce de media montaña, los arroyos salinos y las lagunas endorreicas.

INTRODUCCIÓN

La asignación de prioridades de conservación, especialmente al nivel de especie, ha estado centrada en gran medida en el listado y clasificación de las especies en función de su grado de amenaza o probabilidad de extinción, plasmándose a menudo en las denominadas “listas rojas”. Se han propuesto diferentes métodos para evaluar el riesgo de extinción, desde evaluaciones subjetivas basadas en la opinión de expertos, hasta modelos analíticos y de simulación.

En esa variedad de métodos, desde los meramente subjetivos hasta los modelos de simulación, el número de taxones que pueden ser potencialmente evaluados disminuye considerablemente a causa del marcado incremento de información requerida (Gaston *et al.*, 2002). Los métodos cualitativos son más simples y dependen menos de datos difíciles de obtener, pero adolecen de una casi completa dependencia de la opinión de expertos y presentan dificultades a la hora de asignar las especies a distintas categorías de riesgo (Mace y Lande, 1991). En el otro extremo, los modelos analíticos y de simulación tienden a demandar gran cantidad de información, de la que a menudo no se dispone o es difícil de obtener, especialmente para algunos grupos de invertebrados como los insectos. Por otro lado, métodos cuantitativos o semi-cuantitativos, basados en unas pocas variables fácilmente medibles (*e.g.* Cofré y Marquet, 1999; Andreone y Luiselli, 2000) resuelven algunas de estas limitaciones y pueden proporcionar una evaluación objetiva y repetible.

A una escala global, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN; IUCN, 2001) proporciona un riguroso rango de categorías que pretende clasificar a las especies de acuerdo a su probabilidad de extinción dentro de un determinado periodo de tiempo. Estas categorías han sido ampliamente aceptadas a lo largo de la geografía mundial y forman la base de la Lista Roja de Animales Amenazados de la UICN. Sin embargo, las especies de muchos grupos de animales se clasificarían como “sin datos suficientes” y, en el caso de algunos invertebrados, es inconcebible que vaya a haber datos suficientes para una clasificación sensata (Sutherland, 2000). Por tanto, se hace necesario aún el diseño de protocolos para la conservación de la diversidad biológica, especialmente para invertebrados.

La cuenca mediterránea es considerada uno de los puntos calientes o *hotspots* de biodiversidad del planeta (Mittermeier *et al.*, 1998; Myers *et al.*, 2000). En este contexto, resulta de particular interés el sureste de la Península Ibérica que, a pesar de ser la región más árida de Europa, alberga una fauna rica en especies y endemismos (Médail y Quézel, 1997) y en la que las amenazas a la biodiversidad por la acción del hombre están incrementando. Precisamente debido a que la escasez de agua es una de las características que distinguen esta región, los ecosistemas acuáticos son especialmente importantes, siendo muchos de ellos particularmente ricos en especies raras y endémicas. Además, la mayoría de estos hábitats de aguas continentales son importantes a nivel europeo e incluso algunos de ellos únicos de la región. El grupo de los escarabajos acuáticos presenta una elevada riqueza de especies en la región mediterránea, ocupando prácticamente toda clase de ambientes

acuáticos, tanto de agua dulce como salina, desde pequeñas charcas hasta lagunas y humedales, y desde arroyos y ríos hasta canales de riego y embalses. Además, es un grupo de insectos bien conocido en la Península ibérica (e.g. Ribera *et al.*, 1998; Ribera, 2000) y uno de los grupos mejor conocidos del sureste de España (e.g. Delgado *et al.*, 1992; Millán *et al.*, 1996; Delgado y Soler, 1997; Millán *et al.*, 2001 a y b; Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003). A pesar de todo ello, existe un vacío de información en cuanto a su estado de conservación o la vulnerabilidad de sus especies (Ribera, 2000).

En este trabajo, se propone un sistema de categorización para clasificar especies de insectos en función de su prioridad de conservación o vulnerabilidad. Como ejemplo, se evalúa el estado de conservación de los escarabajos acuáticos de dos provincias del sureste de la Península Ibérica. Esta evaluación se realiza a escala local para todas las especies, y a escala nacional e internacional para las especies endémicas cuya distribución está restringida al sureste de la Península Ibérica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio y obtención de datos

Se evaluó la prioridad de conservación de las especies de coleópteros acuáticos de dos provincias españolas del sureste de la Península Ibérica: Murcia y Albacete (Figura 1).

En el análisis se incluyeron aquellas familias en las que una parte sustancial de las especies está ligada al medio acuático en al menos uno de sus estadios de desarrollo. También se incluyeron aquellas subespecies bien establecidas taxonómicamente. La nomenclatura usada sigue a Ribera *et al.* (1998). Con el fin de minimizar el grado de incertidumbre, no se incluyeron en el análisis de vulnerabilidad las especies pertenecientes a la familias Sphaeriusidae, Chrysomelidae, Curculionidae, Georissidae, Scirtidae, Limnichidae y Heteroceridae, debido al conocimiento insuficiente que existe sobre su distribución y/o taxonomía.

Los datos de las especies fueron obtenidos de la literatura y de trabajo de campo. Hasta donde fue posible, se consideraron todos los datos publicados e inéditos actualmente conocidos. Los datos de campo fueron obtenidos, entre 1981 y 2002, de un total de 337 localidades de muestreo (227 en Murcia y 110 en Albacete). La mayoría de las localidades, además, fueron muestreadas, al menos, dos veces. Estas localidades representan la práctica totalidad de la diversidad de tipos de cuerpos de agua presentes en el área de estudio. Siguiendo a Millán *et al.* (2002), estas localidades de muestreo fueron asociadas con hábitats tipo de acuerdo a parámetros ambientales y ecológicos. Así, se distinguieron un total de dieciocho hábitats tipo (Tabla 1). En total, el área prospectada comprendió 66 de las 144 cuadrículas UTM de 10 x 10 Km de la provincia de Albacete, y 51 de las 166 cuadrículas de la provincia de Murcia, abarcando, respectivamente, el 46% y el 32% de su superficie total.



Figura 1. Mapa de localización del área de estudio (provincias de Albacete y Murcia).

A partir de los registros recogidos en la literatura, y de los especímenes examinados, fue elaborada una base de datos que incluyó la identidad del taxón, la localidad y fecha de captura, el recolector y el número de individuos. En total, se emplearon en el análisis más de 6500 registros válidos (del tipo especie/localidad/fecha) de coleópteros acuáticos, lo que representa más de 3000 registros para Murcia y sobre los 3500 para la provincia de Albacete. Un total de 226 especies y subespecies de coleópteros acuáticos del área de estudio (209 de Albacete y 145 de Murcia) fueron incluidas en la evaluación. De ellas, 32 son endémicas de la Península Ibérica, 15 de las cuales presentan su distribución restringida al Sureste (es decir, todas las Cordilleras Béticas, incluyendo la Sierra de Alcaraz en Albacete, y algunas zonas en el Suroeste de la Península).

Tabla 1. Hábitats tipo estudiados.

Código	Hábitats tipo
1	Arroyos de cabecera
2	Arroyos de vega media
3	Ríos
4	Tramos de río influidos por embalses
5	Arroyos y ríos eutrofizados
6	Arroyos salinos
7	Fuentes
8	Canales de riego
9	Embalses
10	Balsas de riego
11	Lagunas kársticas
12	Lagunas endorreicas
13	Pozas, charcas y otros humedales
14	Salinas interiores
15	Tramos de río canalizados
16	Arrozales
17	Salinas costeras
18	Rocks pools

Evaluación de la vulnerabilidad

Se elaboró un sistema para clasificar las especies en función de su prioridad de conservación o vulnerabilidad a escala local, nacional y global. Este sistema incluye un conjunto de seis variables (basadas en atributos de las especies o el hábitat de las mismas) que toman valores de 0 a 3 (Tabla 2). La puntuación total de vulnerabilidad (VS) para cada especie es la suma de la puntuación para cada variable, dando un valor total que varía entre 0 y 18.

A continuación, las especies fueron agrupadas en cuatro categorías de vulnerabilidad de acuerdo a su puntuación para cada una de las tres escalas (local, nacional y global): *baja* (0-4), *media* (5-8), *alta* (9-13) y *extrema* (14-18). Aquellas especies asignadas a las dos últimas categorías fueron consideradas como especies con elevada prioridad de conservación.

Tabla 2. Variables usadas en análisis de vulnerabilidad de las especies y sus rangos de valores. Códigos: GD, Distribución general; E, Endemicidad; R, Rareza; P, Persistencia; HR, Rareza del hábitat; HL, Pérdida de hábitat; VS, Puntuación de vulnerabilidad.

Variables	Puntuación			
	0	1	2	3
GD	Especies trans-ibéricas	Especies ibero-africanas e ibero-europeas	Especies disyuntas	Endemismos ibéricos
E	No estricto	General	Sureste	Exclusivo
R (rareza local o nacional/global)	Ninguno de los siguientes criterios: - Rango pequeño (dos cuadrículas UTM 10 x 10 o dos provincias) - Baja abundancia (3 o menos individuos capturados en todas las muestras) - Elevada especificidad de hábitat (máximo de dos hábitats tipo)	Uno de los criterios listados previamente	Dos de los criterios listados previamente	Todos los criterios listados previamente
P	Última captura entre 1998 y 2002	Última captura entre 1992 y 1997	Última captura entre 1986 y 1991	Última captura entre 1981 y 1985
HR	Valor de rareza de los hábitats tipo (media) entre 0 y 0.75	Valor de rareza de los hábitats tipo (media) entre >0.75 - 1.50	Valor de rareza de los hábitats tipo (media) entre >1.50 - 2.25	Valor de rareza de los hábitats tipo (media) entre >2.25 - 3
HL	Valor de vulnerabilidad de los hábitats tipo (media) entre 0 y 1	Valor de vulnerabilidad de los hábitats tipo (media) entre >1 y 2	Valor de vulnerabilidad de los hábitats tipo (media) entre >2 y 3	Valor de vulnerabilidad de los hábitats tipo (media) entre >3 y 4

a) Evaluación a nivel local

El nivel local viene referido a unidades administrativas por debajo del país, tal como provincias o demarcaciones equivalentes (y que en el presente estudio hace referencia a provincias españolas). Las variables incluidas en el análisis (Tabla 2) fueron:

i. Distribución general (GD)

Se distinguieron cinco tipos de distribución general de acuerdo a Ribera *et al.* (1998).

La puntuación más alta se otorgó a aquellas especies con un rango geográfico más restringido. Los rangos de distribución, de mayor a menor extensión, fueron los siguientes:

- a. Especies trans-ibéricas: aquellas presentes en Europa al norte de los Pirineos, la Península Ibérica y el norte de África.
- b. Especies ibero-africanas: presentes en el Norte de África y algunas áreas de la Península Ibérica pero no al Norte de los Pirineos.
- c. Especies ibero-europeas: presentes en Europa al Norte de los Pirineos y en algunas áreas de la Península Ibérica, pero no en el Norte de África.
- d. Especies de distribución disyunta: presentes en algunas áreas de la Península Ibérica y en algunas áreas en el Este de la región mediterránea, pero no en Europa al Norte de los Pirineos.
- e. Endemismos ibéricos: aquellas presentes sólo en la Península Ibérica, incluyendo la cara Norte de los Pirineos (y algunas áreas en el extremo Sur de Francia, en algunos casos).

ii. Endemicidad (E)

Se distinguieron cinco tipos de endemismos dentro de las especies endémicas de la Península Ibérica, siguiendo a Ribera *et al.* (1998) y Millán *et al.* (2002). Nuevamente, los valores más altos fueron dados a aquellas especies con el rango geográfico más restringido. Los tipos de endemismo fueron:

- a. No estrictos: presentes en la Península Ibérica y la cara Norte de los Pirineos, y/o algunas áreas en el extremo Sur de Francia.
- b. General: presentes sólo en la Península Ibérica pero con amplia distribución dentro de la misma.
- c. Sureste: presentes sólo en la Cuenca terciaria del río Guadalquivir, con todas las cordilleras Béticas (incluyendo la Sierra de Alcaraz en Albacete), y el Suroeste de la Península en algunos casos
- d. Exclusivos: presentes sólo en una de las dos provincias estudiadas (Albacete o Murcia).

iii. Rareza (R)

Como apuntó Gaston (1994), la rareza, expresada en términos de abundancia u ocupación, es indudablemente el mayor determinante del riesgo de extinción de una especie a la escala a la que la misma está reconocida como rara. Así, se realizó un análisis de rareza basado en el esquema propuesto por Rabinowitz (1988), que considera tres tipos diferentes de rareza: rareza de ocupación, rareza de individuos dentro de áreas (rareza de densidad o demográfica), y especificidad de hábitat. En general, podemos afirmar que especies con un rango geográfico restringido, con baja abundancia y que parecen asociadas a un estrecho espectro de hábitats, son más vulnerables a la extinción que aquellas ampliamente distribuidas, abundantes y generalistas para el hábitat.

El área de ocupación de las especies fue cuantificada a partir del número de cuadrículas UTM de 10x10 km dentro de la región, considerándose como “pequeña” cuando la especie aparece en un máximo de dos cuadrículas. La abundancia local se evaluó a partir del número de individuos por muestra. Así, las especies para las que no se capturaron más de tres individuos en ninguna de las muestras fueron consideradas como “poco abundantes”. El grado de especificidad de hábitat fue determinada sobre la base del número de hábitats tipo distintos en los que aparece la especie. Las especies fueron consideradas con elevada especificidad de hábitat cuando aparecieron en un máximo de dos hábitats tipo.

iv. Persistencia (P)

La persistencia de cada especie fue evaluada como su continuidad a lo largo del tiempo en el área de estudio, siendo determinada a partir de la fecha de la última captura en la provincia considerada. Para ello, el periodo de tiempo que cubre el conjunto de datos fue dividido en cuatro intervalos de cinco años cada uno. Partiendo de la idea de que aquellas especies no capturadas en años recientes podrían ser muy raras o estar sus poblaciones en declive, las puntuaciones más altas se otorgaron a las especies capturadas sólo en los intervalos de tiempo más antiguos. Así, esta variable puede ofrecer información adicional de la vulnerabilidad de una determinada especie.

v. Rareza del hábitat (HR)

Algunos hábitats tipo son más raros que otros, y por tanto aquellas especies que dependen de estos hábitats escasos correrán un mayor riesgo. Así, la rareza del hábitat fue considerada entendiéndose que las especies restringidas a hábitats localmente escasos son más vulnerables a la extinción local. La rareza de los hábitats se evaluó a partir del número de cuadrículas UTM 10 x10 km en las que los distintos hábitats tipo están presentes en el área de estudio, tomando valores de 0 a 3: (0) > 10 cuadrículas; (1) 5-10 cuadrículas; (2) 2-4 cuadrículas; (3) 1 cuadrícula (Tabla 3).

Después de puntuar cada hábitat tipo de acuerdo a su rareza, el paso siguiente fue puntuar a las especies en función de los hábitats tipo en los que aparecen. Para cada especie, la puntuación de rareza de hábitat fue calculada como el valor medio de todos los hábitats tipo en los que aparece (suma de puntuaciones de rareza para cada hábitat dividido entre el número de hábitats). Estos valores fueron agrupados en cuatro categorías, puntuadas de 0 a 3. De esta forma, aquellas especies detectadas en los hábitats tipo más raros recibieron la puntuación más alta.

Como la rareza de hábitat es de poca importancia en especies generalistas para el hábitat, sólo se consideró este criterio para aquellas especies que aparecen en un máximo de tres hábitats tipo, siendo otorgada directamente una puntuación de 0 a aquellas especies que aparecen en más de tres hábitats.

Tabla 3. Valores de rareza de los hábitats tipo estudiados en el área de estudio.

Código	Hábitats tipo	Provincia:		Murcia	
		Albacete	Albacete	Murcia	Murcia
		Nº cuadrículas	Valor de rareza	Nº cuadrículas	Valor de rareza
1	Arroyos de cabecera	21	0	6	1
2	Arroyos de vega media	21	0	18	0
3	Ríos	9	1	6	1
4	Tramos de río influidos por embalses	7	1	4	2
5	Arroyos y ríos eutrofizados	2	2	6	1
6	Arroyos salinos	4	2	25	0
7	Fuentes	13	0	13	0
8	Canales de riego	2	2	5	1
9	Embalses	4	2	5	1
10	Balsas de riego	3	2	6	1
11	Lagunas kársticas	4	2	–	–
12	Lagunas endorreicas	7	1	–	–
13	Pozas, charcas y otros humedales	4	2	24	0
14	Salinas interiores	1	3	5	1
15	Tramos de río canalizados	–	–	4	2
16	Arrozales	–	–	2	2
17	Salinas costeras	–	–	5	1
18	Rocks pools	–	–	1	3

vi. Pérdida de hábitat (HL)

Especies que otrora fueron comunes pueden llegar a ser raras o vulnerables a causa de la pérdida o fragmentación de su hábitat, por lo que el grado de influencia antrópica sobre las especies fue incluido también en el análisis. Para cada especie, la vulnerabilidad del hábitat a la desaparición o degradación se evaluó a partir de los impactos derivados de la actividad humana que sufren los hábitats tipo en los que aparecen las especies. Los impactos considerados se englobaron en cuatro tipos principales:

A. Infraestructuras: aquellos impactos producidos por alteraciones del cauce, como dragado y canalización, roturaciones, urbanización y otras obras de infraestructura.

B. Agrícola: aquellos impactos derivados de la actividad agrícola, tales como roturación de tierras para cultivos, derivación de aguas para riego, contaminación difusa por pesticidas, etc.

C. Vertidos: vertidos al cauce del río, ya sean de redes de saneamiento o industrias.

D. Otros impactos: en este último grupo se engloban el resto de impactos, tales como aquellos derivados del turismo, presencia de especies alóctonas, pastoreo, etcétera.

Para evaluar los impactos que sufren cada uno de los hábitats tipo considerados, se estudiaron, a través de datos de campo y revisión bibliográfica, los impactos que sufren las estaciones de muestreo prospectadas. Se consideró que un determinado impacto amenaza a un hábitat tipo concreto, cuando un número considerable (más de la mitad) de sistemas acuáticos de la zona de estudio correspondientes a ese hábitat presentan ese impacto. A partir del número de impactos (A, B, C y/o D) de cada hábitat tipo se ha evaluado el grado de amenaza que sufren cada uno de ellos, otorgándoseles una puntuación de vulnerabilidad: (0) no impactado; (1) un tipo de impacto; (2) dos tipos de impacto; (3) tres tipos de impacto; (4) cuatro tipos de impacto. Algunos hábitats tipo (ríos influidos por embalses, arroyos y ríos eutrofizados, acequias y canales de riego, embalses, balsas de riego y estanques artificiales, y ríos encauzados) no se consideraron en el análisis debido a que son sistemas creados por el hombre que no pueden considerarse como amenazados o en regresión (Tabla 4).

Tabla 4. Valores de vulnerabilidad de los hábitats tipo en el área de estudio. Sólo se incluyen aquellos hábitats tipo vulnerables a los impactos antrópicos (ver texto).

Código	Hábitats tipo	Provincia: Albacete		Murcia	
		Impactos ^a	Valor de vulnerabilidad	Impactos ^a	Valor de vulnerabilidad
1	Arroyos de cabecera	O	1	A	1
2	Arroyos de vega media	A, P	2	I, A, O	3
3	Ríos	I, A, P, O	4	I, A, P, O	4
6	Arroyos salinos	I, A, P	3	I, A, P, O	4
7	Fuentes	I, A	2	A	1
11	Lagunas kársticas	A	1	–	–
12	Lagunas endorreicas	A, P, O	3	–	–
13	Pozas, charcas y otros humedales	A, O	2	A, O	2
14	Salinas interiores	O	1	O	1
16	Arrozales	–	–	I, O	2
17	Salinas costeras	–	–	O	1
18	Rocks pools	–	–	O	1

^a Códigos: I: infraestructuras; A: Agricultura; P: Vertidos; O: Otros

El siguiente paso fue asociar esa amenaza del hábitat a cada una de las especies, en función del/os hábitat/s en los que aparece cada especie, que se ha denominado pérdida de hábitat (HL). Esta valoración de las especies en función de la amenaza de los hábitats en los que aparecen, se realiza sumando el valor de amenaza de los hábitats tipo ocupados por la especie y dividiendo por el total de hábitats tipo. Agrupando estos valores en 4 clases, cada especie puntúa, en función de los impactos que sufren sus hábitats tipo, 0, 1, 2 o 3. Así, aquellas especies que aparecen en los hábitats tipo más amenazados recibieron la puntuación más alta. Al igual que ocurría con la rareza del hábitat, sólo se ha considerado la pérdida del hábitat para aquellas especies que aparecen en un máximo de tres hábitats tipo

distintos.

b) Evaluación a nivel nacional y global

Para la evaluación nacional y global, sólo se tomaron en cuenta las especies endémicas restringidas al sureste de la Península Ibérica que aparecen en el área de estudio, ya que son las especies potencialmente más amenazadas.

A ambos niveles, las variables consideradas fueron las mismas que las empleadas a escala local, aunque algunas fueron modificadas de acuerdo a un contexto nacional y global. En consecuencia, los datos utilizados vinieron ahora referidos a la población global de los taxones. La bibliografía básica utilizada para determinar la distribución de las especies fue tomada de las listas ibéricas por provincias (Montes y Soler, 1986; Rico *et al.*, 1990; Valladares y Montes, 1991; Rico, 1997; Valladares y Ribera, 1999), y de trabajos específicos (ver Tabla 5).

Las variables Distribución general (GD) y Endemicidad (E), definidas para el análisis a escala local, se adoptaron inalteradas, y las especies se puntuaron para ambas variables de la misma manera.

La variable Rareza (R) fue aplicada a la población global de la especie, incluyendo así la rareza de ocupación, la rareza demográfica y la especificidad de hábitat. Ahora, el área de ocupación de la especie fue cuantificada como el número de provincias españolas en las que aparece, considerándose como “pequeña” cuando la especie aparece en un máximo de dos provincias (en esta ocasión no se utilizó el número de cuadrículas UTM 10 x 10 km debido a que no se dispone de este tipo de información para los coleópteros acuáticos de la Península Ibérica). La abundancia local se evaluó a partir del número de individuos en cada muestra o cita bibliográfica. Así, las especies para las que no se capturó más de tres individuos en ninguna de las muestras o citas fueron consideradas como “poco abundantes”. El grado de especificidad de hábitat fue determinada sobre la base del número de hábitats tipo distintos en los que aparece la especie. De nuevo, las especies fueron consideradas con elevada especificidad de hábitat cuando aparecieron en un máximo de dos hábitats tipo.

Tabla 5. Datos y fuentes bibliográficas utilizadas para definir las puntuaciones de la variable Rareza (número de provincias, abundancia relativa y preferencias para el hábitat tipo) y la variable Persistencia (última captura) para los endemismos ibéricos encontrados en el área de estudio y restringidos al sureste de la Península Ibérica.

Taxón	Nº provincias	Abundancia relativa > 3	Hábitats tipo ^b	Última captura	Fuente ^c
<i>Deronectes depressicollis</i> (Rosenhauer, 1856)	5	Sí	1, 2	2003	1 *
<i>Hydrochus nooreinus</i> Henegouwen & Sáinz-Cantero, 1999	5	Sí	1, 7	2002	2, 3, 4 *
<i>Hydraena manfredjaechi</i> Delgado & Soler, 1991	2	Sí	1, 2	1997	5, 6 *
<i>Hydraena bolivari</i> d'Orchymont, 1936	4	Sí	1, 7	1997	7, 8, 9, 10, 11 *
<i>Hydraena mecai</i> Millán & Aguilera, 2000 ^a	1	No	1	1998	12 *
<i>Hydraena servilia</i> d'Orchymont, 1936	4	Sí	1, 2	2002	5, 7, 13 *
<i>Limnebius hispanicus</i> d'Orchymont, 1941	6	Sí	7	1998	3, 8, 14 *
<i>Limnebius millani</i> Ribera & Hernando, 1998 ^a	1	Sí	1, 7	2002	15 *
<i>Ochthebius bellieri</i> Kuwert, 1887	2	Sí	1, 2	1997	8, 11, 16, 17 *
<i>Ochthebius irenae</i> Ribera & Millán, 1999 ^a	1	Yes	12	2002	18, 19 *
<i>Ochthebius albaceticus</i> Ferro, 1984	2	Yes	1	1991	20, 21 *
<i>Ochthebius glaber</i> Montes & Soler, 1988	5	Yes	6	2003	19, 21, 22, 23 *
<i>Ochthebius semotus</i> d'Orchymont, 1942	3	Yes	2	2002	21, 24 *
<i>Ochthebius montesi</i> Ferro, 1984	4	Yes	6	2003	3, 20, 21, 25 *
<i>Ochthebius tudmirensis</i> Jäch, 1997	4	Yes	1, 7, 12, 14	2003	26 *

^a Especie endémica de la provincia de Albacete.

^b Hábitats tipo en los que aparece la especie: códigos como en la Tabla 1.

^c Literatura citada: 1, Fery y Brancucci, 1997; 2, Berge Henegouwen y Sáinz-Cantero, 1992; 3, Sáinz-Cantero y Aceituno-Castro, 1997; 4, Ribera *et al.*, 1999; 5, Delgado *et al.*, 1992; 6, Delgado y Soler, 1991; 7, d'Orchymont, 1936; 8, Balfour-Browne, 1978; 9, Lagar y Fresneda, 1990; 10, Sáinz-Cantero y Alba-Tercedor, 1991; 11, Ribera *et al.*, 1997; 12, Millán y Aguilera, 2000; 13, Castro, 1999; 14, d'Orchymont, 1941; 15, Ribera y Hernando, 1998; 16, Jäch, 1990; 17, Valladares y Montes, 1999; 18, Ribera y Millán, 1999; 19, Millán *et al.*, 2002; 20, Ferro, 1984; 21, Delgado y Soler, 1997; 22, Montes y Soler, 1988; 23, Castro, 1997; 24, Jäch, 2001; 25, Sáinz-Cantero, 1997; 26, Jäch, 1997; * Datos de campo.

La Persistencia (P) fue determinada a partir de la fecha de la última captura (incluyendo citas bibliográficas) de cada especie (referida ahora a la población global). De igual manera, se consideró el intervalo de tiempo al que pertenece esa última captura para otorgar la puntuación de persistencia.

La Rareza del hábitat (HR) se evaluó de acuerdo a la distribución del hábitat a escala nacional y global, basada en una estimación a partir de revisión bibliográfica y de la experiencia de campo. La puntuación de rareza para los distintos hábitats tomó valores de 0 a 3: (0) muy común; (1) moderadamente común; (2) moderadamente raro; (3) extremadamente raro. Nuevamente, para cada especie, la puntuación de rareza del hábitat se calculó como el valor medio de rareza de los hábitats tipo en los que aparece. Estos valores fueron agrupados en cuatro categorías, puntuando de 0 a 3.

Del mismo modo, la Pérdida de hábitat (HL) se evaluó de acuerdo al número de tipos diferentes de impactos que sufren los hábitats de la especie. Los impactos considerados fueron los mismos que para la evaluación local, aunque ahora en un contexto nacional y global.

RESULTADOS

Vulnerabilidad de las especies a escala local

Las 209 especies de la provincia de Albacete y las 145 especies de la provincia de Murcia fueron evaluadas y listadas en orden decreciente de prioridad de conservación a nivel local (Apéndices 1 y 2). Del total de 209 especies de coleópteros acuáticos evaluados para la provincia de Albacete, ninguna fue identificada como perteneciente a la clase de vulnerabilidad *extrema*. Diez especies (4.8%) fueron clasificadas como con *alta vulnerabilidad*, 44 taxones (21%) como *media*, y las 155 especies restantes (74.2%) fueron asignadas a la clase de *baja vulnerabilidad*. La Tabla 6 muestra las especies de elevada prioridad de conservación de la provincia de Albacete (puntuación de vulnerabilidad de 9 o superior), todas las cuales pertenecen a la familia Hydraenidae.

Tabla 6. Especies de la provincia de Albacete con elevada prioridad de conservación a escala local (valor de vulnerabilidad mayor o igual que 9), y puntuaciones para las variables^a usadas en el análisis de vulnerabilidad.

Taxón	GD	E	R	P	HR	HL	VS
<i>Ochthebius irenae</i> Ribera & Millán, 1999	3	3	2	0	1	1	10
<i>Ochthebius albacetinus</i> Ferro, 1984	3	2	3	2	0	0	10
<i>Ochthebius glaber</i> Montes & Soler, 1988	3	2	2	0	1	2	10
<i>Hydraena afussa</i> d'Orchymont, 1936	3	1	3	1	0	1	9
<i>Hydraena bolivari</i> d'Orchymont, 1936	3	2	2	1	0	1	9
<i>Hydraena mecai</i> Millán & Aguilera, 2000	3	3	3	0	0	0	9
<i>Limnebius hispanicus</i> d'Orchymont, 1941	3	2	3	0	0	1	9
<i>Limnebius millani</i> Ribera & Hernando, 1998	3	3	2	0	0	1	9
<i>Ochthebius bellieri</i> Kuwert, 1887	3	2	2	1	0	1	9
<i>Ochthebius semotus</i> d'Orchymont, 1942	3	2	3	0	0	1	9

^a Códigos: GD, Distribución general; E, Endemicidad; R, Rareza; P, Persistencia; HR, Rareza del hábitat; HL, Pérdida de hábitat; VS, Puntuación de vulnerabilidad.

De igual modo, de las 45 especies de escarabajos acuáticos encontrados en la provincia de Murcia, ninguna de ellas fue incluida en la clase de *extrema* vulnerabilidad a escala local. Doce taxones (8.3%) fueron identificados como con *alta vulnerabilidad*, 35 especies (24.1%) como *moderada*, y las 98 restantes (67.6%) fueron asignadas a la clase de *baja vulnerabilidad*. Las especies de elevada prioridad de conservación de Murcia se presentan en la Tabla 7. Las familias con el mayor número de especies

prioritarias fueron Elmidae e Hydraenidae con tres especies cada una, seguidas por Hydrochidae y Helophoridae, con dos especies.

Tabla 7. Especies de la provincia de Murcia con elevada prioridad de conservación a escala local (valor de vulnerabilidad mayor o igual que 9), y puntuaciones para las variables^a usadas en el análisis de vulnerabilidad.

Taxón	GD	E	R	P	HR	HL	VS
<i>Oulimnius tuberculatus perezii</i> Crotch in Sharp, 1872	3	0	3	3	1	3	13
<i>Hydraena exasperata</i> d'Orchymont, 1935	3	1	3	3	0	2	12
<i>Nebrioporus b. cazorlensis</i> (Lagar, Fresneda & Hernando, 1987)	3	1	3	3	1	0	11
<i>Ochthebius montesi</i> Ferro, 1984	3	2	2	1	0	3	11
<i>Ochthebius glaber</i> Montes & Soler, 1988	3	2	1	0	0	3	9
<i>Hydrochus nooreinus</i> Henegouwen & Sáinz-Cantero, 1999	3	2	3	0	1	0	9
<i>Elmis aenea</i> (P.H. Müller, 1806)	1	0	3	3	0	2	9
<i>Helophorus brevivalpis</i> Bedel, 1881	1	0	3	3	0	2	9
<i>Hydrochara flavipes</i> (Steven, 1808)	0	0	3	3	2	1	9
<i>Helophorus alternans</i> Gené, 1836	0	0	3	3	0	3	9
<i>Limnius opacus</i> P.H. Müller, 1806	0	0	2	3	1	3	9

^a Códigos: GD, Distribución general; E, Endemicidad; R, Rareza; P, Persistencia; HR, Rareza del hábitat; HL, Pérdida de hábitat; VS: Puntuación de vulnerabilidad.

El hábitat tipo más raro en la provincia de Albacete fueron las salinas interiores, mientras el más vulnerable fueron los arroyos de vega media, seguidos por los arroyos salinos y las lagunas endorreicas. Por otro lado, los rock pools fueron el hábitat tipo más raro en la provincia de Murcia, mientras los arroyos de vega media y los arroyos salinos fueron los más vulnerables (Tablas 3 y 4).

Vulnerabilidad de las especies a escala nacional y global

Las puntuaciones, a escala nacional y global, para las seis variables estudiadas en las quince especies cuya distribución se encuentra restringida al sureste de la Península Ibérica y que aparecen en el área de estudio se presentan en las Tablas 8 y 9. Estas especies fueron encontradas principalmente en tres hábitats tipo: arroyos de cabecera, arroyos de vega media y fuentes. Sólo unas pocas especies aparecen en arroyos salinos y lagunas endorreicas. Como los arroyos y fuentes son hábitats muy comunes en un contexto nacional y global, las especies que aparecen en estos hábitats fueron puntuadas con un valor de 0 en la variable Rareza del hábitat (HR) a ambas escalas. Sin embargo, los arroyos salinos o ramblas son ecosistemas raros en la Península Ibérica, y extremadamente raros en un marco de referencia global (Moreno *et al.*, 1996; 1997). Por tanto, las especies que aparecen en arroyos salinos fueron puntuadas con los valores de 2 y 3 en dicha variable a escala nacional y global, respectivamente. De igual modo, a las especies encontradas en lagunas endorreicas

se les otorgó una puntuación de 2 y 3 en Rareza del hábitat a escala nacional y global, respectivamente, por entenderse que este hábitat tipo es raro y extremadamente raro a esos niveles.

Tabla 8. Puntuación para las variables^a usadas en el análisis de vulnerabilidad a escala nacional para las especies restringidas al sureste de la Península Ibérica encontradas en el área de estudio.

Taxón	GD	E	R	P	HR	HL	VS	Categoría
<i>Ochthebius irenae</i>	3	3	2	0	2	2	12	Alta
<i>Ochthebius glaber</i>	3	2	1	0	2	3	11	Alta
<i>Ochthebius montesi</i>	3	2	1	0	2	3	11	Alta
<i>Ochthebius albaceticus</i>	3	2	2	2	0	0	9	Alta
<i>Hydraena mecai</i>	3	3	3	0	0	0	9	Alta
<i>Limnebius millani</i>	3	3	2	0	0	0	8	Media
<i>Ochthebius bellieri</i>	3	2	2	1	0	0	8	Media
<i>Hydraena manfredjaechi</i>	3	2	2	1	0	0	8	Media
<i>Limnebius hispanicus</i>	3	2	2	0	0	0	7	Media
<i>Hydraena bolivari</i>	3	2	1	1	0	0	7	Media
<i>Ochthebius semotus</i>	3	2	1	0	0	0	6	Media
<i>Deronectes depressicollis</i>	3	2	1	0	0	0	6	Media
<i>Hydrochus nooreinus</i>	3	2	1	0	0	0	6	Media
<i>Hydraena servilia</i>	3	2	1	0	0	0	6	Media
<i>Ochthebius tudmirensis</i>	3	2	0	0	0	0	5	Media

^a Códigos: GD, Distribución general; E, Endemicidad; R, Rareza; P, Persistencia; HR, Rareza del hábitat; HL, Pérdida de hábitat; VS: Puntuación de vulnerabilidad.

Para la variable Pérdida de hábitat (HL), los arroyos y fuentes fueron considerados como hábitats poco vulnerables tanto a escala nacional como global. En consecuencia, las especies encontradas en ellos fueron puntuadas con el valor de 0 a ambas escalas. Por el contrario, las especies que aparecen en arroyos salinos fueron puntuadas con 3 a ambos niveles (nacional y global) debido a que estos hábitats están fuertemente impactados tanto en la Península Ibérica como en la región mediterránea (Gagneur, 1987; Vidal-Abarca *et al.*, 2000). De igual forma, a las especies encontradas en lagunas endorreicas se les otorgó la puntuación de 2, tanto a escala nacional como global, porque este hábitat tipo está también impactado a ambos niveles (Green y Anstey, 1992; Millán *et al.*, 2001 a y b).

Tabla 9. Puntuación para las variables^a usadas en el análisis de vulnerabilidad a escala global para las especies restringidas al sureste de la Península Ibérica encontradas en el área de estudio.

Taxón	GD	E	R	P	HR	HL	VS	Categoría
<i>Ochthebius irenae</i>	3	3	2	0	3	2	13	Alta
<i>Ochthebius glaber</i>	3	2	1	0	3	3	12	Alta
<i>Ochthebius montesi</i>	3	2	1	0	3	3	12	Alta
<i>ochthebius albacetinus</i>	3	2	2	2	0	0	9	Alta
<i>Hydraena mecai</i>	3	3	3	0	0	0	9	Alta
<i>Limnebius millani</i>	3	3	2	0	0	0	8	Media
<i>Ochthebius bellieri</i>	3	2	2	1	0	0	8	Media
<i>Hydraena manfredjaechi</i>	3	2	2	1	0	0	8	Media
<i>Limnebius hispanicus</i>	3	2	2	0	0	0	7	Media
<i>Hydraena bolivari</i>	3	2	1	1	0	0	7	Media
<i>Ochthebius semotus</i>	3	2	1	0	0	0	6	Media
<i>Deronectes depresicollis</i>	3	2	1	0	0	0	6	Media
<i>Hydrochus nooreinus</i>	3	2	1	0	0	0	6	Media
<i>Hydraena servilia</i>	3	2	1	0	0	0	6	Media
<i>Ochthebius tudmirensis</i>	3	2	0	0	0	0	5	Media

^a Códigos: GD, Distribución general; E, Endemicidad; R, Rareza; P, Persistencia; HR, Rareza del hábitat; HL, Pérdida de hábitat; VS: Puntuación de vulnerabilidad.

A escala nacional (Tabla 8), cinco especies, todas ellas pertenecientes a la familia Hydraenidae, fueron incluidas en la categoría de *alta vulnerabilidad*: *Ochthebius irenae*, *O. glaber*, *O. montesi*, *O. albacetinus* e *Hydraena mecai*. De igual modo, a escala global (Tabla 9), las mismas cinco especies fueron incluidas en la clase de *alta vulnerabilidad*. Las diez especies restantes fueron asignadas a la categoría de *vulnerabilidad media* a ambos niveles. Los valores de vulnerabilidad más altos fueron para *O. irenae*, *O. glaber* y *O. montesi*, las cuales deberían ser consideradas como especialmente vulnerables, debido a la rareza de los hábitats en los que aparecen, la vulnerabilidad de estos sistemas y la distribución restringida de las mismas (las tres son especies endémicas restringidas al sureste de la Península).

Entre las especies con elevada prioridad de conservación a escala nacional y global, pueden ser distinguidos dos grupos de especies vulnerables: un primer grupo incluiría aquellos taxones que presentan varias poblaciones las cuales aparecen en hábitats amenazados de forma inmediata. Este es el caso de *O. glaber*, *O. irenae* y *O. montesi*. Un segundo grupo estaría formado por especies muy raras geográficamente, las cuales son conocidas de una o pocas localidades (menos de cinco) pero que aparecen en hábitats no amenazados de forma inmediata. Este es el caso de *H. mecai* y *O. albacetinus*.

DISCUSIÓN

El sistema para evaluar la vulnerabilidad de las especies desarrollado en este trabajo es ciertamente arbitrario. No obstante, todos los criterios para evaluar prioridades de conservación y asignar puntuaciones para esos criterios son de alguna forma arbitrarios (e.g. Millsap *et al.*, 1990; Mace y Lande, 1991; Cofré y Marquet, 1999; IUCN, 2001). Aunque se han propuesto muchas variables para evaluar el estado de conservación de las especies (ver Munton, 1987; Burgman *et al.*, 1993), la distribución restringida, la especificidad de hábitat, la rareza demográfica y la persistencia, junto con la fragilidad y la rareza del hábitat, pueden ser buenos indicadores del grado de amenaza de grupos de organismos menos conspicuos como los escarabajos acuáticos. Estas variables fueron elegidas a partir de la experiencia con este grupo de insectos, pero también en base a una revisión de métodos designados por otros autores (e.g. Millsap *et al.*, 1990; Mace y Lande, 1991; Cofré y Marquet, 1999; Andreone y Luiselli, 2000).

Un problema potencial con el tipo de aproximación desarrollado aquí ha sido, en algunos casos, la falta de independencia entre variables (especialmente entre la rareza demográfica y la especificidad de hábitat), de forma que aquellas especies con sólo una población conocida en el área de estudio presentará necesariamente elevada especificidad de hábitat. De igual modo, todavía existen pocos datos sobre persistencia (especialmente) y rareza del hábitat a escala nacional e internacional, y por tanto, los resultados correspondientes no son tan válidos como los referidos al nivel local. Consecuentemente, estos resultados deben tomarse como una aproximación inicial al problema, y como un punto de partida para investigaciones adicionales.

Aunque los valores teóricos de vulnerabilidad total para las especies varía entre 0 y 18, todo parece indicar que es poco probable encontrar especies con valores próximos a 18. Así, en el presente análisis no se registraron especies con *vulnerabilidad extrema* (más de 13) en el área de estudio. Por otro lado, valores entre 9 y 13 parecen ser un umbral más realista para separar a las especies más vulnerables.

Todas las especies con elevada prioridad de conservación en la provincia de Albacete son raras a escala nacional y global. Así, las diez especies son endémicas de la Península Ibérica y la mayoría de ellas presentan una distribución restringida, además, al sureste de la misma. Gran parte de estas especies aparecen en arroyos de cabecera y fuentes de altitud moderada, los cuales son hábitats relativamente inalterados en esta región. En contraste, en la provincia de Murcia, la mayoría de las especies de elevada prioridad son especies comunes a nivel nacional, algunas de las cuales presentan una distribución amplia en la Península Ibérica (Ribera *et al.*, 1998) a pesar de ser especies localmente escasas. Este es el caso de especies pertenecientes a la familia Elmidae (especialmente *Elmis aenea*) y otras especies como *Hydrochara flavipes*, *Helophorus alternans* o *H. brevipalpis*, las cuales son comunes y muy abundantes en la Península y presentan un potencial elevado de dispersión y

colonización. Estos resultados podrían deberse a la rareza y vulnerabilidad de los hábitats de estas especies en Murcia. Así, aparecen de forma habitual en arroyos de cabecera o en segmentos poco alterados de arroyos de vega media y ríos, los cuales son los hábitats más escasos y vulnerables en esta provincia debido a la fuerte presión humana y las características áridas de esta región. Por tanto, el potencial indicador de estas especies para la protección del hábitat a escala local debería tomar más importancia que su posible inclusión en listas de especies amenazadas.

De acuerdo a la evaluación realizada a escala nacional e internacional, todas las especies de mayor prioridad pertenecen a la familia Hydraenidae. Cinco de las quince especies endémicas de la Península Ibérica pueden ser consideradas como amenazadas a escala nacional y global: *O. irenae*, *O. glaber*, *O. albacetinus*, *H. mecai* y *O. montesi*. Éstas, por tanto, son las especies hacia las que deberían ir dirigidos los esfuerzos de conservación de forma más urgente. En España, esta necesidad de protección legal podría plasmarse en su inclusión en el Catálogo Nacional de Especies Amenazadas, en la categoría de “sensible a la alteración de su hábitat” y en el Apéndice II de la Directiva Hábitats (Directiva 92/43/CEE) “Especies de animales y plantas de interés comunitario cuya conservación requiere la designación de áreas especiales de conservación”.

Entre las especies de alta vulnerabilidad, todas menos dos (*H. mecai* y *O. albacetinus*) son sólidos candidatos para ser incluidos en la lista roja de la UICN. Aunque *H. mecai* es una especie escasa y, aparentemente, muy localizada en cuanto a su distribución, ha sido descrita muy recientemente en una localidad de la Sierra de Alcaraz, en la provincia de Albacete (Millán y Aguilera, 2000) y existe poca información disponible sobre su distribución. Por otro lado, *O. albacetinus* es conocida de unas pocas localidades en la Sierra de Segura y la Sierra de Alcaraz, en las provincias de Albacete y Jaén. Así, el área de ocupación de esta especie es muy reducida. Sin embargo, *O. albacetinus* aparece en arroyos de cabecera, un hábitat común y relativamente inalterado en el área de distribución de la especie.

Por el contrario, *O. glaber*, *O. irenae* y *O. montesi*, teniendo también rangos geográficos restringidos, aparecen en ecosistemas raros y amenazados (arroyos hipersalinos, lagunas endorreicas y arroyos costeros hiposalinos, respectivamente) y, por tanto, su inclusión en la lista roja de la UICN parece plenamente justificada. Así, se propone su inclusión en la categoría “Vulnerable” bajo el criterio B2 (área de ocupación estimada menor de 2000 km²) y subcriterios a (severamente fragmentada o conocida de existir en no más de 10 localidades) y b(iii) (decline continuado en área, extensión y/o calidad del hábitat): VU B2ab(iii).

O. glaber es conocida de unas pocas áreas en el Sur y Este de la Península Ibérica, donde se distribuye entre siete provincias españolas: Albacete, Murcia, Córdoba, Alicante, Jaén, Valencia y Cádiz, apareciendo en arroyos hipersalinos (generalmente asociados con substratos margosos) con salinidades de hasta 120 gL⁻¹ y, ocasionalmente, alcanzando incluso los 300 gL⁻¹. Muchos arroyos salinos e hipersalinos están desapareciendo a causa de la sobre-explotación de acuíferos, la

contaminación difusa, y la dulcificación de sus aguas como consecuencia de la actividad agrícola (Gagneur, 1987; Martínez-Fernández *et al.*, 2000; Pulido-Bosch *et al.*, 2000; Vidal-Abarca *et al.*, 2000). El área de ocupación conocida de esta especie (calculada a partir de la suma de cuadrículas UTM 10 x 10 km ocupadas) es alrededor de 1100 km².

O. irenae es conocida de sólo dos localidades. El área de ocupación de esta especie está en torno a 200 km², restringida además a la provincia de Albacete. La principal población (con varias decenas de individuos capturados) de esta especie ha sido encontrada en una laguna endorreica con aguas mesosalinas (Salinas de Pinilla). También han sido capturados dos ejemplares en una laguna kárstica de agua dulce (Laguan del Alboraj), aunque esta captura debe considerarse como esporádica. La continua pérdida de lagunas mesosalinas en la provincia de Albacete (Millán *et al.*, 2001 a y b; 2002) y, en general, en la Península Ibérica (Cirujano, 1990; Green y Anstey, 1992) deben tomarse en cuenta a la hora de evaluar la vulnerabilidad de esta especie. Por ejemplo, el 60% de las lagunas endorreicas de Andalucía (Sur de España) han sido drenadas en el pasado siglo (Green y Hughes, 1996).

O. montesi es conocida de unas pocas áreas en el Sur y Sureste de la Península Ibérica. Estas poblaciones están distribuidas entre cuatro provincias españolas: Murcia, Alicante, Málaga y Almería, donde aparecen principalmente en arroyos salinos (generalmente en aguas hiposalinas y mesosalinas cerca de la costa). El área de ocupación de la especie está en torno a los 700 km². Además, su hábitat está amenazado de la misma manera que el hábitat de *O. glaber*.

Por otro lado, entre las especies de vulnerabilidad media, *Limnebius millani*, *Ochthebius bellieri* y *Hydraena manfredjaechi*, son buenos ejemplos de especies potencialmente vulnerables con distribuciones restringidas.

Como Ribera (2000) ha apuntado, la inclusión de especies poco conspicuas en listas rojas es cuestionable, ya que estas especies son poco adecuadas para el desarrollo de acciones especiales de conservación. Por tanto, la mejor opción sería la adopción de medidas dirigidas a la conservación del hábitat (por ejemplo a través de la Red Natura 2000). Sobre la base de los hábitats tipo que ocupan las especies vulnerables, se desprende que la prioridad más urgente debería darse a la protección efectiva de los hábitats de estas especies. Así, los hábitats prioritarios para la conservación en el sureste de la Península Ibérica son: (i) arroyos de agua dulce de media montaña, (ii) arroyos salinos y (iii) lagunas endorreicas, y por tanto, las acciones de conservación para las especies prioritarias deberían centrarse en estos hábitats. Además, la protección efectiva a escala local (provincia de Murcia) de los géneros *Ochthebius* e *Hydraena* o incluso de la familia Hydraenidae podría educir el problema del pequeño tamaño, la falta de atractivo social y la reducida diversidad morfológica, y puede ser contemplado como un buen complemento a la protección del hábitat.

Debido a que el mundo natural es extremadamente dinámico y nuestro conocimiento sobre la distribución, abundancia y biología básica de las especies y las

comunidades ecológicas es imperfecto, pero continuamente mejorando, cualquier clasificación del *status* de la biodiversidad debe ser vista como hipótesis de trabajo basadas en la mejor información disponible. Estas clasificaciones son reevaluadas continuamente en función de la disponibilidad de nueva información, por ejemplo cuando son descubiertas nuevas poblaciones, o desaparecen poblaciones conocidas, o cuando pasa a estar disponible información más actual o completa sobre el *status* global, las tendencias o las amenazas. Y esto es especialmente cierto en el caso de los insectos, para los que cualquier incremento en el conocimiento de un taxón determinado podría resultar en el cambio de su categoría de amenaza. A este respecto, el análisis desarrollado en este trabajo para los coleópteros acuáticos del sureste de la Península Ibérica debería considerarse como un primer paso en un proceso que debe ser continuo y repetido cuando se disponga de nuevos datos.

Aunque el análisis de vulnerabilidad propuesto requiere aún algunas decisiones basadas en la experiencia de los autores, representa ciertamente un paso significativo hacia un método cuantitativo y objetivo para categorizar especies y poblaciones para conservación, especialmente en el caso de insectos. Además, el análisis aporta algunos datos interesantes sobre las amenazas y las prioridades de conservación de algunos taxones restringidos a la Península Ibérica.

BIBLIOGRAFÍA

Andreone F., Luiselli L. 2000. The Italian batrachofauna and its conservation status: a statistical assessment. *Biological Conservation*, **96**, 197–208.

Balfour–Browne F. 1978. Studies on the Hydraenidae (Coleoptera) of the Iberian Peninsula. *Ciências Biológicas*, **4**, 53–107.

Berge Henegouwen A.L., Sainz–Cantero C.E. 1992. *Hydrochus nooreinus*, a new species from Spain (Coleoptera, Hydrochidae). *Storkia*, **1**, 26–28.

Burgman M.A., Ferson A., Akçakaya H.R. 1993. *Risk assessment in conservation biology*. Chapman and Hall, London.

Castro A. 1997. Coleópteros acuáticos del sur de Córdoba (España) (Haliplidae, Gyrinidae, Noteridae, Dytiscidae, Hydraenidae, Hydrochidae, Helophoridae, Hydrophilidae, Dryopidae y Elmidae). *Zoologica Baetica*, **8**, 49–64.

Castro A. 1999. Nuevos datos faunísticos sobre Hydraenidae Mulsant, 1844 (Coleoptera) de Andalucía (Sur de España). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **23**, 334–336.

Cirujano S. 1990. *Flora y Vegetación de las lagunas y humedales de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses. CSIC. Confederación Española de Estudios Locales. Albacete.

Cofré H., Marquet P.A. 1998. Conservation status, rarity, and geographic priorities for conservation of Chilean mammals: an assessment. *Biological Conservation*, **88**, 1–16.

Delgado J.A., Soler A.G. 1991. A new species of aquatic beetle of the genus *Hydraena* (Subgenus *Haenydra*) from the Iberian Peninsula (Coleoptera: Hydraenidae). *Aquatic Insects*, **13**, 217–222.

Delgado J.A., Soler A.G. 1997. El género *Ochthebius* Leach, 1815 en la cuenca del río Segura (Coleoptera: Hydraenidae). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **21**, 73–87.

Delgado J.A., Millán A., Soler A.G. 1992. El género *Hydraena* Kugelann, 1794 en la cuenca del río Segura. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **16**, 71–81.

d'Orchymont A. 1936. Les *Hydraena* de la Péninsule Ibérique. *Bullettin du Musée Royal d'Histoire Naturelle Belgique 2^a sec.*, **6**, 1–22.

d'Orchymont A. 1941. Palpicornia (Coleoptera). Notes diverses et espèces nouvelles I. *Bullettin du Musée Royal d'Histoire Naturelle Belgique XVII*, **1**, 1–23.

Fery H., Brancucci M. 1997. A taxonomic revision of *Deronectes* Sharp 1882 (Insecta: Coleoptera: Dytiscidae) (part I). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien (B)*, **99**, 217–302.

Ferro G. 1984. Su alcuni *Ochthebius* della fauna spagnola (Coleoptera Hydraenidae) 13. Contributo allo studio degli Hydraenidae. *Bulletin et Annales de la Société Royale Belge d'Entomologie*, **120**, 111–115.

Gagneur J. 1987. Sur la vulnérabilité des écosystèmes aquatiques en Algérie. *T.S.M.–l'Eau*, **82**, 209–212.

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

Gaston K.J., Pressey R.L., Margules C.R. 2002. Persistence and vulnerability: retaining biodiversity in the landscape and in protected areas. *Journal of Biosciences*, **27**, 361–384.

Green A.J., Anstey S. 1992. The status of the White-headed Duck *Oxyura leucocephala*. *Bird Conservation International*, **2**, 185–200.

Green A.J., Hughes B. (Compilers) 1996. Action Plan for the White-headed Duck *Oxyura leucocephala* in Europe. En: *Globally threatened birds in Europe. Action plans* (eds. Heredia B., Rose L., Painter M.), pp. 119–145. Council of Europe Publishing,

Strasbourg.

IUCN 2001. *IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1*. IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Jäch M.A. 1990. Revision of the Palearctic species of the genus *Ochthebius* Leach V. The subgenus *Asiobates* (Coleoptera: Hydraenidae). *Koleopterologische Rundschau*, **60**, 37–105.

Jäch M.A. 1997. Revision of the Palearctic species of the genus *Ochthebius* Leach XIV. Additional notes on the *O. punctatus* group, with description of two new species (Coleoptera: Hydraenidae). *Koleopterologische Rundschau*, **67**, 177–180.

Jäch M.A. 2001. Revision of the Palearctic species of the genus *Ochthebius* XVIII. The European species of the *O. semisericeus* complex (Coleoptera: Hydraenidae). *Entomological problems*, **32**, 45–53.

Lagar A., Fresneda J. 1990. Notas faunísticas y taxonómicas sobre Hydraenidae (Coleo Palpicornia) de la Península Ibérica: descripción de nuevas Hydraena ibéricas. *Bulletin de l'Institut des Sciences Naturelles de Belgique*, **60**, 149–160.

Mace G.M., Lande R. 1991. Assessing extinction threats: toward a reevaluation of IUCN threatened species categories. *Conservation Biology*, **5**, 148–157.

Martínez–Fernández J., Esteve–Selma M.A., Calvo–Sendín J.F. 2000. Environmental and socio–economic interaction in the evolution of traditional irrigate lands. A dynamic system model. *Human Ecology*, **28**, 279–299.

Médail F., Quézel P. 1997. Hot–spots analysis for conservation of plant biodiversity in the Mediterranean basin. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **84**, 112–127.

Mittermeier R.A., Myers N., Thomsen J.B., da Fonseca G.A.B., Olivieri S. 1998. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: Approaches to setting conservation priorities. *Conservation Biology*, **12**, 516–520.

Millán A., Aguilera P. 2000. A new species of *Hydraena* Kugelann from the spring of Fuenfría (Segura basin, SE Spain), a site of special conservation interest (Coleoptera: Hydraenidae). *Koleopterologische Rundschau*, **70**, 61–64.

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2001a. Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos de las lagunas de Albacete (Alboraj, Los Patos, Ojos de Villaverde, Ontalafia y Pétrola). *Sabuco*, **1**, 43–94.

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2001b. Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos de las lagunas y humedales de Albacete

(Lagunas de Ruidera, Salinas de Pinilla, Laguna del Saladar, Laguna del Salobralejo, Lagunas de Corral Rubio, Fuente de Isso y Fuente de Agua Ramos). *Sabuco*, **2**, 167–214.

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2002. *Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos y semiacuáticos de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses. Albacete.

Millán A., Velasco J., Vidal–Abarca M.R., Suárez M.L., Ramírez–Díaz L. 1996. Distribución espacial de los Adepaga acuáticos (Coleoptera) en la cuenca del río Segura (SE de la Península Ibérica). *Limnetica*, **12**, 13–30.

Millsap B.A., Gore J.A., Runde D.E., Cerulean S.I. 1990. Setting priorities for the conservation of fish and wildlife species in Florida. *Wildlife Monographs*, **111**, 1–57.

Montes C., Soler A.G. 1986. *Lista faunística y bibliográfica de los Coleópteros acuáticos Dryopoidea (Dryopidae y Elmidae) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Asociación Española de Limnología, Listas de la Flora y Fauna de las Aguas Continentales de la Península Ibérica N° 3, Madrid.

Montes C., Soler A.G. 1988. A new species of the Genus *Ochthebius* (Subgenus *Calobius*) (Coleoptera: Hydraenidae) from Iberian hypersaline waters. *Aquatic Insects*, **10**, 43–47.

Moreno J.L., Millán A., Suárez M.L., Vidal–Abarca M.R., Velasco J. 1997. Aquatic Coleoptera and Heteroptera assemblages in waterbodies from ephemeral coastal streams ("ramblas") of south–eastern Spain. *Archiv fur Hydrobiologie*, **141**, 93–107.

Moreno J.L., Suárez M.L., Vidal–Abarca M.R. 1996. Valor ecológico de las ramblas como ecosistemas acuáticos singulares. Tomo extraordinario. 125 aniversario de la Real Sociedad Española de Historia Natural, 411–416. Madrid.

Munton P. 1987. Concepts of threat of the survival of species used in red data books and similar compilations. En: *The road to extinction: Problems with categorizing the status of taxa threatened with extinction* (eds. Fitter R., Fitter M.), pp. 71–111. IUCN. Gland, Suiza.

Myer N., Mittermeier R.A., Mittermeier C.G., Da Fonseca G.A.B., Kent J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853–858.

Pulido–Bosch A., Pulido–Leboeuf P., Molina–Sánchez L., Vallejos A., Martín–Rosales W. 2000. Intensive agriculture, wetlands, quarries and water management. A case study (Campo de Dalías, SE Spain). *Environmental Geology*, **40**, 163–168.

Rabinowitz D., Cairns S., Dillon T. 1986. Seven forms of rarity and their frequency in the flora of the British Isles. En: *Conservation biology. The science of scarcity and*

diversity (ed. Soulé M.), pp. 182–204. Sinauer, Mass.

Ribera I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, **92**, 131–150.

Ribera I., Hernando C. 1998. Description of *Limnebius millani* sp.n. (Insecta: Coleoptera: Hydraenidae) from the Sierra de Alcaraz (Southeast Spain). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien Serie B Botanik und Zoologie*, **100**, 199–202.

Ribera I, Hernando C., Aguilera P. 1998. An annotated checklist of the Iberian water beetles (Coleoptera). *Zapateri*, **8**, 43–111.

Ribera I, Hernando C., Aguilera P. 1999. *Hydrochus tariqi* sp.n. from south Spain (Coleoptera: Hydrochidae). *Koleopterologische Rundschau*, **69**, 99–102.

Ribera I., Hernando C., Aguilera P., Millán A. 1997. Especies poco conocidas o nuevas para la fauna ibérica de coleópteros acuáticos (Coleoptera: Dytiscidae, Hydrophilidae, Hydraenidae, Dryopidae). *Zapateri*, **7**, 83–90.

Ribera, I., Millán, A., 1999. Description of *Ochthebius (Asiobates) irenae* sp. n. (Coleoptera: Hydraenidae) from the Iberian Peninsula, with notes on its ecology. *Aquatic Insects* 21(2): 147–152.

Rico E., Pérez L.C., Montes C. 1990. *Lista faunística y bibliográfica de los Hydradephaga (Coleoptera: Haliplidae, Hygrobiidae, Gyrinidae, Noteridae, Dytiscidae) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Asociación Española de Limnología, Listas de la Flora y Fauna de las Aguas Continentales de la Península Ibérica N° 7, Madrid.

Rico E. 1997. Distribución de los Elmidae (Coleoptera: Dryopoidea) en la Península Ibérica e islas Baleares. *Graellsia*, **52**, 115-147.

Sáinz-Cantero C.E. 1997. Nuevas citas de Hydraenidae Mulsant, 1844 (Coleoptera) en Andalucía (Sur de España). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **21**, 279–280.

Sainz-Cantero C.E., Aceituno-Castro E. 1997. Coleopterofauna acuática de las sierras de Tejeda y Almijara (Sur de España). II Polyphaga (Coleoptera, Dryopidae, Elmidae, Hydraenidae, Hydrochidae, Hydrophilidae)(1). *Nouvelle Revue d'Entomologie*, **14**, 115–133.

Sáinz-Cantero C.E., Alba-Tercedor J., 1991. Los Polyphaga acuáticos de Sierra Nevada (Granada, España). (Coleoptera: Hydraenidae, Hydrophilidae, Elmidae, Dryopidae). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **15**, 171–198.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Velasco J., Millán A. 2003. *Los coleópteros acuáticos de la región de Murcia. Catálogo faunístico y áreas prioritarias de*

conservación. Monografías SEA, vol. 10.

Sutherland W.J. 2000. *The conservation Handbook*. Research, management and policy. Blackwell Science. Cambridge.

Valladares L.F., Montes C. 1991. *Lista Faunística y Bibliográfica de los Hydraenidae (Coleoptera) de la Península Ibérica*. Asociación Española de Limnología, Listas de la Flora y Fauna de las Aguas Continentales de la Península Ibérica nº 10, Madrid.

Valladares L.F., Ribera I. 1999. *Lista faunística y bibliográfica de los Hydrophiloidea acuáticos (Coleoptera) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Listas de la Flora y Fauna de las Aguas Continentales de la Península Ibérica nº 15, Madrid.

Vidal-Abarca M.R., Suárez M.L., Ramírez-Díaz L. 2000. Tipo funcional de humedal: ramblas/wadis. En: *Management of Mediterranean Wetlands, Tomo III* (eds. Monillo C., González J.L.), pp. 17–38. Madrid.

Capítulo 2

Conservación de la biodiversidad de ecosistemas acuáticos: una comparación de diferentes métodos de selección de áreas

Resumen

La biodiversidad de los ecosistemas acuáticos continentales está amenazada, especialmente en regiones semiáridas de la Cuenca Mediterránea como el sureste de la Península Ibérica, cuya biota rica y endémica corre el peligro de desaparecer a causa de la intensificación de la agricultura. Por ello, la identificación de áreas prioritarias de conservación es una tarea apremiante. En este trabajo se emplearon datos de coleópteros acuáticos de una provincia del sureste de España para identificar áreas prioritarias para la conservación de la biodiversidad de ecosistemas acuáticos. Se compara la eficacia de diferentes métodos de selección de áreas, variando desde índices tradicionales hasta algoritmos basados en el principio de complementariedad, a partir de diferentes criterios como riqueza, rareza y vulnerabilidad. Los métodos de complementariedad fueron más eficaces que los índices y los hotspots de riqueza y rareza a la hora de representar los objetivos de conservación en un número determinado de áreas y para identificar un conjunto mínimo de áreas que recojan todas las especies, al menos, una vez. Dentro de éstos, el algoritmo basado en la riqueza fue más eficiente que el basado en la rareza de las especies. Los hábitats de mayor interés para la conservación de la biodiversidad de ecosistemas acuáticos en el área estudiada son los arroyos de altitud media, los arroyos hipersalinos y los complejos kársticos y endorreicos.

INTRODUCCIÓN

Muchos autores han alertado del grave riesgo que corren los sistemas acuáticos continentales, incluso en mayor medida que otros ecosistemas (e.g. Allan y Flecker, 1993; Master *et al.*, 1998; Ricciardi y Rasmussen, 1999). Esto es especialmente importante en la Cuenca Mediterránea, considerada como uno de los puntos calientes o *hotspots* mundiales de biodiversidad (Myers, 1988; Quézel, 1995; Mittermeier *et al.*, 1998; Myers *et al.*, 2000). De particular interés, en este contexto, es el sureste de la Península Ibérica, la región más árida de Europa, que atesora una biota rica y endémica (Médail y Quézel, 1997) y en la que las amenazas antrópicas están incrementando de forma alarmante. Debido a que la escasez de agua es una de las principales características de la región, los ecosistemas acuáticos son especialmente importantes, siendo algunos de ellos particularmente ricos en especies raras o endémicas. Además, la mayoría de estos hábitats son importantes en un contexto europeo debido a su singularidad, como es el caso de los arroyos hipersalinos.

Como muchos autores han apuntado (e.g. Vane-Wright *et al.*, 1991; Myers *et al.*, 2000; Margules y Pressey, 2000), los recursos disponibles para la conservación de la biodiversidad son limitados y por tanto se hace necesario establecer prioridades. Una de las principales tareas de la biología de la conservación es la de priorizar lugares en función de su valor de biodiversidad, con el fin de seleccionar aquellas que tienen la mayor prioridad. Para este objetivo, ha de ser evaluado el valor de biodiversidad de los distintos sitios. Sin embargo, debido a que el concepto de biodiversidad engloba la jerarquía biológica en su conjunto, desde los genes hasta los ecosistemas, se hace imposible obtener medidas de biodiversidad en toda su dimensión.

Una estrategia muy utilizada para resolver este problema ha sido el uso de taxones indicadores, es decir, grupos de organismos de taxonomía estable que han sido bien estudiados en la región, y para los que se asume que sus patrones de riqueza, endemidad, rareza o vulnerabilidad son indicativos de patrones similares en grupos menos conocidos en la zona (Pearson y Cassola, 1992; Reyers y Jaarsveld, 2000; Ricketts *et al.*, 2002). Aunque la mayoría de los estudios que utilizan taxones indicadores se basan en datos de vertebrados (e.g. Williams *et al.*, 1996; Garson *et al.*, 2002), los insectos son particularmente adecuados para ello, debido a su reducido tamaño y a que son ricos en especies y número de individuos. Además, al contrario de lo que ocurre con vertebrados, los insectos presentan ciclos de vida cortos y tasas altas de incremento poblacional, periodos generacionales cortos y, comparativamente, elevada especificidad de hábitats.

Los invertebrados acuáticos (mayoritariamente identificados al nivel de familia) han sido utilizados extensivamente para evaluar el estado de los hábitats acuáticos respecto a posibles contaminantes o enriquecimiento de nutrientes (e.g. Hellawell, 1978; Alba-Tercedor y Sánchez-Ortega, 1988; Rosenberg y Resh, 1992). Sin embargo, se ha puesto poca atención en el desarrollo de taxones indicadores para la estimación de la biodiversidad de estos ecosistemas. No obstante, algunos grupos de macroinvertebrados acuáticos, como odonatos y coleópteros (Davis *et al.*, 1987;

Foster *et al.*, 1990; Foster y Eyre, 1992), han sido sugeridos como taxones indicadores.

El grupo de los coleópteros acuáticos es, potencialmente, un indicador ideal de biodiversidad en ecosistemas acuáticos, cumpliendo la mayoría de los criterios propuestos en la literatura para esta tarea (Noss, 1990; Pearson y Cassola, 1992; Pearson, 1994). Su taxonomía es bien conocida y presentan una amplia distribución mundial. Además, ocupan el rango completo de hábitats acuáticos, estando presentes prácticamente en todas las clases de cuerpos de agua, tanto dulce como salina, desde arroyos de cabecera hasta cubetas salineras y *rock pools*, desde las charcas más pequeñas hasta grandes lagos, y desde ríos hasta canales y embalses. Además, muestran especialización a nivel de especie en los diferentes hábitats y están presentes todo el año, a veces en gran número. La mayoría de las especies tienen demandas ecológicas suficientemente limitadas como para permitirnos hacer predicciones sobre cambios en la calidad y en la historia de usos del suelo, o simplemente para caracterizar la comunidad y el hábitat (Foster, 1987; Ribera y Foster, 1993; Foster, 1996). En la Península Ibérica, los coleópteros acuáticos son un grupo bien conocido (*e.g.* Ribera *et al.*, 1998; Ribera 2000) con una elevada riqueza de especies. Son también uno de los grupos mejor estudiados de insectos acuáticos en el sureste de España (*e.g.* Gil *et al.*, 1990; Delgado *et al.*, 1992; Millán *et al.*, 1996; Delgado y Soler 1997; Millán *et al.*, 2001a y b; Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003).

Se ha propuesto una amplia variedad de métodos para la selección de áreas prioritarias usando datos de distribución de especies, los cuales podrían agruparse, de forma general, en dos grandes grupos: (1) aquellos basados en procedimientos de puntuación (conocidos también como índices) y (2) aquellos que utilizan el concepto de complementariedad. Los métodos de puntuación otorgan a los lugares un valor relativo de prioridad en función de uno o varios criterios (tales como riqueza de especies, rareza o vulnerabilidad) y han sido utilizados de forma tradicional para la selección de áreas (ver Margules y Usher, 1981 para una revisión). Por otro lado, los métodos basados en el principio de la complementariedad (Vane-Wright *et al.*, 1991) son más recientes y han recibido un interés creciente en la literatura relacionada con la conservación (*e.g.* Margules *et al.*, 1988; Pressey *et al.*, 1993; Williams *et al.*, 1996; Sarkar *et al.*, 2002).

El objetivo principal de este trabajo fue utilizar veinte años de datos de coleópteros acuáticos de una provincia española para identificar áreas prioritarias de conservación a escala local y para evaluar la efectividad de varios métodos de selección de áreas (desde sistemas de puntuación hasta algoritmos basados en la complementariedad), basados en diferentes criterios, tales como riqueza, rareza y vulnerabilidad. Así, se propuso dar respuesta en este estudio a las siguientes cuestiones: (1) ¿Qué método de selección de áreas proporciona el menor número de sitios con representación de todas las especies de escarabajos acuáticos? y (2) para una superficie de protección dada, ¿Qué procedimiento proporciona la mayor acumulación de objetivos de conservación en su selección de áreas?

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio y obtención de datos

El área considerada en este análisis es la provincia española de Albacete, localizada en el sureste de la Península Ibérica, la cual abarca un área de 14.858 km² (Figura 1). Este área presenta un clima mediterráneo continental y la altitud varía desde los 200 hasta en torno a los 1800 metros sobre el nivel del mar. Las temperaturas están caracterizadas por una marcada amplitud anual (casi 20 °C en algunos lugares), mientras la precipitación muestra una media anual en torno a los 360 mm.

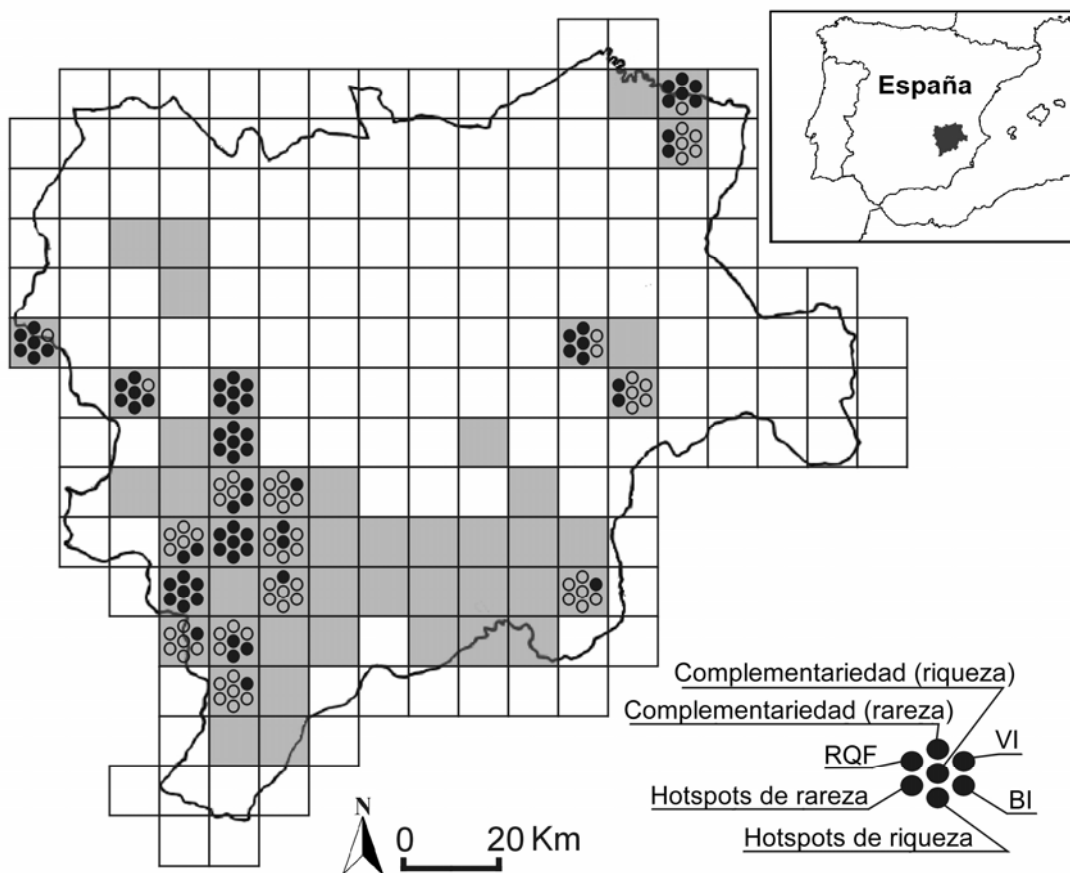


Figura 1. Mapa del área de estudio, mostrando las cuadrículas UTM 10 x 10 Km utilizadas para la comparación de métodos de selección de áreas (cuadrículas sombreadas) y la distribución de las 10 áreas prioritarias seleccionadas por los siete métodos. Las cuadrículas seleccionadas por un método determinado aparecen marcadas por un punto negro (RQF: Rarity Quality Factor, VI: Índice de Vulnerabilidad; BI: Índice de Biodiversidad).

En el análisis se incluyeron aquellas familias de coleópteros acuáticos en las que una parte sustancial de sus especies está ligada al medio acuático en al menos uno de sus estadios de desarrollo. También se consideraron aquellas subespecies bien establecidas taxonómicamente. Con el fin de minimizar el grado de incertidumbre, no se incluyeron las especies pertenecientes a las familias Sphaeriidae, Chrysomelidae, Curculionidae, Georissidae, Scirtidae, Limnichidae y Heteroceridae, debido al conocimiento insuficiente que existe sobre su distribución y/o taxonomía. En total, se incluyeron 209 especies en el análisis.

Los datos de las especies fueron obtenidos de la literatura y del trabajo de campo. Hasta donde fue posible, se consideraron todos los datos publicados e inéditos actualmente conocidos. A partir de los registros recogidos en la literatura, y de los especímenes examinados, fue elaborada una base de datos que incluyó la identidad del taxón, la localidad y fecha de captura, el recolector y el número de individuos. En total, se emplearon en el análisis más de 3.500 registros válidos (del tipo especie/localidad/fecha) de coleópteros acuáticos, quedando representada la diversidad total de ecosistemas acuáticos del área de estudio. La superficie del área de estudio fue dividida en cuadrículas UTM 10 x 10 Km, y la distribución de las especies fue registrada como presencia/ausencia en cada una de las 150 cuadrículas de la provincia. Un total de 51 cuadrículas presentaron datos de coleópteros acuáticos.

Métodos de selección de áreas

Se contrastaron siete métodos de selección de áreas, cinco de ellos basados en índices de puntuación (métodos 1 a 5), puntuando las áreas en función de uno o varios criterios como riqueza, rareza y vulnerabilidad, y los dos últimos (métodos 6 y 7) aplicando algoritmos basados en la complementariedad. *Complementariedad* viene referida al grado en el que un área, o un conjunto de ellas, contribuye con atributos no representados (en este caso especies) a otro conjunto de áreas (Vane-Wright *et al.*, 1991). En este trabajo, la complementariedad fue utilizada para maximizar el número de especies representadas dentro de un número determinado de áreas y para seleccionar el conjunto de menor número de áreas que representa a las especies al menos una vez.

Aunque el término *hotspots* fue usado originariamente por Myers (1988) para referirse a áreas, a escala mundial, con excepcional concentración de riqueza de especies, de especies endémicas y sujetas a un extremo grado de amenaza, este concepto ha sido después aplicado de forma más general a áreas con elevada biodiversidad a cualquier escala (*e.g.* Prendergast *et al.*, 1993; Williams *et al.*, 1996; Araujo 1999). En este trabajo, el término *hotspots* es usado en referencia a áreas de elevada riqueza o rareza en el área de estudio.

Método 1: Hotspots de riqueza

Las cuadrículas UTM 10 x 10 Km con datos de coleópteros acuáticos fueron ordenadas por riqueza de especies (medida simplemente como el número total de especies dentro de cada cuadrícula).

Método 2: Hotspots de rareza

La rareza fue empleada aquí sólo en referencia a la distribución restringida de las especies (medida a partir el área de ocupación en número de cuadrículas) pero sin referencia a su abundancia (otra de las formas de rareza de las especies; ver capítulo 1). Fue calculada para cada cuadrícula como la suma total de la inversa del rango de las especies presentes en la misma y dividida por el número de especies en la cuadrícula (Crisp *et al.*, 2001; Rey-Benayas y De la Montaña, 2003):

$$\text{Puntuación de rareza} = \sum_{i=1}^S (1/c_i) / S$$

donde c_i es el número de cuadrículas ocupadas por la especie i y S es la riqueza de especies de la cuadrícula.

Método 3: Rarity Quality Factor (RQF)

Foster (1987) describe un sistema de puntuación para evaluar y clasificar zonas húmedas, que fue validado después por Eyre y Rushton (1989). Este sistema está basado en la rareza de las especies de coleópteros acuáticos presentes. A cada especie registrada en 1, 2-3, 4-7, 8-15, 16-31, y 32 y más cuadrículas se le asigna una puntuación en una progresión geométrica desde 1 (para las especies más comunes) hasta 32 (para las más raras). A partir de la suma de estas puntuaciones de las especies, se calcula un valor de rareza total (SRT). Un valor de asociación de rareza es calculado de forma adicional para las especies que puntúan 2 o más en la escala geométrica. Para eliminar sesgos causados por la presencia de una especie muy rara en una lista, que presentaría una puntuación mucho mayor que el resto, la puntuación más alta es reducida a la del valor más próximo. Este valor es a continuación añadido al de SRT, y el valor final dividido por el número de especies en el sitio, obteniéndose así el Rarity Quality Factor (RQF).

Método 4: Índice de vulnerabilidad

El índice de vulnerabilidad (VI) fue calculado usando el grado de amenaza de las especies de cada cuadrícula. A cada especie le fue asignada una puntuación de vulnerabilidad en base a la categorización de vulnerabilidad propuesta por Abellán *et al.*, (2005; ver capítulo 1) para los coleópteros acuáticos de la provincia de Albacete (Apéndice 1). Esta puntuación varió desde 0 a 12 (desde *vulnerabilidad baja* hasta *vulnerabilidad extrema*). Para cada cuadrícula, el valor de vulnerabilidad fue calculado como la suma de la puntuación de vulnerabilidad para cada una de las especies

presentes en la misma y dividido entre la riqueza de especies de la cuadrícula (Nores y García-Álvarez, 2000; Rey-Benayas y de la Montaña, 2003).

$$\text{Índice de vulnerabilidad} = \sum_{i=1}^S (1/v_i) / S$$

donde v_i es la puntuación de vulnerabilidad de la especie i y S es la riqueza de especies de la cuadrícula.

Método 5: Índice de biodiversidad

Se empleó una modificación del índice de biodiversidad aplicado por Rey-Benayas y de la Montaña (2003), el cual combina los criterios de riqueza, rareza y vulnerabilidad, siendo definido como:

$$\text{Biodiversity Index (BI)} = \sum_{i=1}^S (1/c_i) v_i$$

donde c_i es el número de cuadrículas ocupadas por la especie i y v_i es la puntuación de vulnerabilidad de la especie i (definida como en el método 4). La riqueza de especies de la cuadrícula está implícita en Σ .

Método 6: Complementariedad (riqueza)

Fue utilizado un algoritmo heurístico basado en el criterio de riqueza para encontrar áreas complementarias. El algoritmo aplicado es una modificación del propuesto por Kirkpatrick (1983). El algoritmo primero selecciona la cuadrícula con el mayor número de especies; todas las especies que aparecen en esa cuadrícula son excluidas del análisis al tiempo que el algoritmo busca de nuevo la cuadrícula con el mayor número de especies no incluidas en la primera. Posibles ambigüedades producidas por cuadrículas que aportan el mismo número de especies no representadas son resueltas seleccionando aquella cuadrícula con el mayor número de especies raras (aquellas que aparecen en sólo una cuadrícula del área de estudio). Si la ambigüedad persiste, es elegida la cuadrícula con el mayor número total de especies. Este proceso es continuado iterativamente hasta que, según el objetivo perseguido, (1) todas las especies son representadas o (2) el área máxima permitida (un número determinado de cuadrículas) es alcanzado.

Método 6: Complementariedad (rareza)

El algoritmo utilizado fue también una técnica heurística, el cual es una variación del propuesto originalmente por Margules *et al.* (1988). En este caso, el algoritmo selecciona los sitios sobre la base de la rareza de las especies que contienen. Primero, las especies son ordenadas de forma inversa a su frecuencia de aparición en el conjunto de datos (número de cuadrículas ocupadas) y a continuación los sitios son ordenados de acuerdo a la rareza de las especies que contienen. Para resolver ambigüedades entre los sitios con igual proporción de especies raras, el algoritmo utiliza complementariedad (que selecciona el sitio que contiene el mayor número de

especies no representadas en los sitios seleccionados previamente). Ambigüedades finales son resueltas de forma aleatoria (por orden alfabético). Este proceso es continuado de forma iterativa hasta que, según el objetivo perseguido, (1) todas las especies son representadas o (2) el área máxima permitida (un número determinado de cuadrículas) es alcanzado. El análisis fue realizado usando el software ResNet (Aggarwal *et al.*, 2000; ver también Sarkar *et al.* (2002). Procedimientos similares han sido implementados en numerosos trabajos (Vane-Wright *et al.*, 1991; Rebelo y Siegfried, 1992; Margules *et al.*, 1998).

Evaluación de la eficacia de los métodos

Dos formas habituales de definir el problema de la selección de áreas son (1) seleccionar el conjunto mínimo de áreas que contienen al menos una representación de todos los atributos (e.g. especies), conocido como *set covering problem* (e.g. Underhill 1994); y (2) maximizar el número de atributos representados cuando existe una limitación en el coste o el área total a proteger, conocido como *maximal coverage location problem* (e.g. Church *et al.*, 1996). Por tanto, la efectividad de los diferentes métodos aplicados para la selección de áreas de alto valor de conservación fue evaluada desde ambas perspectivas.

Primero, se evaluó el área requerida para representar, al menos una vez (es decir, con presencia en al menos una de las cuadrículas seleccionadas), todas las especies de coleópteros acuáticos. Así, con cada método se estableció el orden en el que los sitios son listados según su valor de conservación y se evaluó, a través de curvas de acumulación de especies en función del número de áreas seleccionadas, el número total de cuadrículas necesarias para representar a todas las especies.

En una segunda comparación, se evaluó la efectividad de los diferentes métodos empleados a la hora de representar el máximo número de (1) especies de coleópteros acuáticos, (2) especies raras, (3) especies vulnerables, y (4) endemismos ibéricos dentro de diez cuadrículas UTM 10 x 10 Km. Este número (10 cuadrículas) es arbitrario pero útil para la comparación de los resultados obtenidos con los siete métodos de selección de áreas. El área incluida en diez cuadrículas representa cerca del 6% de la superficie total de la provincia de Albacete y sobre el 19% del área muestreada. Así, los *hotspots* de riqueza fueron identificados como las diez cuadrículas con los mayores valores de riqueza de especies, mientras los *hotspots* de rareza fueron identificados como las diez cuadrículas con los mayores valores de rareza. De forma similar, las áreas prioritarias seleccionadas a partir de los índices RQF, VI y BI fueron aquellas diez cuadrículas con los valores más altos para estos índices.

Para las propuestas de este trabajo, se consideraron como especies vulnerables aquellas pertenecientes a la clases de vulnerabilidad *alta* y *extrema* de acuerdo a la categorización de vulnerabilidad propuesta por Abellán *et al.* (2005) (ver capítulo 1) para los coleópteros acuáticos de la provincia de Albacete. Además, se utilizó el criterio de una cuadrícula UTM 10 x 10 Km dentro del área de estudio para definir

especies raras a escala local. Para las especies endémicas de la Península Ibérica se siguió a Ribera *et al.* (1998).

Además, se incluyó una evaluación adicional de la eficiencia de los siete métodos en términos del número de representaciones de cada especie (número de cuadrículas ocupadas por cada especie dentro de las diez cuadrículas seleccionadas). Así, fue calculado el número medio de representaciones por especie (ver Williams *et al.*, 1996). De forma similar, fue estimado el porcentaje de especies de rango restringido (aquellas que ocupan un máximo de cinco cuadrículas en el área de estudio) que incluyen toda su representación dentro de la selección de diez cuadrículas, y el porcentaje de especies de amplia distribución (aquellas con presencia en más de cinco cuadrículas en el área de estudio) con múltiples representaciones (cinco o más) en la selección de diez cuadrículas.

Finalmente, fue utilizado un análisis de correlación de Pearson, calculado para los valores de todas las cuadrículas con datos, para identificar relaciones entre los métodos basados en sistemas de puntuación (hotspots de riqueza y rareza, RQF, VI y BI). Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa Satatistica para Windows (version 6.0).

RESULTADOS

Conjunto mínimo de áreas que representa todas las especies

Como cabría esperar, los resultados del análisis realizado para encontrar el conjunto de menor número de áreas que representa las 209 especies de escarabajos acuáticos al menos una vez revela una clara distinción entre los dos métodos basados en la complementariedad y el resto de métodos de puntuación (Figura 2). Las áreas complementarias (basadas tanto en riqueza como en rareza) representaron al menos una vez todas las especies dentro de sólo 18 cuadrículas. Por el contrario, los métodos de puntuación precisaron de 31 (Rarity Quality Factor) a 36 cuadrículas (Índice de vulnerabilidad) para representar todas las especies (32, 33 y 35 cuadrículas para los métodos *hotspots* de rareza, *hotspots* de riqueza e Índice de biodiversidad). Entre los métodos de puntuación, el método basado en los *hotspots* de riqueza ofreció la inclusión inicial de especies más alta. En general, el número de especies incluidas incrementó rápidamente en función del número de cuadrículas, con más del 50% de las especies representadas en menos de cuatro de las 51 cuadrículas. Sin embargo, una vez que el 80% de las especies ha sido incluido por cualquiera de los siete métodos, se requiere un incremento sustancial en el número de cuadrículas para acrecentar la diversidad representada a causa de las especies raras dispersas en el espacio. Los valores de los distintos índices aplicados para cada cuadrícula aparecen en el Apéndice 3.

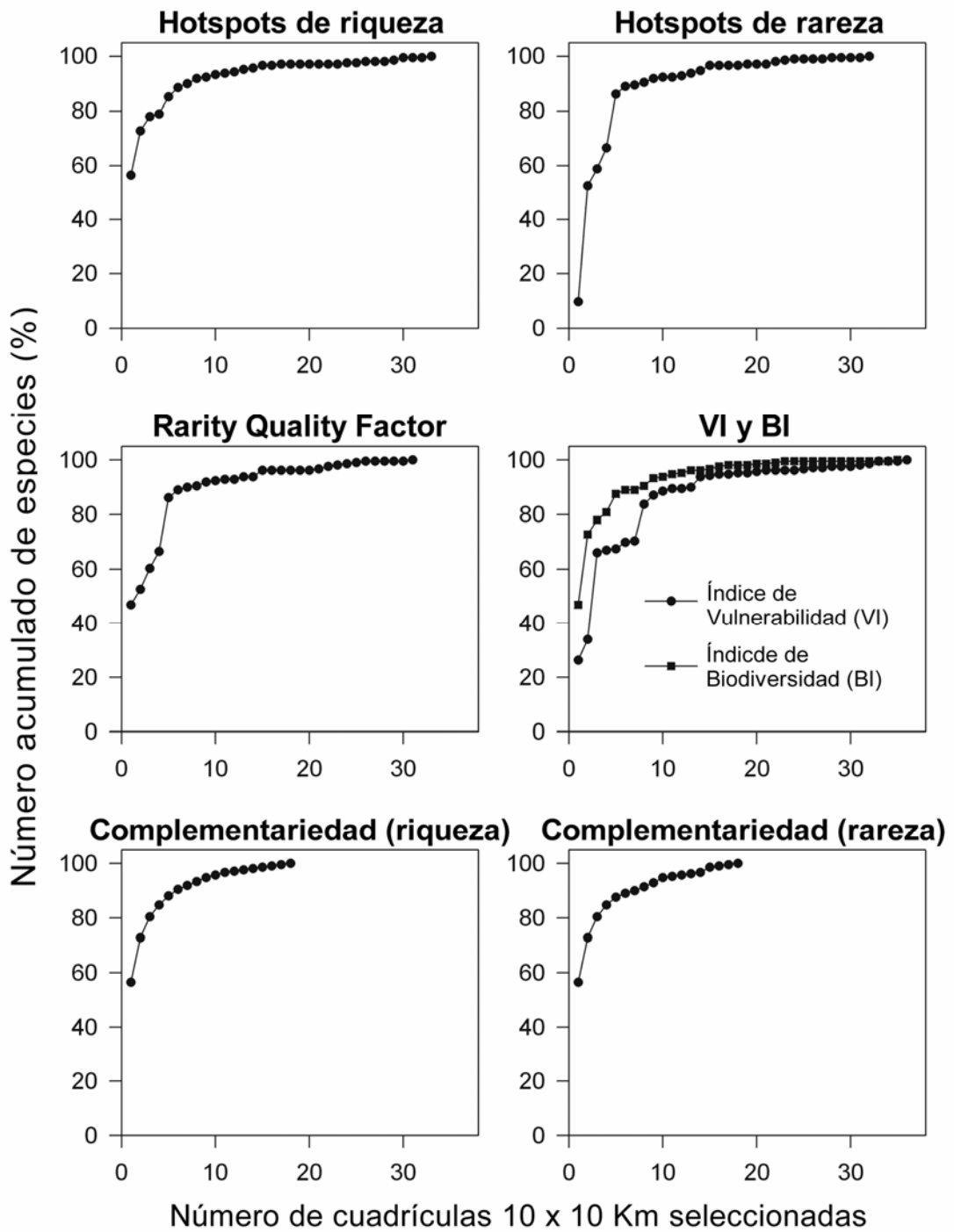


Figura 2. Curvas de acumulación de especies-cuadrículas para los siete métodos de selección de áreas representando, al menos una vez, todas las especies de coleópteros acuáticos.

Representación de objetivos de conservación en las selecciones de áreas

La Figura 1 muestra la distribución espacial de las selecciones de áreas prioritarias identificadas de acuerdo a los siete métodos de selección de áreas aplicados (las 10 cuadrículas prioritarias identificadas por cada método). Las cuadrículas con los valores más altos se localizaron principalmente en el suroeste, el noreste y el eje central de la provincia. Los *hotspots* de riqueza estuvieron localizados casi exclusivamente en el oeste de la provincia. Por el contrario, las áreas ricas en especies raras (identificadas como *hotspots* de rareza pero también por el índice RQF) tuvieron una distribución más dispersa. Las cuadrículas seleccionadas por los dos algoritmos de complementariedad y los índices VI y BI tuvieron una distribución amplia en el área de estudio, con algunas cuadrículas seleccionadas en todas las zonas, aunque principalmente en el suroeste. Además, hubo un claro agrupamiento en la distribución de los valores altos para los diferentes métodos y, en general, hubo un alto grado de coincidencia entre las distintas selecciones de áreas (más del 50%). Así, algunas cuadrículas fueron seleccionadas por todos los métodos y otras por varios de ellos. La coincidencia entre las selecciones de áreas prioritarias identificados como *hotspots* de rareza y por el índice RQF fue total. La coincidencia entre las áreas prioritarias identificadas como *hotspots* de riqueza y a partir del Índice de biodiversidad fue muy alta (90%), así como entre los dos algoritmos de complementariedad. La coincidencia entre las áreas prioritarias identificadas por el resto de métodos fue usualmente del 70 o el 80%, con excepción de la selección de áreas basada en el Índice de vulnerabilidad, que mostró el grado de coincidencia más bajo con el resto de selecciones de áreas (50-60%).

La tabla 1 muestra el número y porcentaje de especies de coleópteros acuáticos, de especies raras, especies vulnerables y endemismos ibéricos incluidos en las selecciones de áreas (10 cuadrículas) identificadas con cada uno de los siete métodos aplicados. De acuerdo con el porcentaje total de especies incluidas, el algoritmo de complementariedad basado en riqueza fue el método más efectivo. El algoritmo basado en rareza recogió el mayor número de especies raras (especies con distribución restringida a una cuadrícula). Basándonos en la proporción de especies vulnerables incluidas, el Índice de biodiversidad (BI) y el algoritmo de riqueza fueron los métodos más efectivos (ambos con el 90%). Además, los *hotspots* de rareza y el Rarity Quality Factor, junto con el algoritmo de riqueza, fueron los métodos más efectivos representando la mayor proporción de endemismos ibéricos. Por otro lado, el Índice de Vulnerabilidad fue el método menos efectivo en representar objetivos de conservación: especies, especies raras, especies vulnerables y endemismos ibéricos.

Por tanto, el algoritmo basado en riqueza fue el método más eficiente para representar, de forma simultánea, el mayor número de especies, especies vulnerables y endemismos ibéricos. Consecuentemente, las áreas identificadas por este método incluyeron la mayor representación de diversidad total. La selección de áreas basada en este método capturó el 95.7% de las especies de coleópteros acuáticos, el 83.9% de las especies raras, el 90% de las especies vulnerables y el 93.9% de las especies endémicas de la Península Ibérica.

Tabla 1. Número y porcentaje de especies, especies raras, especies vulnerables y endemismos ibéricos incluidos en las áreas prioritarias (10 cuadrículas) identificadas de acuerdo a los siete métodos empleados en el análisis. La especies vulnerables fueron definidas a partir de Abellán *et al.*, (2005) y se consideraron especies raras aquellas que aparecen en sólo una cuadrícula UTM 10 x 10 Km del área d estudio.

Métodos	Representación			
	Nº total de especies	Especies raras	Especies vulnerables	Endemismos ibéricos
Hotspots de riqueza	195 (93.3%)	23 (74.2%)	8 (80%)	30 (90.9%)
Hotspots de rareza	193 (92.3%)	26 (83.9%)	8 (80%)	31 (93.9%)
Rarity Quality Factor	193 (92.3%)	26 (83.9%)	8 (80%)	31 (93.9%)
Índice de Vulnerabilidad	185 (88.5%)	19 (61.3%)	6 (66.7%)	28 (84.8%)
Índice de Biodiversidad	196 (93.8%)	23 (74.2%)	9 (90%)	30 (90.9%)
Complementariedad (riqueza)	200 (95.7%)	26 (83.9%)	9 (90%)	31 (93.9%)
Complementariedad (rareza)	198 (94.7%)	27 (87.1%)	8 (80%)	30 (90.9%)

La Tabla 2 muestra la evaluación de la eficiencia de los distintos métodos en términos de número de representaciones por especie. Los *hotspots* de riqueza incluyeron el mayor número de representaciones por especie, seguido estrechamente por el Índice de biodiversidad. El Índice de vulnerabilidad y las aproximaciones de rareza (*hotspots* y RQF) capturaron el menor número de representaciones por especie. Los dos algoritmos de complementariedad dieron resultados muy similares, aunque el algoritmo de riqueza incluyó un mayor número de representaciones por especie. Por otro lado, todos los métodos, excepto el Índice de Vulnerabilidad, incluyeron un porcentaje muy similar de especies de rango restringido (aquellas que ocupan un máximo de cinco cuadrículas en el área de estudio e incluyen toda su representación dentro de las selecciones de áreas (Tabla 2, columna dos). El elevado número de representaciones por especie incluido por los hotspots de riqueza fue debido a que la mayoría de estas representaciones proceden de múltiples representaciones de especies de amplio rango (Tabla 2, columna tres). Por el contrario, los hotspots de rareza y el índice RQF incluyó un menor número de representaciones de especies con amplia distribución. Así, en general, los siete métodos fueron muy similares con respecto al número de representaciones de las especies de distribución más restringida y las diferencias entre ellos proceden del número de representaciones de especies con una mayor frecuencia de aparición en el conjunto de datos.

Tabla 2. Eficiencia de los siete métodos aplicados en términos de número de representaciones para cada especie (número de cuadrículas ocupadas por cada especie dentro de las 10 áreas identificadas como prioritarias).

Métodos	Número de representaciones ^a	Especies de rango restringido ^b	Especies de amplio rango ^c
Hotspots de riqueza	3.76	45.9%	64%
Hotspots de rareza	3.07	45%	48%
Rarity Quality Factor	3.07	45%	48%
Índice de Vulnerabilidad	2.98	29.4%	37%
Índice de Biodiversidad	3.59	44%	62%
Complementariedad (riqueza)	3.33	45%	54%
Complementariedad (rareza)	3.24	45.9%	53%

^a Numero medio de representaciones por especie.

^b Porcentaje de especies con presencia en cinco o menos cuadrículas en el área de estudio todas las cuales están recogidas en las áreas prioritarias identificadas por el método.

^c Porcentaje de especies con presencia en más de cinco cuadrículas en el área de estudio y con presencia en más de cinco cuadrículas en las áreas prioritarias identificadas por el método.

Los coeficientes de correlación entre los diferentes métodos de puntuación fueron siempre positivos y significativos para $p \leq 0.5$ (Tabla 3). El método de los *hotspots* de rareza y el Rarity Quality Factor mostraron la correlación más alta ($r = 0.97$), seguido por el método de *hotspots* de riqueza y el Índice de biodiversidad ($r = 0.89$). Los coeficientes de correlación más bajos se obtuvieron entre el Índice de vulnerabilidad y el método de *hotspots* de riqueza ($r = 0.59$) y entre el Índice de vulnerabilidad y el Índice de Biodiversidad ($r = 0.60$). Así, en general, las cuadrículas con los valores más altos para un determinado método presentaron también altos valores para el resto de métodos, es decir, las comunidades más ricas en especies incluyeron también las especies más raras y vulnerables.

Tabla 3. Coeficientes de correlación entre algunos de los métodos aplicados (índices) para seleccionar áreas prioritarias de conservación. Todos los coeficientes fueron significativos para $p < 0.05$ ($n=51$).

	<i>Hotspots</i> de riqueza	<i>Hotspots</i> de rareza	Rarity Quality Factor	Índice de Vulnerabilidad
Hotspots de rareza	0.62			
Rarity Quality Factor	0.68	0.97		
Índice de Vulnerabilidad	0.59	0.69	0.72	
Índice de Biodiversidad	0.89	0.75	0.75	0.6

DISCUSIÓN

La conservación de la biodiversidad requiere un proceso de cuatro etapas (Sarkar y Margules, 2002): (1) la selección de atributos adecuados con los que poder estimar la biodiversidad, (2) el uso de estos atributos para ordenar los lugares en función de su valor de biodiversidad, (3) una evaluación de la viabilidad a largo plazo de las entidades de interés que contienen estos lugares, y (4) el diseño de políticas adecuadas para la gestión de los lugares designados. En este trabajo, se hace sólo una aproximación a la segunda etapa de este proceso. El análisis aquí presentado es ilustrativo, no exhaustivo.

En la primera comparación (el conjunto mínimo de áreas necesarias para representar al menos una vez todas las especies de escarabajos acuáticos), los métodos basados en el principio de la complementariedad, tanto de riqueza como de rareza, se desmarcaron claramente del resto de métodos, confirmando patrones descritos para taxones y hábitats no acuáticos (*e.g.* Kershaw *et al.*, 1994; Williams *et al.*, 1996; Begger *et al.*, 2003). Estos métodos fueron más eficaces que los sistemas de puntuación, siendo capaces de representar todas las especies en casi la mitad de cuadrículas (ver Araujo, 1998 para resultados similares). Los métodos de puntuación requirieron más del 60% de la superficie muestreada para representar a todas las especies de coleópteros acuáticos. De forma similar, Pressey y Nicholls (1989) encontraron que seleccionando áreas ordenadas por prioridad de conservación, desde los valores más altos en orden decreciente, basados en una variedad de criterios, se requería, en la mayoría de los casos, más de la mitad de todas las unidades de análisis del área de estudio.

Se ha dicho de forma general que los algoritmos de rareza son más efectivos que los de riqueza para encontrar el número mínimo de sitios que recojan, en conjunto, todas las especies (ver Margules *et al.*, 1988; Kershaw *et al.*, 1994; Williams *et al.*, 1996, Csuti *et al.*, 1997). En este estudio, ambos tipos de algoritmos, de riqueza y de rareza, ofrecieron resultados muy similares. No obstante, el algoritmo de riqueza fue más efectivo en las primeras fases del proceso (Figura 2). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Kershaw *et al.*, (1994) y Araujo (1998). El mayor grado de efectividad del algoritmo de riqueza sobre el de rareza podría explicarse por la forma en que ambos resuelven las ambigüedades. En el algoritmo basado en rareza (aplicando el *software* ResNet), la complementariedad es usada para tratar de resolver ambigüedades cuando más de un lugar es identificado con las especies más raras no representadas. Y si la ambigüedad permanece, es resuelta arbitrariamente seleccionando el primer lugar o área de la lista (orden léxico). Por el contrario, con el algoritmo basado en riqueza, las ambigüedades son resueltas seleccionando el área con el mayor número de especies raras (presentes sólo en una cuadrícula) y, secundariamente, la cuadrícula con el mayor número total de especies (ya representadas o no). De esta forma, este algoritmo incrementa el número de múltiples representaciones de las especies incluidas en la selección de áreas prioritarias.

A partir de la evaluación de la eficiencia de las selecciones de áreas prioritarias (10 cuadrículas) identificadas por los siete métodos, los algoritmos basados en la complementariedad fueron de nuevo más eficaces que los métodos de puntuación o índices (incluidos los métodos de hotspots) a la hora de representar los objetivos de conservación (ver Kiester *et al.*, 1996; Williams *et al.*, 1996; Araujo, 1999 para resultados similares). Dentro de éstos, el algoritmo de riqueza fue el método más eficiente para encontrar el mayor número de especies que pueden ser preservadas cuando el número de sitios permitidos para la protección es restringido. Las diez cuadrículas seleccionadas con este método incluyeron la mayoría de las especies de coleópteros acuáticos del área de estudio (95.7%). Además, estas áreas representaron gran parte de las especies raras (excepto cinco de ellas), y la práctica totalidad de las especies vulnerables y endémicas (con la excepción de dos y una especies, respectivamente). Las nueve especies no incluidas fueron especies poco representadas en el conjunto de datos y la mayoría de ellas son especies trans-ibéricas (presentes en Europa al norte de los Perineos, la Península Ibérica y el Norte de África) y pueden ser ignoradas debido a su distribución amplia fuera del área de estudio. Sin embargo, dos especies ibero-africanas y dos endemismos ibéricos quedaron fuera de las diez cuadrículas identificadas como áreas prioritarias por el algoritmo de riqueza. Una de ellas es localmente vulnerable y presenta una distribución restringida al sureste de la Península Ibérica (*Hydraena bolivari*). No obstante, unas pocas especies quedaron siempre fuera de las áreas prioritarias, independientemente del método utilizado para identificarlas. Como algunos autores han apuntado (*e.g.* Moore *et al.*, 2003), la representación completa y eficiente, especialmente de especies de rango restringido, es poco probable de ser conseguida sólo a través de grupos indicadores. Por tanto, los procedimientos para asignar prioridades de conservación deben permanecer flexibles para que nuevas áreas importantes para otros taxones puedan ser incorporadas cuando los datos estén disponibles.

Los métodos de *hotspots*, que han demostrado un éxito en acercar el mensaje de la biodiversidad a gran parte de la sociedad, fueron menos eficaces que las áreas complementarias para encontrar un conjunto de áreas que incluya representación de todos los taxones y para representar objetivos de conservación dentro de un número dado de áreas. Este fue también el caso de otros procedimientos de puntuación utilizados. Además, los índices, a pesar de sus ventajas (son sencillos de desarrollar y adaptar, no dependen de complicados programas informáticos y los datos necesarios para desarrollar estos sistemas a amplia escala son relativamente fáciles de obtener), tienen importantes limitaciones. Por ejemplo, son muy subjetivos, no disponen de cuantificación y transparencia y no existe una base teórica para elaborar sistemas de índices combinados; además, estos métodos están muy influidos por sesgos de muestreo y son a menudo ineficientes (Pressey y Nicholls, 1989).

No obstante, los *hotspots* de riqueza y el Índice de Biodiversidad capturaron el mayor número de representaciones por especie, aunque esto fue debido a la alta redundancia entre las áreas seleccionadas. Así, muchas de las áreas seccionadas por estos métodos (cuyos cuerpos de agua son principalmente arroyos de cabecera)

fueron muy ricas en especies individualmente pero tuvieron una composición muy similar. Por tanto, muchas especies tuvieron múltiples representaciones en las diez cuadrículas seleccionadas por ambos métodos. Además, estas especies fueron en general de amplia distribución en el área de estudio. Por el contrario, los *hotspots* de rareza incluyeron áreas que contienen especies más restringidas debido a la incorporación de hábitats como arroyos hipersalinos en las áreas prioritarias. Por esta razón, el número de representaciones por especie fue menor. Las áreas complementarias capturaron un menor número de representaciones por especie que las diez cuadrículas identificadas como *hotspots* de riqueza y a partir del Índice de Biodiversidad, aunque los métodos de complementariedad combinaron una buena representación de cada especie con una representación más completa del total de especies dentro de sus áreas prioritarias (ver también Williams *et al.*, 1996).

El elevado grado de coincidencia entre las áreas prioritarias identificadas por los siete métodos aplicados puede ser debido a la similitud de los patrones de riqueza, rareza y vulnerabilidad en el área de estudio, lo cual es evidente a partir de los altos valores de los coeficientes de correlación encontrados entre los distintos índices. Así, en general, las comunidades más ricas incluyeron las especies más raras y vulnerables. La excepción fue el noreste de la provincia, cuyos principales cuerpos de agua son arroyos hipersalinos. A pesar de contener una elevada concentración de especies de rango restringido, estas áreas fueron pobres en riqueza de especies y no quedaron recogidas por el método de los *hotspots* de riqueza. Además, la coincidencia entre las áreas prioritarias puede ser debida a la manera en la que están formulados algunos de los métodos. Por ejemplo, la alta coincidencia entre las diez áreas de mayor interés identificadas como *hotspots* de riqueza y a partir del Índice de Biodiversidad, así como la alta correlación hallada entre ambos métodos, sugiere que el BI está fuertemente influido por el criterio de riqueza. Este puede ser también el caso de los *hotspots* de rareza y el índice RQF, cuyas áreas prioritarias fueron las mismas y los cuales mostraron un coeficiente de correlación elevado. En este caso, el criterio de rareza (medido como la inversa del rango para todas las especies presentes en una determinada cuadrícula) ofrece resultados similares a los del RQF, a pesar de que este último índice utiliza rangos para clasificar las especies en función de su rareza y de que incorpora un valor adicional de asociación de rareza para cada sitio. Así, aunque la inclusión de un peso extra por la asociación de especies raras podría hacer más fácilmente distinguibles aquellos sitios con el mayor potencial de conservación (Eyre y Rushton, 1989), lo cierto es que este peso complica innecesariamente un ejercicio simple y está fuertemente correlacionado con la rareza total de las especies.

Las cuadrículas con los valores más altos se localizaron principalmente en tres áreas, independientemente del método usado: el suroeste, el noreste y el eje central de la provincia. El suroeste en un área montañosa y forestal cuyos cuerpos de agua son principalmente arroyos de cabecera, tramos altos de ríos y fuentes. El eje central de la provincia, por otro lado, es una región plana salpicada por lagunas de pequeño o medio tamaño. Aquí, los cuerpos de agua son principalmente complejos endorreicos y kársticos en los que conviven diferentes hábitats lóticos y leníticos, y/o de agua dulce y

salinos. Finalmente, los principales cuerpos de agua en el noreste son arroyos hipersalinos y tramos medios de ríos. Por tanto, basándonos en los sistemas acuáticos incluidos en las áreas prioritarias, tres tipos principales de hábitats pueden considerarse como poseedores del mayor valor de conservación: (1) arroyos de agua dulce de media montaña, (2) complejos endorreicos y kársticos, y (3) arroyos hipersalinos. El análisis sugiere que los arroyos de media montaña puntúan alto en general. Estos hábitats presentan una fauna muy rica en coleópteros acuáticos, en especial especies endémicas (Ribera 2000). Este es el caso de los arroyos de la Sierra de Alcaraz, algunos de los cuales son particularmente ricos en especies y endemismos, como el Arroyo de la Fuenfría, con 75 especies de escarabajos acuáticos, de las cuales 11 son endemismos ibéricos (Millán y Aguilera, 2000). Por otro lado, los arroyos hipersalinos en el sureste de España, aunque son relativamente pobres en términos de riqueza de especies, son hábitats excepcionalmente ricos en especies endémicas de coleópteros acuáticos (Sánchez-Fernández *et al.*, 2004). Finalmente, los complejos endorreicos y kársticos combinan una alta heterogeneidad ambiental, la cual resulta en elevada riqueza de especies (Cellot *et al.*, 1994; Townsend *et al.*, 1997). Así, las prioridades de conservación más urgentes en el sureste de España incluyen estos tres grupos de sistemas acuáticos.

Los procedimientos heurísticos tales como los algoritmos explorados en este trabajo tienen un gran potencial para maximizar la eficiencia de las acciones de conservación (Csuti *et al.*, 1997). Sin embargo, la efectividad de estos métodos depende de una variedad de factores como: (1) el grado en el que las prioridades de conservación basadas en indicadores de biodiversidad (coleópteros acuáticos en este caso) pueden ser generalizados para incluir elementos de la diversidad de otros grupos taxonómicos; y (2) la presencia de factores intrínsecos y extrínsecos apropiados para la persistencia de cada especie en las áreas seleccionadas.

Una limitación de este estudio es que asume que la distribución de escarabajos acuáticos es un buen indicador de la diversidad de otros grupos. Sin embargo, el alcance en el que estos representan el contenido de biodiversidad de los ecosistemas acuáticos no ha sido evaluado (este es también el problema de la vasta mayoría de estudios que se apoyan en bioindicadores, los cuales han usado de forma general especies carismáticas). No obstante, hay numerosas razones para suponer que los coleópteros acuáticos son indicadores válidos de biodiversidad acuática (Jeffries 1988; Ribera y Foster 1993; Pearson, 1994; Fairchild *et al.*, 2000). Por otro lado, la representación de una cierta especie en las áreas prioritarias o en la red de reservas no asegura su persistencia o viabilidad a largo plazo, la cual depende de muchos factores, tales como el conjunto de objetivos de representación para esas especies, el tamaño de la reserva, la forma y la conectividad de las reservas, la viabilidad de las poblaciones en términos de tamaño y de características demográficas, etc. Así, algoritmos simples basados en la complementariedad pueden fallar en seleccionar áreas donde las especies tengan mayores probabilidades de persistencia (Nicholls, 1998). En este sentido, existen ensayos recientes para incorporar criterios de persistencia en métodos cuantitativos de selección de áreas o en el diseño de redes

de reservas (e.g. Margules y Pressey, 2000; Possingham *et al.*, 2000; Araujo y Williams, 2000; Gaston *et al.*, 2002).

Es necesaria la provisión de métodos y herramientas para identificar lugares prioritarios para la conservación de la biodiversidad de ecosistemas de aguas continentales. Aunque de forma general se ha desarrollado una variedad de esquemas para identificar sitios importantes para la biodiversidad, pocos han sido desarrollados específicamente para hábitats acuáticos. En este sentido, este estudio proporciona a conservacionistas, gestores y técnicos un método para identificar áreas prioritarias para la conservación de la biodiversidad acuática. Además, este análisis provee algunos datos de interés para su uso en políticas de conservación de la Naturaleza en el sureste de la Península Ibérica y en otras regiones semi-áridas de la Cuenca Mediterránea.

BIBLIOGRAFÍA

Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005. Assessing conservation priorities for insects: status of water beetles in southeast Spain. *Biological Conservation*, **121**, 79–90.

Aggarwal A., Garson J., Margules C.R., Nicholls A.O., Sarkar S. 2000. *ResNet Ver 1.1 Manual, Repor.* Biodiversity and Biocultural Conservation Laboratory, University of Texas, Austin.

Alba-Tercedor J., Sánchez-Ortega A. 1988. Un método rápido y simple para evaluar la calidad ecológica de las aguas corrientes basado en el de Hellawell (1978). *Limnética*, **4**, 51-56.

Allan J.D., Flecker A.S. 1993. Biodiversity conservation in running waters: Identifying the major factors that threaten destruction of riverine species and ecosystems. *BioScience*, **43**, 32-43.

Araujo M.B. 1998. Avaliação da biodiversidade em conservação. *Silva Lusitana*, **6**(1), 19-40.

Araujo M.B. 1999. Distribution patterns of biodiversity and the design of a representative reserve network in Portugal. *Diversity and Distributions*, **5**, 151-163.

Araujo M.B., Williams P.H. 2000. Selecting areas for species persistence using occurrence data. *Biological Conservation*, **96**, 331-345.

Beger M., Jones G.P., Munday P.L. 2003. Conservation of coral reef biodiversity: a comparison of reserve selection procedures for coral and fishes. *Biological Conservation*, **111**, 53-62.

Cellot B., Dole-Olivier M.J., Bornette G., Pautou G. 1994. Temporal and spatial environmental variability in the Upper Rhône river and its floodplain. *Freshwater Biology*, **31**, 311-325.

Church R.L., Stoms D.M., Davis F.W. 1996. Reserve selection as a maximal covering location problem. *Biological Conservation*, **76**, 105-112.

Crisp M.D., Laffan S., Linder H.P., Monro A. 2001. Endemics in the Australian flora. *Journal of Biogeography*, **28** (2), 183-198.

Csuti B., Polasky S., Williams P.H., Pressey R.L., Camm J.D., Kershaw M., Kiester A.R., Downs B., Hamilton R., Huso M., Sahr K. 1997. A Comparison of Reserve Selection Algorithms Using Data on Terrestrial Vertebrates in Oregon. *Biological Conservation*, **80**, 83-97.

Davis J.A., Rolls S.W., Balla S.A. 1987. The role of the Odonata and aquatic Coleoptera as indicators of environmental quality in wetlands. En: *The Role of Invertebrates in Conservation and Biological Survey* (ed. Mayer J.D.), pp. 31-42. Western Australian Department of Conservation and Land Management: Australia.

Delgado J.A., Soler A.G. 1997. El género *Ochthebius* Leach, 1815 en la cuenca del río Segura (Coleoptera: Hydraenidae). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **21** (1-2), 73-87.

Delgado J.A., Millán A., Soler A.G. 1992. El género *Hydraena* Kugelann, 1794 en la cuenca del río Segura. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **16**, 71-81.

Eyre M.D., Rushton S.P. 1989. Quantification of conservation criteria using invertebrates. *Journal of Applied Ecology*, **26**, 159-71.

Fairchild G.W., Faulds, A.M., Matta J.F. 2000. Beetle assemblages in ponds: effects of habitat and site age. *Freshwater Biology*, **44** (3), 523-534.

Foster G.N. 1987. The use of Coleoptera records in assessing the conservation status of wetlands. En: *The use of invertebrate community data in environmental assessment* (ed. Luff M.), pp. 8-18. University of Newcastle, Newcastle upon Tyne.

Foster G.N. 1996. Beetles as indicators of wetland conservation quality. En: *Environmental Monitoring, Surveillance and Conservation Using invertebrates* (ed. Eyre M.D.), pp. 33-35. EMS Publications. Newcastle Upon Tyne.

Foster G.N., Eyre M.D. 1992. *Classification and ranking of water beetle communities*. UK Nature Conservation No 1. Joint Nature Conservation Committee: Peterborough.

Foster G.N., Foster A.P., Eyre M.D., Bilton D.T. 1990. Classification of water beetle assemblages in arable fenland and ranking of sites in relation to conservation value. *Freshwater Biology*, **22**, 343-354.

Gaston K.J., Pressey R.L., Margules C.R. 2002. Persistence and vulnerability: retaining biodiversity in the landscape and in protected areas. *Journal of Biosciences*, **27**, 361-384.

Gil E., Montes C., Millán A., Soler A.G. 1990. Los coleópteros acuáticos (Dryopidae & Elmidae) de la cuenca del río Segura. SE de la Península Ibérica. *Anales de Biología*, **16**(5), 23-31.

Hellawell J.M. 1978. *Biological surveillance of rivers*. Water Research Center, Stevenage.

Jeffries M. 1988. Do water beetle communities reflect the wider freshwater community? A trial run. *Newsletter Balfour-Browne Club*, **42**, 14-17.

Kershaw M., Williams P.H., Mace G.M. 1994. Conservation of tropical antelopes: consequences and efficiency of using different site selection methods and diversity criteria. *Biodiversity and Conservation*, **3**, 354-372.

Kiester A.R., Scott J.M., Csuti B., Noss R. Butterfield B., Sahr K., White D. 1996. Conservation prioritization using gap data. *Conservation Biology*, **10**, 1332-1342.

Kirkpatrick J.B. 1983. An iterative method for establishing priorities for the selection of nature reserves: an example from Tasmania. *Biological Conservation*, **25**, 127-134.

Margules C.R., Usher M.B. 1981. Criteria used in assessing wildlife conservation potential: a review. *Biological Conservation*, **21**, 79-109.

Margules C.R., Pressey R.L. 2000. Systematic conservation planning. *Nature*, **405**, 243-253.

Margules C.R., Nicholls A.O., Pressey R.L. 1988. Selecting networks of reserves to maximise biological diversity. *Biological Conservation*, **43**, 63-76.

Master L.L., Flack S.R., Stein B.A. 1998. *Rivers of Life: Critical Watersheds for Protecting Freshwater Biodiversity*. The Nature Conservancy, Arlington, Virginia.

Médail F., Quézel P. 1997. Hot-spots analysis for conservation of plant biodiversity in the Mediterranean basin. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **84**, 112-127.

Millán A., Moreno J. L., Velasco J. 2001a. Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos de las lagunas de Albacete (Alboraj, Los Patos, Ojos de Villaverde, Ontalafia y Pétrola). *Sabuco*, **1**, 43-94.

Millán A., Moreno J. L., Velasco J. 2001b. Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos de las lagunas y humedales de Albacete (Lagunas de Ruidera, Salinas de Pinilla, Laguna del Saladar, Laguna del Salobralejo, Lagunas de Corral Rubio, Fuente de Isso y Fuente de Agua Ramos). *Sabuco*, **2**, 167-214.

Millán A., Moreno J. L., Velasco J. 2003. *Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos y semiacuáticos de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses, Albacete.

Millán A., Velasco J., Vidal-Abarca M.R., Suárez M.L., Ramírez-Díaz L. 1996. Distribución espacial de los Adepaga acuáticos (Coleoptera) en la cuenca del río Segura (SE de la Península Ibérica). *Limnetica*, **12** (2), 13-30.

Mittermeier R.A., Myers N., Thomsen J.B., da Fonseca G.A.B., Olivieri S., 1998. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: Approaches to setting conservation priorities. *Conservation Biology*, **12**, 516-520.

Moore J.L., Balmford A., Brooks T., Burgess N. D., Hansen L. A., Rahbek C., Williams P.H. 2003. Performance of Sub-Saharan Vertebrates as Indicator Groups for Identifying Priority Areas for Conservation. *Conservation Biology*, **17** (1), 207-218.

Myers N. 1988. Threatened biotas: 'hot-spots' in tropical forests. *The Environmentalist*, **8**, 187-208.

Myers N., Mittermeier R. A., Mittermeier C. G., Da Fonseca G. A. B., Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853-858.

Nicholls A.O. 1998. Integrating populations abundance, dynamics and distributions into broad-scale priority setting. In: *Conservation in a Changing World* (eds. Mace G.M. et al.), pp. 251-272. Cambridge University Press.

Nores C., García Alvarez E. 2000. Índice de valoración del territorio basado en la acumulación de especies amenazadas. *Naturalia Cantabrigiae*, **1**, 63-66.

Noos R.F. 1990. Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology*, **4**, 355-364.

Pearson D.L. 1994. Selecting indicator taxa for the quantitative assessment of biodiversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B*, **345**, 75-79.

Pearson D.L., Cassola F. 1992. World-wide Species Richness Patterns of Tiger Beetles (Coleoptera: Cicindelidae): Indicator Taxon for Biodiversity and Conservation Studies. *Conservation Biology*, **6** (3), 376-390.

Possingham H.P., Ball I., Andelman S. 2000. Mathematical methods identifying representative reserve networks. In: *Quantitative methods for conservation biology* (eds. Ferson S., Burgman M.), pp. 291-305. Springer-Verlag, New York.

Prendergast J.R., Quinn R.M., Lawton J.H., Eversham B.C., Gibbons D.W. 1993. Rare species, the coincidence of diversity hotspots and conservation strategies. *Nature*, **365**, 335-337.

Pressey R.L., Nicholls A.O. 1989. Efficiency in conservation evaluation: scoring versus iterative approach. *Biological conservation*, **50**, 199-218.

Pressey R. L., Humphries C. J., Margules C. R., Vane-Wright R. I., Williams P. H., 1993. Beyond opportunism: key principles for systematic reserve selection. *Trends in Ecology and Evolution*, **8**, 124-128.

Quézel P., 1995. La flore du basin mediterranea en: origine, mise en place, endemisme. *Ecologia Mediterranea*, **21**, 19-39.

Rebelo A.G., Siegfried W.R. 1992. Where should nature reserves be located in the Cape Floristic Region, South Africa? Models for the spatial configuration of a reserve network aimed at maximising the protection of floral diversity. *Conservation Biology*, **6**, 243-252.

Rey-Benayas J.M., de la Montaña E. 2003. Identifying areas of high-value vertebrate diversity for strengthening conservation. *Biological Conservation*, **114** (3), 357-370.

Reyers B., Jaarsveld A.S. 2000. Assessment techniques for biodiversity surrogates. *South African Journal of Science*, **96**, 406-408.

Ribera I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, **92**, 131-150.

Ribera I, Hernando C., Aguilera P. 1999. An Annotated checklist of the Iberian water beetles (Coleoptera). *Zapateri*, **8**, 43-111.

Ribera I., Foster G. 1993. Uso de Coleópteros acuáticos como indicadores biológicos (Coleoptera). *Elytron*, **6**, 61-75.

Ricciardi A., Rasmussen J.B. 1999. Extinction rates in north American freshwater fauna. *Conservation Biology*, **13**, 1220-1222.

Ricketts T.H., Daily G.C., Ehrlich P.R. 2002. Does butterfly diversity predict moth diversity? Testing a popular indicator taxon at local scales. *Biological Conservation*, **103**, 361-370.

Rosenberg D.M., Resh V.H. 1992. *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Chapman and Hall, London.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Velasco J., Millán A. 2003. *Los coleópteros acuáticos de la región de Murcia. Catálogo faunístico y áreas prioritarias de conservación*. Monografías SEA, vol. 10, Zaragoza.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Barahona J., Velasco J., Millán A. 2004. El regadío amenaza a los mejores ecosistemas acuáticos de Murcia. *Quercus*, **215**, 68-69.

Sarkar S., Aggarwal A., Garson J., Margules C.R., Zeidler J. 2002. Place prioritization for biodiversity content. *Journal of Biosciences*, **27**, 339-346.

Sarkar S., Margules C.R. 2002. Operationalizing Biodiversity for Conservation Planning. *Journal of Biosciences*, **27**, 299 -308.

Townsend C.R., Doledec S., Scarsbrook M.R. 1997. Species traits in relation to temporal and spatial heterogeneity in streams: a test of habitat templet theory. *Freshwater Biology*, **37**, 367-387.

Underhill L.G. 1994. Optimal and suboptimal reserve selection algorithms. *Biological Conservation*, **70**, 85-87.

Vane-Wright R.I., Humphries C.J., Williams P.H. 1991. What to protect? Systematics and the Agony of Choice. *Biological Conservation*, **55**, 235-254.

Williams P., Gibbons D.W., Margules C.R., Rebelo A., Humphries C.J., Pressey R.L. 1996. A comparison of richness hotspots, rarity hotspots and complementary areas for conservation diversity of British birds. *Conservation Biology*, **10**, 155-174.

Capítulo 3

Eficiencia de las áreas protegidas para representar la biodiversidad de ecosistemas acuáticos: el caso de una cuenca mediterránea (SE España)

Resumen

La biodiversidad de los sistemas de aguas continentales está, probablemente, más amenazada que la de otros ecosistemas. Aunque los espacios naturales protegidos (ENPs) juegan un papel fundamental en la protección de la biodiversidad y son la base de la mayoría de las políticas de conservación, la biodiversidad recogida en las redes actuales de ENPs es a menudo insuficiente, y se crean pocas reservas tomando en consideración la biota acuática. En este trabajo se estudia el rendimiento de las áreas protegidas en el contexto de la conservación de la biodiversidad de sistemas acuáticos utilizando datos de distribución de coleópteros acuáticos en la cuenca de un río mediterráneo. Aunque la actual red de áreas protegidas en el área de estudio cubre un número relativamente alto de especies de coleópteros acuáticos, la distribución y extensión de los ENPs son aún insuficientes para proteger la biodiversidad acuática, especialmente las especies de interés de conservación. Los métodos alternativos de selección de áreas (*hotspots* y complementariedad) fueron más eficaces que los ENPs para representar los escarabajos acuáticos. Dentro de éstos, la complementariedad fue el método más eficaz, siendo capaz de representar todas las especies en un área significativamente menor que la actual red de ENPs. Por otro lado, la futura Red Natura 2000 supondrá un incremento considerable en la superficie total protegida así como en la biodiversidad representada. Por desgracia, el hecho de que la distribución de una especie quede incluida dentro de un ENP no es una garantía de su supervivencia a largo plazo, ya que la extensión de los ENPs es a menudo insuficiente y pueden tener lugar alteraciones fuera de los límites del parque. Por tanto, se hace indispensable la gestión al nivel de cuenca y el mantenimiento de los caudales naturales para la conservación de la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos.

INTRODUCCIÓN

La biodiversidad de los ecosistemas de aguas continentales se encuentra, probablemente, más amenazada que la de otros ecosistemas (Allan y Flecker, 1993; Master *et al.*, 1998; Ricciardi y Rasmussen, 1999; Saunders *et al.*, 2002). Por ejemplo, la mayor parte de las más de 200 especies de vertebrados de ecosistemas acuáticos, o sistemas asociados a éstos, se encuentra en regresión (WCMC, 1998). Este hecho es particularmente importante en la Cuenca Mediterránea, considerada como uno de los puntos calientes de biodiversidad a escala mundial (Quézel, 1995; Mittermeier *et al.*, 1998; Myers *et al.*, 2000), y en la cual el paisaje ha estado sujeto a una fuerte influencia humana durante miles de años (Naveh y Lieberman, 1984). La transformación de los paisajes agrícolas, cambiando de sistemas de explotación extensiva a cultivos intensivos, se ha acelerado a lo largo del último siglo, ocasionando la pérdida progresiva de hábitats acuáticos continentales (Hollis, 1995; Stoate *et al.*, 2001). Un ejemplo de esta rápida transformación es el sureste de la Península Ibérica. Debido a que la escasez de agua es una característica propia de esta región, los sistemas acuáticos son especialmente importantes, siendo además particularmente ricos en especies raras o endémicas algunos de ellos (Moreno *et al.*, 1997; Gómez *et al.*, 2005).

Una estrategia muy común para evitar la pérdida de biodiversidad es el establecimiento de sistemas de áreas protegidas. Los espacios naturales protegidos (ENPs) juegan un papel fundamental en la protección de la biodiversidad y son la base de la mayoría de las políticas de conservación. Sin embargo, criterios estéticos y socio-económicos han predominado a menudo a la hora de elegir la localización de los ENPs, de forma que la selección de reservas ha sido tradicionalmente oportunista en función de la disponibilidad de áreas para conservación y las circunstancias políticas (Pressey, 1994), y este proceso es poco probable que sea óptimo desde el punto de vista de proteger tantas especies como sea posible (Prendergast *et al.*, 1999). De hecho, numerosos autores han demostrado que la biodiversidad recogida por las áreas protegidas existentes, en diversas regiones del planeta y a diferentes escalas geográficas, es inadecuada (*e.g.* Bruner *et al.*, 2000; Hopkinson *et al.*, 2000; Powell *et al.*, 2000; Scott *et al.* 2001; Rodrigues *et al.*, 2004). No obstante, se han realizado muy pocos análisis de las redes de áreas protegidas basados específicamente en su capacidad para proteger la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos (*e.g.* Keith, 2000), a pesar de que la pérdida de especies en estos hábitats es especialmente dramática.

Debido a que existe una escasez generalizada de inventarios sobre la biodiversidad de los sistemas de aguas continentales y que no parece plausible que se disponga de tales inventarios completos en un futuro próximo, la evaluación de la eficiencia de las redes de áreas protegidas debe realizarse a través de métodos indirectos en aquellas regiones donde no se dispone de estos datos. Una solución relativamente común para estimar la biodiversidad en situaciones de escasez de datos se basa en los taxones indicadores, es decir, en el empleo de determinados grupos taxonómicos para predecir la biodiversidad total (Noss, 1990). Esta estrategia se basa

en la idea general de la concordancia entre los patrones de diversidad existente entre diferentes taxones.

En este trabajo se pretende estudiar el rendimiento de las áreas protegidas en el contexto de la conservación de la biodiversidad de sistemas acuáticos utilizando datos de distribución de coleópteros acuáticos. El grupo de los coleópteros acuáticos es potencialmente un indicador ideal de la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos y cumple la mayoría de los criterios propuestos en la literatura para tales propuestas (Noss, 1990; Pearson, 1994). Su taxonomía es bien conocida y presentan una amplia distribución mundial; ocupan el rango completo de hábitats acuáticos, encontrándose en toda clase de cuerpos de agua, tanto de agua dulce como salinos, desde arroyos de montaña a salinas y *rock pools*, desde pequeñas charcas a grandes lagos y pantanos, y desde ríos hasta acequias y balsas de riego. Además, muestran especialización al nivel de especie en los diferentes hábitats y están presentes todo el año, a veces en gran número. La mayoría de las especies tienen demandas ecológicas suficientemente limitadas como para permitirnos hacer predicciones sobre cambios en la calidad y en la historia de usos del suelo, o simplemente para caracterizar la comunidad y el hábitat (Foster 1987; Ribera y Foster 1993; Foster 1996). En la Península Ibérica, los coleópteros acuáticos son un grupo bien conocido (e.g. Ribera *et al.* 1998; Ribera 2000) con una elevada riqueza de especies. Son también uno de los grupos mejor estudiados de insectos acuáticos en el sureste de España (e.g. Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003; Millán *et al.*, 2006) y han sido utilizados como indicadores para identificar áreas prioritarias en este área (Sánchez-Fernández *et al.*, 2004).

Aquí se investiga cómo de bien recogen las áreas protegidas las especies de coleópteros acuáticos, los cuales son empleados como indicadores de biodiversidad de ecosistemas acuáticos. Para tal fin, se evalúa la eficiencia del sistema actual de ENPs y de la futura Red Natura 2000 para representar las especies de este grupo de insectos. Además, se examina el rendimiento de las áreas protegidas en relación con el de hipotéticas redes de áreas alternativas seleccionadas a partir de otras estrategias, y se exploran áreas adicionales necesarias para completar la red actual de ENPs.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

El área considerada en este análisis es la Cuenca del Río Segura, localizada en el sureste de la Península Ibérica y abarcando una superficie de 18.815 km² (Figura 1). Este área tiene clima mediterráneo y las precipitaciones muestran una media anual en torno a los 375 mm. La cuenca del Segura está caracterizada por ciclos de sequías y riadas, ambas frecuentes y alternantes. La litología y la geología de la región son muy complejas, con predominio de calizas y margas. Existe un elevado número de arroyos temporales con flujo irregular, usualmente de aguas mineralizadas y, otros muchos,

eutrofizados (Vidal-Abarca *et al.*, 1992). Una característica muy importante de este área es la elevada demanda de agua para agricultura en las últimas décadas (Martínez-Fernández *et al.*, 2000), y el incremento de la carga de contaminación orgánica de muchos cuerpos de agua en la cuenca, especialmente en los tramos bajos de ríos y arroyos (Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003; Gómez *et al.*, 2005). Todos estos factores se combinan para producir una situación de alto estrés ambiental.

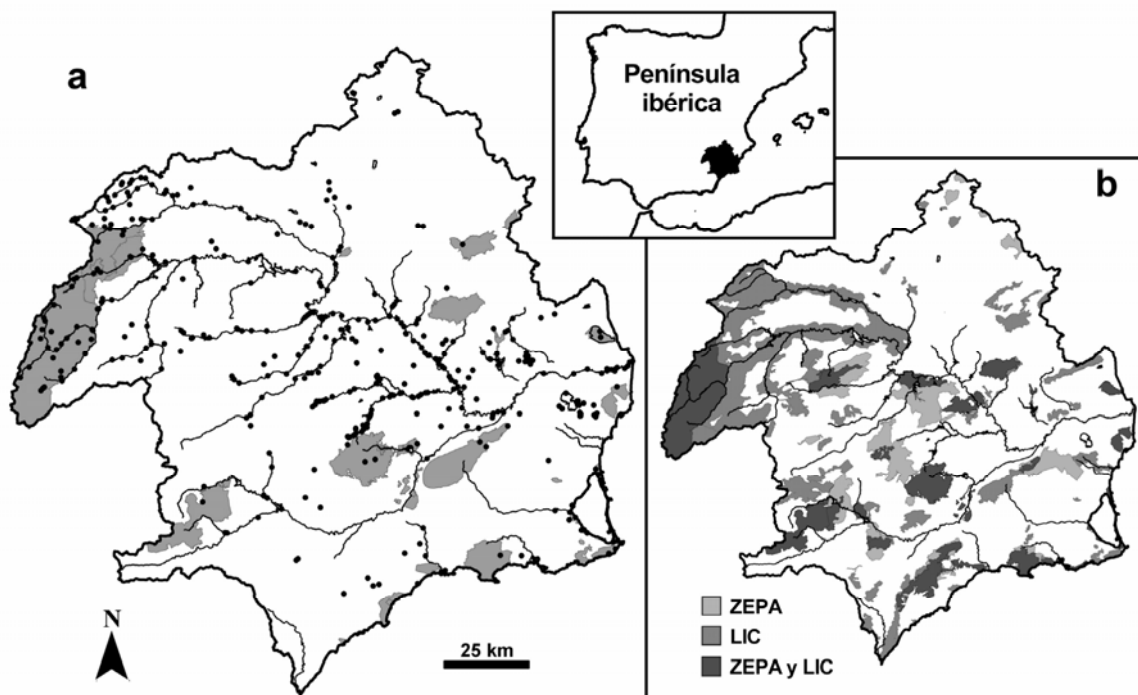


Figura 1. a) Mapa del área de estudio con los principales cursos de agua. La localización de las estaciones de muestreo es indicada con un punto negro y el actual sistema de ENPs se representa como áreas sombreadas. b) Futura Red Natura 2000 en la Cuenca del Río Segura (LIC: sitios propuestos como Lugares de Importancia Comunitaria); ZEPA: Zonas de Especial Protección para las Aves).

Datos de coleópteros acuáticos

Todas las familias de coleópteros acuáticos (*sensu* Jäch, 1998) presentes en el área de estudio fueron incluidas en el análisis. Aquellas subespecies bien establecidas taxonómicamente fueron también consideradas. Con el fin de minimizar el grado de incertidumbre, algunas especies no se incluyeron debido al conocimiento insuficiente que existe sobre su distribución y/o taxonomía (ver Abellán *et al.*, 2005c). Los datos de las especies fueron obtenidos de la literatura y de trabajo de campo. Hasta donde fue posible, se consideraron todos los datos publicados e inéditos actualmente conocidos. En total, se emplearon en el análisis más de 5.800 registros válidos (del tipo especie/localidad/fecha) de un total de 209 especies de coleópteros acuáticos. Debido a que no existen inventarios completos y extensivos para otros taxones acuáticos en la Cuenca del Río Segura, los registros de escarabajos acuáticos utilizados en el análisis representan el conjunto de datos de biodiversidad de sistemas acuáticos más completo actualmente disponible para el área de estudio.

Los datos de campo fueron obtenidos entre 1981 y 2004 de 423 localidades (Figura 1), la mayoría de las cuales fueron muestreadas al menos dos veces. Los sitios prospectados representan la diversidad total de los tipos de cuerpos de agua presentes en el área de estudio. Siguiendo a Millán *et al.* (2002), estas localidades de muestreo fueron asociadas a hábitats tipo de acuerdo a parámetros ecológicos y ambientales. Así, se distinguieron dieciocho tipos de hábitat (Tabla 1).

Para los objetivos del estudio, se distinguieron tres grupos de especies con interés de conservación: especies raras, endemismos ibéricos y especies vulnerables. Se utilizó el criterio de una cuadrícula UTM 10 x 10 Km dentro del área de estudio para definir especies raras a escala local. Se consideró un total de 33 especies endémicas de la Península Ibérica siguiendo a Ribera *et al.* (1998). Para identificar las especies vulnerables, las 209 especies registradas en el área de estudio fueron clasificadas de acuerdo a su prioridad de conservación a escala local según la categorización de vulnerabilidad propuesta por Abellán *et al.* (2005b) para los coleópteros acuáticos (ver capítulo 1), la cual toma en consideración un conjunto de seis variables (distribución general, endemidad, rareza, persistencia, rareza del hábitat y pérdida de hábitat). De esta forma, se consideraron siete especies como vulnerables (aquellas pertenecientes a la clases de vulnerabilidad *alta* y *extrema*; ver Abellán *et al.*, 2005b)

Datos de áreas protegidas

Las áreas protegidas consideradas fueron: (1) los ENPs actuales (las áreas protegidas según la legislación de las diferentes Comunidades Autónomas españolas) y (2) la futura Red Natura 2000 dentro de la Cuenca del Río Segura.

En España, gran parte de las competencias en conservación de la naturaleza pertenecen a las Comunidades Autónomas. Sin embargo, las distintas leyes regionales difieren en las categorías y tipos de áreas protegidas, que corresponden, en muchos casos, a diferentes grados de protección. Debido a que la cuenca del Segura

abarca, al menos parcialmente, cuatro Comunidades Autónomas españolas, diferentes figuras de áreas protegidas, designadas bajo diferentes leyes regionales, caen dentro del área de estudio. En el presente trabajo, todas ellas fueron consideradas como ENPs. Así, varias capas cartográficas, aportadas por los departamentos de conservación regionales, fueron editadas y combinadas para producir una única capa de áreas protegidas actuales a través de un Sistema de Información Geográfica.

Por otro lado, la Red Natura 2000 constituye la base de las medidas para proteger la biodiversidad en Europa. Bajo la “Directiva Hábitats” (Directiva del Consejo 92/43/EEC), los Estados Miembros deben preparar y proponer a la Comisión Europea una lista nacional de Lugares de Importancia Comunitaria (pLICs). Estos serán después designados por los Estados Miembros como Zonas de Especial Conservación (ZECs) (Artículo 4.4). Estos ZECs, junto con las Zonas de Especial Protección para las Aves (ZEPAs) designadas bajo la “Directiva Aves” (Directiva del Consejo 79/409/EEC), formarán conjuntamente la futura Red Natura 2000 (Artículo 3.1 de la “Directiva Hábitats”).

Evaluación de la eficiencia

Se examinó el rendimiento del sistema actual de ENPs y de la futura Red Natura 2000 en términos de la biodiversidad de sistemas acuáticos recogida, estimada a partir de las 209 especies de coleópteros acuáticos, a través del solapamiento espacial de la localización de sus capturas y las áreas protegidas en un Sistema de Información Geográfica con el programa Arcview 3.1 (ESRI inc.). La eficiencia de cada red de áreas protegidas para representar la diversidad de escarabajos acuáticos (total de especies, especies raras, endemismos ibéricos y especies vulnerables) fue evaluada usando dos medidas diferentes. Primero, una especie fue considerada como protegida cuando al menos una de sus capturas está dentro de los límites de un área protegida. Aunque esta es la medida más tradicional de eficiencia (Rodrigues *et al.*, 1999), puede ser engañosa si la especie sólo está representada en sitios que no son adecuados para asegurar su supervivencia (Gaston *et al.*, 2001). Por tanto, como una segunda medida de eficiencia, se tomó en cuenta la viabilidad de las especies y se determinó el número de especies con dos o más capturas (localidad/fecha) en el sistema de áreas protegidas. La asunción en la que se basa esta segunda medida es que la presencia repetida de una especie en diferentes fechas de muestreo dentro de un área protegida determinada y/o la presencia de una especie en al menos dos áreas protegidas de la red de áreas proporciona una medida mejor de su mantenimiento a largo plazo. Para ello, las especies con sólo una captura en el conjunto de datos (once especies) fueron eliminadas del análisis.

Además, el rendimiento de los sistemas de áreas protegidas fue comparado con el de redes hipotéticas de áreas seleccionadas por métodos alternativos. Primero, se seleccionó de forma aleatoria una superficie equivalente en forma de cuadrículas UTM 5 x 5 Km (es decir, 74 cuadrículas para el actual sistema de ENPs y 216 para la Red Natura 2000). Esta red de áreas aleatorias permite estimar el máximo número de especies que se esperaría que quedaran recogidas de forma casual, y fue realizada a

través de simulaciones al azar (1000 veces) con el programa EstimateS (Colwell, 2005). Además, 20 de las 213 cuadrículas UTM 5x5 Km con datos de presencia de coleópteros acuáticos fueron seleccionadas por diferentes métodos de selección de áreas: *hotspots* y complementariedad. Este número (20 cuadrículas) es arbitrario pero conveniente para comparar los resultados de los métodos de selección de áreas respecto a las áreas protegidas. Las 20 cuadrículas representan sobre el 3% del área total de la Cuenca del Segura y alrededor del 10% de la superficie prospectada.

Se seleccionaron los *hotspots* de riqueza (suma de las especies presentes en cada cuadrícula) y los *hotspots* de rareza (ver Abellán *et al.*, 2005c para más detalles; capítulo 2). La complementariedad hace referencia al grado en el que un área contribuye con atributos no representados (*e.g.* especies) a un conjunto de áreas (Vane-Wright *et al.* 1991), y es usada para buscar conjuntos de áreas que, en combinación, muestran la mayor representación de diversidad. La complementariedad fue utilizada para maximizar el número de especies representadas en un número determinado de áreas (20 cuadrículas en este caso). El análisis de complementariedad fue realizado usando el programa ResNet (Aggarwal *et al.*, 2000; ver también Sarkar *et al.*, 2002), que utiliza una técnica heurística que es una variación del algoritmo propuesto originariamente por Margules *et al.* (1988) (para más detalles ver Abellán *et al.*, 2005c).

Además, se utilizó la complementariedad para encontrar un conjunto mínimo de cuadrículas que incluyese todas las especies, así como para identificar aquellos conjuntos de áreas necesarias para eliminar los vacíos en la representación de especies en el sistema actual de áreas protegidas. Para ello, las cuadrículas con protección (es decir, aquellas cuyas localidades de muestreo quedan incluidas dentro de los límites de algún ENP) fueron preseleccionadas y se eliminaron del análisis las especies contenidas en las mismas. Así, se exploraron áreas adicionales que complementen al actual sistema de ENPs.

Tabla 1. Representación de los hábitats tipo de las localidades de muestreo incluidas en la red de ENPs, la Red Natura 2000 y las áreas prioritarias identificadas por los métodos de selección alternativos en el área de estudio.

Habitat tipo	Nº localidades	Representación						
		ENPs	Natura 2000	Hotspots de riqueza	Hotspots de rareza	Áreas complementarias	Áreas complementarias (representación total)	
Arroyos de cabecera	64	19 (29.7%)	51 (79.7%)	24 (37.5%)	10 (15.6%)	10 (15.6%)	15 (23.4%)	
Arroyos de vega media	75	16 (21.3%)	51 (68%)	16 (21.3%)	4 (5.3%)	7 (9.3%)	10 (13.3%)	
Ríos	23	3 (13%)	16 (69.6%)	—	—	1 (4.3%)	1 (4.3%)	
Ríos influidos por embalses	11	—	7 (63.6%)	1 (9.1%)	—	—	—	
Arroyos y ríos eutrofizados	12	—	3 (25%)	—	—	—	—	
Arroyos salinos	57	5 (8.8%)	14 (25%)	2 (3.5%)	2 (3.5%)	2 (3.5%)	3 (5.3%)	
Fuentes	25	6 (24%)	14 (56%)	1 (4%)	4 (16%)	4 (16%)	4 (16%)	
Canales de riego	7	2 (28.6%)	2 (28.6%)	—	2 (28.6%)	2 (28.6%)	2 (28.6%)	
Embalses	12	2 (16.7%)	8 (66.7%)	2 (16.7%)	—	—	—	
Balsas de riego	44	1 (2.3%)	3 (6.8%)	—	3 (6.8%)	1 (2.3%)	2 (4.5%)	
Lagunas kársticas	1	1 (100%)	1 (100%)	—	1 (100%)	1 (100%)	1 (100%)	
Lagunas endorreicas	6	1 (16.7%)	4 (66.7%)	1 (16.7%)	3 (50%)	2 (33.3%)	2 (33.3%)	
Pozas, charcas y otros humedales	44	16 (36.4%)	19 (43.2%)	2 (4.5%)	14 (31.8%)	14 (31.8%)	14 (31.8%)	
Salinas interiores	6	2 (33.3.6%)	3 (42.9%)	—	—	1 (16.7%)	1 (16.7%)	
Tramos de río canalizados	26	—	1 (3.8%)	—	1 (3.8%)	—	—	
Arrozales	2	—	2 (100%)	—	—	—	—	
Salinas costeras	6	4 (66.7%)	5 (83.3%)	—	3 (50%)	3 (50%)	3 (50%)	
Rocks pools	2	1 (50%)	1 (50%)	—	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	

RESULTADOS

La actual red de ENPs en la cuenca del Segura cubre algo más de 1.850 km², el 9.7% de su superficie total, a través de 26 reservas con diferentes categorías de protección (Figura 1). De ellas, sólo seis podrían ser consideradas como creadas específicamente para la conservación de la biota de ecosistemas acuáticos continentales. Otros seis ENPs podrían considerarse como reservas mixtas, creadas para proteger al mismo tiempo la biodiversidad acuática y forestal o la de ambientes acuáticos continentales y marinos. Los ENPs forestales fueron los más abundantes, cubriendo además la mayor superficie. De forma similar, las reservas costeras fueron muy abundantes.

Se encontró un total de 169 (80.9%) especies incluidas en el sistema actual de ENPs, de las cuales 12 (50%) son raras, 27 (81.81%) son endemismos ibéricos y 5 (71.43) son vulnerables (Tabla 2). No obstante, cuando se tuvo en cuenta la viabilidad de las especies (considerando como protegidas aquellas especies con al menos dos capturas en la red de áreas protegidas), el número de especies incluidas en el sistema de ENPs decreció considerablemente (Tabla 3). En ambos casos, la mayoría de los taxones no representados fueron principalmente especies de rango restringido, es decir, con cinco o menos cuadrículas de 5 x 5 Km en el área de estudio. Sin embargo, la red de ENPs incluyó un número significativamente mayor de especies que las áreas escogidas aleatoriamente (Tablas 2 y 3).

Tabla 2. Número y porcentaje de especies, especies raras, endemismos ibéricos y especies vulnerables incluidas en las áreas protegidas (ENPs actuales y futura Red Natura 2000) y grupos de áreas identificadas de acuerdo a métodos de selección alternativos. Se indica también la superficie (y porcentaje) de la Cuenca del Río Segura cubierta por los distintos conjuntos de áreas.

	Área (km ²)	Representación			
		Total de especies (209)	Especies raras (24)	Endemismos ibéricos (33)	Especies vulnerables (7)
ENPs	1850 (9.7%)	169 (80.9%)	12 (50%)	27 (81.81%)	5 (71.43%)
Natura 2000	5397 (28.4%)	207 (99%)	22 (91.7%)	33 (100%)	7 (100%)
Áreas aleatorias ^a	1850 (9.7%)	114 (54.5%)	2 (8.3%)	14 (42.4%)	1 (14.3%)
Áreas aleatorias ^b	5400 (28,4%)	163 (78%)	7 (29.2%)	23 (69.7%)	3 (42.9%)
Hotspots de riqueza	500 (2.6%)	182 (87.08%)	14 (58.33%)	29 (87.88%)	4 (47.14%)
Hotspots de rareza	500 (2.6%)	181 (86.6)	19 (79.2%)	30 (90.9%)	7 (100%)
Áreas complementarias	500 (2.6%)	201 (96.2%)	23 (95.8%)	33 (100%)	7(100%)
Áreas complementarias (representación total)	625 (3.2%)	209 (100%)	24 (100%)	33 (100%)	7 (100%)

^a Conjunto aleatorio de cuadrículas de 5 x 5 Km que representa una superficie equivalente a la del sistema actual de ENPs (74 cuadrículas)

^b Conjunto aleatorio de cuadrículas de 5 x 5 Km que representa una superficie equivalente a la de la futura Red Natura 2000 (216 cuadrículas)

Tabla 3. Número y porcentaje de especies, especies raras, endemismos ibéricos y especies vulnerables incluidas en las áreas protegidas (ENPs actuales y futura Red Natura 2000) y grupos de áreas identificadas de acuerdo a métodos de selección alternativos tomando en cuenta la viabilidad de las especies (ver “Métodos”). Se indica también la superficie (y porcentaje) de la Cuenca del Río Segura cubierta por los distintos conjuntos de áreas.

	Área (km ²)	Representación			
		Total de especies (198)	Especies raras (13)	Endemismos ibéricos (29)	Especies vulnerables (4)
ENPs	1850 (9.7%)	139 (70.2%)	7 (53.8%)	23 (79.3%)	3 (75%)
Natura 2000	5397 (28.4%)	187 (94.4%)	11 (84.6%)	29 (100%)	4 (100%)
Áreas aleatorias ^a	1850 (9.7%)	113 (50.1%)	1 (7.7%)	14 (48.3%)	1 (25%)
Áreas aleatorias ^b	5400 (28.6%)	161 (81.3 %)	4 (30.8%)	22 (75.9%)	3 (75 %)
Hotspots de riqueza	500 (2.6%)	158 (79.8%)	6 (46.2%)	25 (86.2%)	2 (50%)
Hotspots de rareza	500 (2.6%)	147 (74.2%)	9 (69.2%)	24 (82.8%)	3 (75%)
Áreas complementarias	500 (2.6%)	165 (83.3%)	10 (76.9%)	26 (89.7%)	4 (100%)
Áreas complementarias (representación total)	925 (4.9%)	198 (100%)	13 (100%)	29 (100%)	4 (100%)

^a Conjunto aleatorio de cuadrículas de 5 x 5 Km que representa una superficie equivalente a la del sistema actual de ENPs (74 cuadrículas)

^b Conjunto aleatorio de cuadrículas de 5 x 5 Km que representa una superficie equivalente a la de la futura Red Natura 2000 (216 cuadrículas)

Los hábitats peor representados (excluyendo algunos ambientes creados por el hombre como balsas de riego y arrozales) fueron los arroyos salinos y los tramos medios de ríos (Tabla 1). Por otro lado, los cuerpos de agua de media montaña (tales como arroyos de cabecera y fuentes), las salinas costeras e interiores y los humedales fueron los hábitats tipo mejor representados en la red actual de ENPs. Sin embargo, la mayoría de las especies no incluidas aparecen en arroyos de cabecera, indicando que la representación de este hábitat dentro del sistema de ENPs es aún insuficiente.

Las Tablas 2 y 3 muestran el número y porcentaje del total de especies, de especies raras, de endemismos ibéricos y de especies vulnerables incluidas en los conjuntos de áreas prioritarias (20 cuadrículas) identificadas de acuerdo a cada uno de los tres métodos aplicados. En ambas medidas de efectividad, los métodos alternativos de selección de áreas (*hotspots* y complementariedad) fueron más eficientes que los ENPs para representar la riqueza total de especies así como para incluir especies con interés de conservación. Aunque los *hotspots* de riqueza fueron más eficientes que los de rareza a la hora de incluir riqueza de especies, los últimos generalmente cubrieron un mayor número de especies de interés. No obstante, el análisis de complementariedad fue el método más efectivo para representar especies. Las áreas de mayor riqueza de especies se localizaron casi exclusivamente en el noroeste de la cuenca, en muchos casos asociadas con sistemas de cabecera de media montaña (Tabla 1). Por el contrario, las áreas identificadas como *hotspots* de rareza y las áreas complementarias tuvieron una distribución más dispersa en el área de estudio, cubriendo también áreas bajas y hábitats costeros (Figura 2 y Tabla 1).

Dado el objetivo de representar a todas las especies, la estrategia de complementariedad fue capaz de definir una red alternativa con total representación (al menos una captura de cada especie) formada por sólo 25 cuadrículas 5 x 5 Km o 625 km² (Tabla 2 y Figura 2). Esta superficie representa un tercio del área cubierta por el sistema actual de ENPs. Por otro lado, fueron necesarias 37 cuadrículas (925 km²) para cubrir a todas las especies con al menos dos capturas usando complementariedad (Tabla 3), lo cual representa aproximadamente la mitad de la superficie de los ENPs.

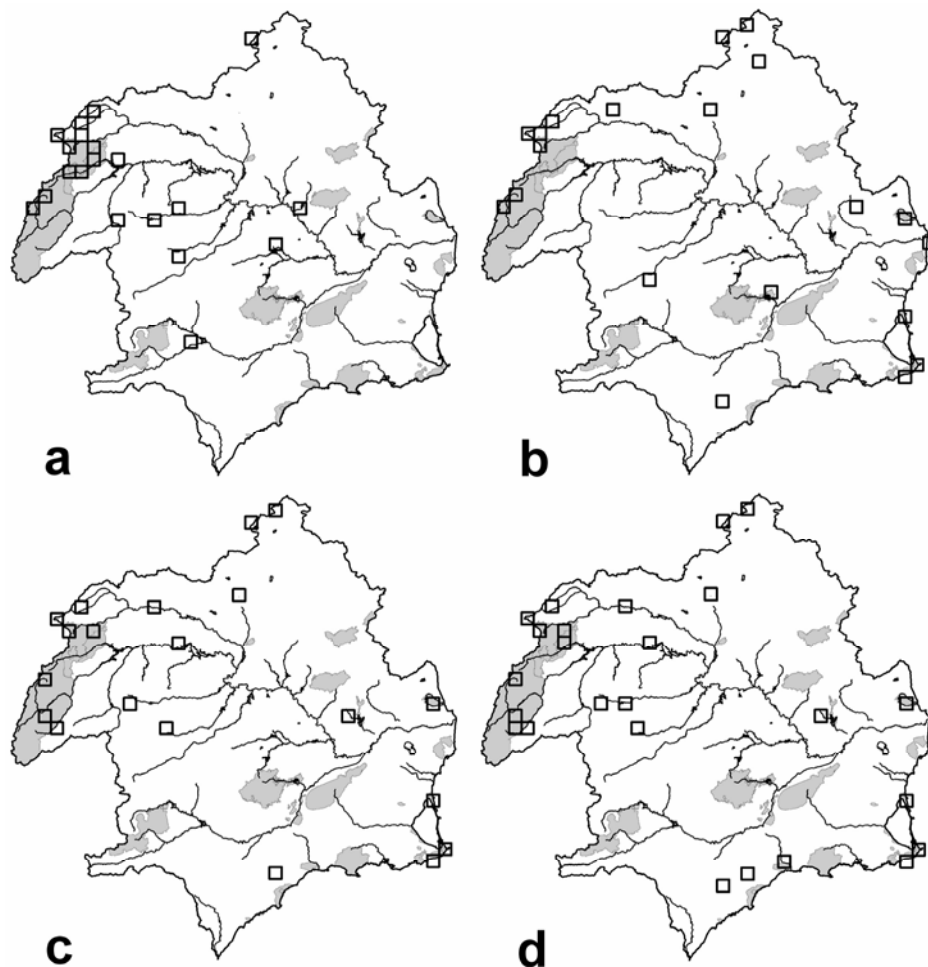


Figura 2. Distribución de las áreas prioritarias identificadas por métodos de selección de áreas alternativos. En *a*, *b* y *c* se muestran las 20 cuadrículas seleccionadas como hotspots de riqueza, hotspots de rareza y áreas complementarias, respectivamente. En *d* se muestra un conjunto de áreas complementarias que incluye a todas las especies al menos una vez.

Por otro lado, cuando fue considerada la contribución de las áreas protegidas existentes (a través de la preselección de aquellas cuadrículas con protección), el número extra de cuadrículas de 5 x 5 Km necesarias para representar a todas las especies fue de nueve. No obstante, esta cifra se incrementó hasta 19 para cubrir a todas las especies con al menos dos capturas (Figura 3). Estas cuadrículas deberían ser consideradas como prioritarias para eliminar los huecos en la representación de la biodiversidad de ecosistemas acuáticos en la red de áreas protegidas, las cuales incluyen arroyos de cabecera de especial valor de biodiversidad no incluidos por la red actual de ENPs, así como hábitats poco representados tales como lagunas endorreicas y arroyos salinos.

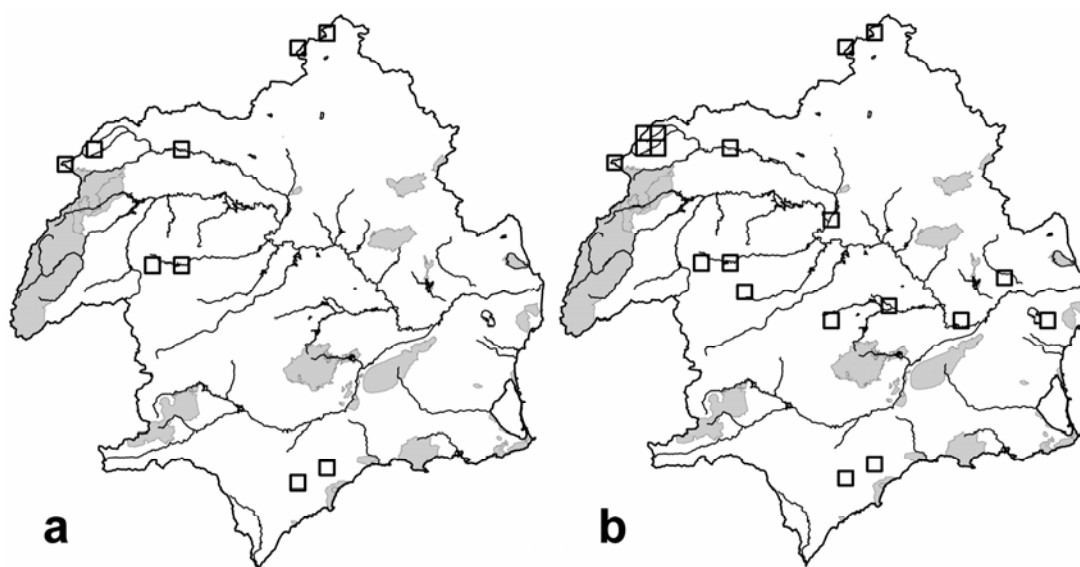


Figura 3. Conjuntos de áreas complementarias identificadas para eliminar los huecos en la representación de especies del actual sistema de ENPs. En *a* se muestran las áreas complementarias necesarias para representar a todas las especies al menos una vez (una captura) y en *b* las áreas complementarias necesarias para incluir a todas las especies con al menos dos capturas.

Hasta la fecha, la Red Natura 2000 en el área de estudio (excluyendo ambientes marinos) está compuesta por 67 sitios propuestos como Lugares de Importancia Comunitaria (LICs), que cubren sobre 4600 km² (23% de la cuenca), y por 22 Zonas de Especial Protección para las Aves (ZEPAs), cubriendo más de 2772 km² (14.6% del territorio). Como los lugares que pertenecen a ambas categorías (LICs y ZEPAs) pueden solapar total o parcialmente, la extensión real de la red completa está en torno a 5397 km² (Figura 1b). Esta superficie representa alrededor del 28.4% de la cuenca del Segura y supone un incremento de más del 192% de la superficie protegida. En términos de representación de biodiversidad, un elevado porcentaje de especies quedaron incluidas dentro de este sistema de áreas protegidas, recogiendo todas las

especies endémicas y vulnerables (Tablas 2 y 3). Estos valores fueron también significativamente mayores que los obtenidos para un número equivalente de cuadrículas representando una superficie equivalente y elegidas de forma aleatoria (tabla 3). No obstante, esta elevada representación de especies pudo lograrse sólo a través de los LICs, y la incorporación de las ZEPAs en el análisis, a pesar de incrementar la extensión de la red total, no incluyó más especies. Por otro lado, la Red Natura 2000 incluirá una representación más completa de hábitats tipo que la actual red de ENPs, cubriendo mejor hábitats actualmente poco representados tales como los cursos medios de ríos, las lagunas endorreicas y los arroyos salinos.

DISCUSIÓN

Aunque la red actual de ENPs en la Cuenca del Río Segura cubre un número relativamente alto de especies de coleópteros acuáticos, la distribución y extensión de las áreas protegidas es aún inadecuada o insuficiente para proteger la biodiversidad de ecosistemas acuáticos, ya que no quedan recogidas muchas de las especies con interés de conservación (especies raras, endémicas y vulnerables). Esto es especialmente patente cuando se toma en cuenta la viabilidad de las especies para considerarlas como representadas en la red de ENPs. Ciertamente, esta falta de eficiencia está relacionada con los criterios usados para designar las áreas protegidas. El establecimiento de las primeras áreas protegidas en el área de estudio se realizó utilizando principalmente criterios distintos a los de biodiversidad (paisajes bellos, naturalidad, etc.) (Morillo & Gómez-Campo, 2000), y en consecuencia tales espacios pueden no contener alta biodiversidad (Pressey, 1994). A partir de las últimas décadas, y como respuesta a la concienciación creciente de la necesidad de conservar la biodiversidad, los gobiernos regionales comenzaron a completar los huecos en los tipos de hábitats representados y se le dio mayor consideración a aspectos como altos niveles de endemismo y la presencia de hábitats o especies raras o amenazadas. No obstante, la designación de áreas protegidas ha estado polarizada hacia determinados grupos de organismos, tales como los vertebrados terrestres (especialmente aves y mamíferos emblemáticos o amenazados) y las plantas superiores.

Por tanto, los esfuerzos por conservar la biodiversidad de los ambientes acuáticos, si exceptuamos a las aves acuáticas, han sido a menudo inexistentes o ineficaces, y las áreas protegidas han sido generalmente creadas con poca consideración hacia las necesidades de las especies acuáticas (Saunders *et al.*, 2002). Este hecho queda patente en el bajo número de áreas creadas específicamente para la conservación de la biota de aguas continentales dentro del área de estudio. De igual forma, la mayor representación de cuerpos de agua típicos de sistemas forestales (como arroyos de cabecera y fuentes) con respecto a otros hábitats como arroyos salinos o cursos medios de ríos enfatiza esta polarización hacia los sistemas terrestres en el establecimiento de reservas. De manera similar, la elevada representación de algunos hábitats costeros es, en realidad, consecuencia de los esfuerzos para conservar algunas aves acuáticas o hábitats marinos, más que los sistemas de aguas continentales incluidos en los mismos.

Como cabría esperar, los métodos diseñados explícitamente para resolver problemas de representación (*hotspots* y complementariedad) fueron más eficientes que los ENPs y la Red Natura 2000 para representar los taxones en un área menor. Dentro de ellos, la estrategia más eficiente fue la basada en la complementariedad (ver Kiester *et al.*, 1996; Williams *et al.*, 1996; Araujo, 1999; para resultados similares), siendo capaz de representar todas las especies en un área significativamente menor que la red actual de ENPs. De hecho, la estrategia de complementariedad se ha revelado como el método más eficiente para representar objetivos de conservación usando datos de distribución de escarabajos acuáticos (Abellán *et al.*, 2005c).

La efectividad de los distintos conjuntos de áreas para representar la biodiversidad estuvo relacionada con la diversidad y calidad de los hábitats incluidos en los mismos. Ciertamente, los ENPs tienden a incluir hábitats más diferentes y bien conservados que las áreas elegidas de forma aleatoria. De igual forma, las áreas complementarias y los *hotspots* de rareza incluyeron una mayor diversidad de hábitats que los *hotspots* de riqueza, los cuales incluyeron casi exclusivamente arroyos de cabecera y arroyos de vega media (ver Tabla 1). Así, la incorporación de sistemas menos ricos en número de especies tales como arroyos salinos, charcas y hábitats costeros tuvo como consecuencia un incremento en la representación de especies (ver también Abellán *et al.*, 2005c; Capítulo 2). El hecho de que la Red Natura (que representó más especies que los actuales ENPs) incluyese algunos hábitats antrópicos que no parecían representados en el sistema de ENPs podría sugerir que un conjunto ideal de áreas para representar la mayor cantidad de especies debería incluir todos los niveles de estrés humano, desde ambientes prístinos hasta fuertemente impactados. Sin embargo, las especies que aparecen en hábitats creados por el hombre aparecen también en sistemas naturales, lo cual es corroborado por el hecho de que los conjuntos alternativos de áreas, tales como las áreas complementarias, fueron capaces de incluir todas las especies sin representar estos ambientes antrópicos (Tabla 1).

Por otro lado, además de la eficiencia intrínseca de la complementariedad en la representación de especies, el tamaño de las reservas puede estar jugando un papel importante sobre los resultados obtenidos. Se ha demostrado que una atomización en pequeñas reservas supone la inclusión de más especies que una simple gran reserva de área total equivalente (Simberloff y Abele, 1982), y que el porcentaje mínimo de área total necesaria para representar todas las especies decrece al reducirse el tamaño de las unidades (Rodrigues y Gaston, 2001). Sin embargo, a fin de que las redes de reservas seleccionadas cumplan con su papel de mantener la biodiversidad a largo plazo, el tamaño de las unidades de selección debe ser el idóneo para que las poblaciones de las especies tengan probabilidad de persistir, y estas pequeñas áreas, definidas por cuadrículas 5 x 5 Km, podría ser inadecuadas para la conservación de la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos que contienen. Así, se debe ir con cautela a la hora de interpretar e implementar los resultados obtenidos a través de la selección de áreas complementarias que suponen el conjunto de menor superficie (Rodrigues y Gaston, 2001). A pesar de ello, los resultados obtenidos con la estrategia de

complementariedad pueden ser particularmente útiles cuando se utilizan para detectar vacíos o huecos en los sistemas de áreas protegidas y para evaluar la eficiencia de redes actuales de reservas (Araujo, 1999). En este sentido, el análisis aquí realizado provee a gestores y conservacionistas algunos aspectos interesantes para la conservación de la biodiversidad acuática en el área de estudio.

La futura Red Natura 2000 supondrá un incremento considerable en la cantidad de superficie protegida, así como de especies representadas. Ya que la representación de especies conseguida no parece ser consecuencia sólo de este incremento en la superficie protegida (comparado con áreas aleatorias de similar superficie), estos resultados pueden estar relacionados con los criterios de designación. Los lugares propuestos como ZECs han sido seleccionados sobre la base de los hábitats y especies prioritarias listadas en los Anexos I (hábitats) y II (especies) de la “Directiva Hábitats” (Directiva del Consejo de la Unión Europea 92/43/EEC 1992). Así, la designación de los lugares está basada en una combinación de representación de especies y hábitats, rareza, estado de conservación, potencial para restauración y “valor ecológico” a escala global.

Desgraciadamente, el papel de la Red Natura 2000 en la conservación de la biodiversidad es aún incierto, ya que las medidas de protección para estas reservas no han sido establecidas explícitamente. La designación de ZECs requiere que los estados miembros establezcan medidas de conservación que correspondan a los requerimientos ecológicos de los hábitats del Anexo I y las especies del Anexo II presentes en el sitio (Artículo 6.1; Directiva 92/43/EEC 1992), y desarrollar los pasos apropiados para evitar el deterioro de los hábitats naturales y los hábitats de las especies por las cuales el sitio ha sido designado. Así, sólo si estas medidas toman en consideración la biodiversidad acuática la designación de ZECs será realmente eficiente para proteger esta biodiversidad. Sin embargo, las especies consideradas para la designación de ZECs son aún mayoritariamente vertebrados terrestres, y han sido listados muy pocos invertebrados acuáticos en el anexo II de la Directiva Habitats (Anexo II; Directiva 92/43/EEC).

En cualquier caso, la Red Natura 2000 ofrece una buena oportunidad para frenar la dramática pérdida de biodiversidad en el área de estudio. Al mismo tiempo, iniciativas regionales recientes están incrementando los esfuerzos para la preservación de la biodiversidad acuática. Han sido propuestos nuevos espacios (tales como las lagunas de Pétrola y Salobrelejo) para ser designados como áreas protegidas bajo la legislación autonómica en Castilla La-Mancha, que supondrá la inclusión de especies no representadas en el sistema actual de ENPs.

Los resultados obtenidos ilustran que la efectividad en la representación de especies para los diferentes escenarios de redes de áreas es muy sensible al criterio definido para considerar a las especies como cubiertas. Así, aunque el simple análisis de presencia podría sugerir una representación de especies exitosa, la segunda medida de efectividad arroja dudas sobre la viabilidad de las especies en las áreas protegidas y en los conjuntos de áreas alternativos. Algunas áreas protegidas,

especialmente si son ricas en especies, pueden también albergar un alto número de “especies turistas”, lo cual no implica que la protección será real para estas especies en el espacio protegido. Por tanto, el diseño de reservas debería tomar en cuenta consideraciones de viabilidad (e.g. Rodríguez *et al.*, 2000; Gaston *et al.*, 2001).

En este sentido, es importante tener en mente que la presencia de una especie dentro de un área protegida (incluso con múltiples capturas) no es una garantía *per se* de su supervivencia a largo plazo. Las áreas protegidas adolecen a menudo de no considerar aspectos importantes como la integridad del conjunto de la cuenca, la hidrología y la introducción de especies exóticas (Lake 1980; Skelton *et al.*, 1995; Moyle y Randall, 1998). Muchas actividades pueden desarrollarse fuera de los límites del parque teniendo, sin embargo, consecuencias negativas sobre los hábitats acuáticos del mismo, tales como la construcción de presas o la extracción de aguas para agricultura, alteraciones en los usos del suelo en la cuenca vertiente o la introducción de especies invasoras (Saunders *et al.*, 2002).

Estas limitaciones pueden percibirse en la mayoría de las actuales y futuras áreas protegidas en la Cuenca del Río Segura designadas para proteger los hábitats acuáticos. La extensión de los ENPs actuales a menudo comprende sólo el cauce y la llanura de inundación de tramos de ríos y arroyos (e.g. Sotos y bosque de ribera de Cañaverosa, Cañón de Almadenes y Rambla Salada), o el área de inundación de lagunas y humedales (e.g. El Hondo, La Mata y Laguna de Alboraj). Y este es también el caso de algunos LICs propuestos en el área de estudio (e.g. Río Quípar, Río Alharabe y Río Pliego). De hecho, muchos de estas áreas protegidas están actualmente alteradas por la regulación del caudal, la introducción de especies exóticas y alteraciones de los usos del suelo que tienen lugar aguas arriba o en el área adyacente (Sánchez-Fernández *et al.*, 2004). Por tanto, la presencia en un área protegida no es suficiente para considerar a salvo una especie. Un ejemplo es *Ochthebius glaber*, una especie amenazada a escala global (Abellán *et al.*, 2005b), con una distribución restringida a arroyos hipersalinos del sureste de la Península Ibérica. A pesar de que aparece en un área protegida (Humedal de Ajauque y Rambla Salada), las poblaciones de la especie en este parque se han reducido drásticamente en la última década debido a los cambios en los usos del suelo en la cuenca vertiente, los cuales han producido contaminación difusa y dulcificación de las aguas (Abellán *et al.*, 2005a).

En la Cuenca del Río Segura, así como en otras cuencas de ríos mediterráneos, el incremento de la carga de sedimentos y nutrientes consecuencia de las actividades agrícolas, y la alteración de los caudales son las amenazas más importantes para las especies y los hábitats acuáticos (Hollis, 1995; Millán *et al.*, 2002; Gómez *et al.*, 2005). Por tanto, la gestión al nivel de cuenca y el mantenimiento de los regímenes naturales de caudales son estrategias indispensables para la conservación de la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos continentales y debería ser tomada en consideración en la designación de reservas para su adecuada conservación.

BIBLIOGRAFÍA

- Abellán P., Sánchez-Fernández D., Ribera I., Velasco J., Millán A. 2005a. *Ochthebius glaber* (Col: Hydraenidae), un coleóptero acuático endémico de la Península Ibérica con elevada especificidad de hábitat. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **36**, 9-14.
- Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005b. Assessing conservation priorities for insects: status of water beetles in southeast Spain. *Biological Conservation*, **121**, 79–90.
- Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005c. Conservation of freshwater biodiversity: a comparison of different area selection methods. *Biodiversity and Conservation*, **14**, 3457-3474.
- Aggarwal A., Garson J., Margules C.R., Nicholls A.O., Sarkar S. 2000. *ResNet Ver 1.1 Manual*, Biodiversity and Biocultural Conservation Laboratory, University of Texas, Austin.
- Allan J.D., Flecker A.S. 1993. Biodiversity conservation in running waters. *Bioscience*, **43**, 32–43.
- Araujo M.B. 1999. Distribution patterns of biodiversity and the design of a representative reserve network in Portugal. *Diversity and Distributions*, **5**, 151-163.
- Bruner A., Gullison R.E., Rice R.E., Fonseca G.A.B. 2000. Effectiveness of Parks in protecting tropical biodiversity. *Science*, **291**, 125 –128.
- Colwell R.K. 2005. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 7.5. Persistent URL <purl.oclc.org/estimates>
- Foster G.N. 1987. The use of Coleoptera records in assessing the conservation status of wetlands. En: *The use of invertebrate community data in environmental assessment* (ed. Luff M.), pp. 8-18. University of Newcastle, Newcastle upon Tyne.
- Foster G.N. 1996. Beetles as indicators of wetland conservation quality. En: *Environmental Monitoring, Surveillance and Conservation Using invertebrates* (ed. Eyre M.D.), pp. 33-35. EMS Publications. Newcastle Upon Tyne.
- Gaston K.J., Rodrigues A.S.L., van Rensburg B.J., Koleff P., Chown S.L. 2001. Complementary representation and zones of ecological transition. *Ecology Letters*, **4**, 4-9.
- Gómez R., Hurtado I., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R. 2005. Ramblas in south-east Spain: threatened and valuable ecosystems. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **15**, 387-402

Hollis G.E. 1995. Wetlands and river restoration in Europe and the Mediterranean. En: *Bases Ecológicas para la Restauración de Humedales en la Cuenca Mediterránea*, (eds. Montes C., Oliver G., Molina F., Cobos J.), pp.125–42. Junta de Andalucía, Sevilla.

Hopkinson .P, Travis J., Prendergast J., Evans J., Gregory R., Telfer M., Williams P. 2000. A preliminary assessment of the contribution of nature reserves to biodiversity conservation in Great Britain. *Animal Conservation*, **3**, 11–320.

Jäch M.A. 1998. Annotated check list of aquatic and riparian/littoral beetle families of the world (Coleoptera). En: *Water Beetles of China, Vol. II* (eds. Jäch M.A., Ji L.), pp. 25-42. Zoologisch-Botanische Gesellschaft, Vienna.

Keith P. 2000. The part played by protected areas in the conservation of threatened French freshwater fish. *Biological Conservation*, **92**, 265-273.

Kiester A.R., Scott J.M., Csuti B., Noss R., Butterfield B., Sahr K., White D. 1996. Conservation prioritization using gap data. *Conservation Biology*, **10**, 1332–1342.

Lake P.S. 1980. Conservation. En: *An Ecological Basis for Water Resource Management* (ed. Williams W.D.), pp. 163 – 173. ANU press: Canberra.

Margules C.R., Nicholls A.O., Pressey R.L. 1988. Selecting networks of reserves to maximise biological diversity. *Biological Conservation*, **43**, 63-76.

Martínez-Fernández J., Esteve-Selma M.A., Calvo-Sendín J.F. 2000. Environmental and socioeconomical interactions in the evolution of traditional irrigated lands: a dynamic system model. *Human Ecology*, **28**, 279–299.

Master L.L., Flack S.R., Stein BA. 1998. *Rivers of Life: Critical Watersheds for Protecting Freshwater Biodiversity*. The Nature Conservancy: Arlington, Virginia.

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2002. *Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos y semiacuáticos de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses: Albacete.

Millán A., Abellán P., Ribera I., Sánchez-Fernández D., Velasco J. 2006. The Hydradephaga (Coleoptera) of the Segura basin (SE Spain): twenty-five years studying water beetles. *Memorie della Società Entomologica Italiana*, **85**, 137-158.

Mittermeier R.A., Myers N., Thomsen J.B., da Fonseca G.A.B., Olivieri S. 1998. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: Approaches to setting conservation priorities. *Conservation Biology*, **12**, 516–520.

Moreno J.L., Millán A., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R., Velasco J. 1997. Aquatic Coleoptera and Heteroptera assemblages in waterbodies from ephemeral coastal streams ('ramblas') of south-eastern Spain. *Archiv fur Hydrobiologie*, **141**, 93–107.

Morillo C., Gómez-Campo C. 2000. Conservation in Spain, 1980-2000. *Biological Conservation*, **95**, 165-174.

Moyle P.B., Randall P.J. 1998. Evaluating the biotic integrity of watersheds in the Sierra Nevada, California. *Conservation Biology*, **12**, 1318–1326.

Myers N., Mittermeier R.A., Mittermeier C.G., Da Fonseca G.A.B., Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853–858.

Naveh Z., Lieberman A. 1984. *Landscape Ecology: Theory and Applications*. Springer-Verlag, New York.

Noss R.F. 1990. Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology*, **4**, 355-364.

Pearson D.L. 1994. Selecting indicator taxa for the quantitative assessment of biodiversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, **345**, 75-79.

Powell G., Barborak J., Rodriguez M. 2000. Assessing representativeness of protected natural areas in Costa Rica for conservation biodiversity: a preliminary gap analysis. *Biological Conservation*, **93**, 41–53.

Prendergast J.R., Quinn R.M., Lawton J.H. 1999. The gaps between theory and practice in selecting nature reserves. *Conservation Biology*, **13**, 484–492.

Pressey R.L. 1994. Ad hoc reservations: forward or backward steps in developing representative reserve systems. *Conservation Biology*, **8**, 662–668.

Quézel P. 1995. La flore du basin mediterranea en: origine, mise en place, endemisme. *Ecologia Mediterranea*, **21**, 19-39.

Ribera I., Hernando C., Aguilera P. 1998. An Annotated checklist of the Iberian water beetles (Coleoptera). *Zapateri*, **8**, 43–111.

Ribera I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, **92**, 131–150.

Ribera I., Foster G. 1993. Uso de Coleópteros acuáticos como indicadores biológicos (Coleoptera). *Elytron*, **6**, 61–75.

Ricciardi A., Rasmussen J.B. 1999. Extinction rates in North American freshwater fauna. *Conservation Biology*, **13**, 1220–1222.

Rodrigues A.S.L., Andelman S.J., Bakar M.I., Boitani L., Brooks T.M., Cowling R.M. *et al.* 2004. Effectiveness of the global protected area network in representing species diversity. *Nature*, **428**, 640–643.

Rodrigues A.S.L., Gaston K.J., Gregory R. 2000. Using presence-absence data to establish reserve selection procedures which are robust to temporal species turnover. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **267**, 1-6.

Rodrigues A.S.L., Gaston K.J. 2001. How large do reserve networks need to be? *Ecology Letters*, **4**, 602-609.

Rodrigues A.S.L., Tratt R., Wheeler B.D., Gaston K.J. 1999. The performance of existing networks of conservation areas in representing biodiversity. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **266**, 1453-1460.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Barahona J., Velasco J., Millán A. 2004. El regadío amenaza a los mejores ecosistemas acuáticos de Murcia. *Quercus*, **215**, 68-69.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Velasco J., Millán A. 2003. *Los coleópteros acuáticos de la región de Murcia. Catálogo faunístico y áreas prioritarias de conservación*. Monografías SEA, vol. 10, Zaragoza.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Velasco J., Millán A. 2004. Selecting areas to protect the biodiversity of aquatic ecosystems in a semiarid Mediterranean region. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **14**, 465-479.

Sarkar S., Margules C.R. 2002. Operationalizing Biodiversity for Conservation Planning. *Journal of Biosciences*, **27**, 299–308.

Saunders D., Meeuwig J, Vincent A.J. 2002. Freshwater protected areas: Strategies for conservation. *Conservation Biology*, **16**, 30–41.

Scott J.M., Davis F.W., McGhie R.G., Wright R.G., Groves C., Estes J. 2001. Nature reserves: do they capture the full range of America's biological diversity? *Ecological Applications*, **11**, 999–1007.

Simberloff D.S., Abele L.G. 1982. Refuge design and biogeographic theory: effects of fragmentation. *American Naturalist*, **120**, 41–50.

Skelton P.H., Cambray J.A., Lombard A.T., Benn G.A. 1995. Patterns of distribution and conservation status of freshwater fishes in South Africa. *South African Journal of Zoology*, **30**, 71–81.

Stoate C., Boatman N.D., Borralho R.J., Carvalho C.R., Snoo G.R., Eden P. 2001. Ecological impacts of arable intensification in Europe. *Journal of Environmental Management*, **29**, 337–365.

Vane-Wright R.I., Humphries C.J., Williams P.H. 1991. What to protect? Systematics and the Agony of Choice. *Biological Conservation*, **55**, 235–254.

Vidal-Abarca M.R., Suárez M.L., Ramírez-Díaz L. 1992. Ecology of Spanish semiarid streams. *Limnética*, **8**, 151-160.

Williams P., Gibbons D.W., Margules C.R., Rebelo A., Humphries C.J., Pressey R.L. 1996. A comparison of richness hotspots, rarity hotspots and complementary areas for conservation diversity of British birds. *Conservation Biology*, **10**, 155–174.

WCMC. 1998. *Freshwater Biodiversity: a preliminary global assessment*. World Conservation Press, Cambridge.

Capítulo 4

Utilidad de la diferenciación taxonómica para evaluar impactos antrópicos en aguas continentales. Un caso de estudio en una cuenca mediterránea

Resumen

Cada vez más se admite que medidas adecuadas de biodiversidad deberían incluir información sobre el grado de relación de las especies dentro de las comunidades, o sobre los niveles filogenéticos a los que esta diversidad es expresada. Las medidas de diversidad taxonómica proporcionan una serie de índices para conseguir esto, siendo además independientes del tamaño muestral. Dentro de ellas, la diferenciación taxonómica (*taxonomic distinctness*) ha sido ampliamente utilizada en sistemas marinos, para los que se ha sugerido que estos índices pueden proporcionar una medida fiable de impacto antrópico. En este trabajo se testa el comportamiento de tres índices de diferenciación taxonómica relacionados (Diferenciación Taxonómica Media, Δ^+ ; Variación en Diferenciación Taxonómica, Λ^+ ; y Diferenciación Taxonómica Total, $s\Delta^+$) en relación con niveles de impacto antrópico en aguas continentales, así como su utilidad potencial en monitoreo ambiental, usando para ello datos de coleópteros acuáticos del sureste de la Península Ibérica. Las medidas de diferenciación taxonómica no fueron capaces de identificar los efectos de perturbación humana y no hubo una clara relación entre estos nuevos índices de biodiversidad y el nivel de impacto registrado en localidades individuales. Además, las medidas de diferenciación taxonómica utilizadas fueron aparentemente menos sensibles a los efectos del impacto antrópico que otras medidas de diversidad como la riqueza de especies y la rareza. Se concluye que los índices de diferenciación taxonómica pueden no funcionar siempre tan bien como otras métricas en la evaluación de la calidad ambiental. Además, este tipo de medidas debería ser interpretado con cautela, ya que su comportamiento y su capacidad de detectar impactos antrópicos puede depender de la estructura filogenética de los taxones muestreados dentro de una región, y de su historia evolutiva y ecológica.

INTRODUCCIÓN

Se admite cada vez más (e.g. Harper y Hawksworth, 1994; Anand y Orlóci, 1996) que medidas adecuadas de biodiversidad deberían ir más allá de métricas de riqueza de especies y equidad, pues estas recogen sólo algunos aspectos de la composición de las comunidades. Las medidas basadas en riqueza, abundancia o equidad han sido utilizadas tradicionalmente para evaluar los efectos de la degradación ambiental sobre la biodiversidad, a pesar del hecho de que este tipo de medidas puede estar muy influido por el tamaño de la muestra, el esfuerzo de muestreo, el tipo de hábitat o la complejidad, y a menudo no muestran respuestas monotónicas al impacto humano (Leonard *et al.*, 2006). Además, la estructura y la complejidad de las asociaciones bióticas son ciertamente importantes, y su cuantificación puede proporcionar información valiosa sobre el estatus de los ecosistemas (Tilman *et al.*, 1997). Este es el caso de las medidas basadas en la estructura filogenética de la comunidad, las cuales difieren de los índices convencionales de diversidad en que incorporan el grado al cual las especies están relacionados evolutivamente entre sí. Bajo este marco, una comunidad que contenga un grupo de especies estrechamente relacionadas debe ser considerada como menos diversa que otra comunidad con el mismo número de especies pero más lejanamente relacionadas, por ejemplo todas pertenecientes a distintos *phyla*.

Las medidas de la estructura filogenética, basadas en el análisis de cladogramas de determinados grupos de organismos, han sido ampliamente empleadas para el diseño de redes de áreas protegidas, con el fin de conservar conjuntos de especies que incluyan la mayor cantidad posible de "historia evolutiva" (e.g. Williams *et al.*, 1991; Faith, 1992; Nee y May, 1997). Sin embargo, tal como algunos autores han apuntado (Clarke y Warwick, 1998; Barker, 2002), no ha sido adecuadamente demostrada la aplicabilidad de tales medidas filogenéticas a un amplio rango de aspectos relacionados con la conservación y la gestión. Como consecuencia de ello, las medidas filogenéticas, así como las métricas taxonómicas relacionadas con ellas, han tenido un uso limitado en el monitoreo ambiental, donde el énfasis no está en elegir qué especies conservar, sino sobre la evaluación de la degradación ambiental o los beneficios de la restauración.

Warwick y Clarke (1995) introdujeron el concepto de diferenciación taxonómica (*taxonomic distinctness* en inglés), como una medida del grado medio con el que los individuos de una comunidad o asociación ecológica están relacionados entre sí. El uso de distancias taxonómicas en este tipo de medidas implica la posibilidad de aplicar esta estrategia a grupos donde aún faltan filogenias robustas, y reconoce también el importante papel que puede jugar la taxonomía en las comunidades. Clarke y Warwick (1998, 2001) han mostrado que las medidas de diferenciación taxonómica superan la mayoría de los problemas asociados a las medidas tradicionales de diversidad, y que presentan una serie de propiedades que las convierten en medidas de biodiversidad atractivas en el contexto de la evaluación del impacto ambiental. Entre ellas se incluyen su independencia relativa del esfuerzo de muestreo (que hace su uso atractivo en estudios a escalas temporal y espacial amplias, en los que el esfuerzo de

muestreo total en áreas o épocas diferentes es raramente estandarizado) y un marco estadístico relativamente simple con el que puede ser determinada la desviación de los valores obtenidos respecto a los esperados, permitiendo una comparación entre una medida de diferenciación taxonómica observada y su rango esperado de variación.

La utilidad de la diferenciación taxonómica para la evaluación de la biodiversidad marina ha sido confirmada recientemente en diversos estudios (e.g. Piepenburg *et al.*, 1997; Warwick y Clarke, 1998; Hall y Greenstreet, 1998; Rogers *et al.*, 1999; Brown *et al.*, 2002; Warwick y Light, 2002), la mayoría de los cuales han sugerido que los valores de estas métricas se ven significativamente reducidos en localidades degradadas, respecto a aquellas otras relativamente prístinas para diferentes grupos de organismos (e.g. nemátodos bentónicos, peces costeros, equinodermos) y en diferentes regiones del planeta.

A pesar de ello, la diferenciación taxonómica ha visto limitado su uso fuera de la ecología marina y, además, hasta la fecha no existen estudios que examinen explícitamente cómo se comportan estos índices en comparación con otras aproximaciones en la detección de impacto antrópico. En este trabajo se estudia su utilidad para los ecosistemas de aguas continentales en el sureste de España, utilizando datos de coleópteros acuáticos, uno de los grupos de animales acuáticos más diversos y mejor estudiados en la región (Ribera *et al.*, 1998; Ribera, 2000). Los ecosistemas acuáticos se encuentran entre los hábitats más amenazados, tanto en Europa como en el resto del mundo (Allan y Flecker, 1993; Master *et al.* 1998; Ricciardi y Rasmussen, 1999; Saunders *et al.*, 2002), lo que implica que la evaluación de la utilidad de estas medidas para determinar los efectos de las actividades humanas sobre la diversidad biológica es una tarea crucial. Además, estas nuevas medidas de biodiversidad pueden ser particularmente útiles en el contexto de la Directiva Marco del Agua (DMA), la cual establece un marco para la protección de todas las aguas costeras e interiores y persigue lograr un estado de elevada calidad de todas las aguas para el año 2015 (EC, 2000). La DMA pone de relieve la importancia de medidas que puedan determinar los efectos biológicos de las perturbaciones antrópicas y distinguir diferentes niveles de calidad ecológica para clasificar las aguas superficiales.

El objetivo de este trabajo fue determinar si los índices de diferenciación taxonómica son útiles para el monitoreo de aguas continentales, y si proporcionan información complementaria a las medidas de biodiversidad tradicionales. Para ello, se ha utilizado un conjunto extensivo de datos de coleópteros acuáticos del sureste de la Península Ibérica, con el fin de testar si estos nuevos índices de diversidad taxonómica reflejan cambios en diversidad de especies en diferentes tipos de hábitat. Los escarabajos acuáticos presentan una serie de ventajas para el monitoreo ambiental (Foster, 1991; Ribera y Foster, 1993; Bilton *et al.*, 2006; Sánchez-Fernández *et al.*, en prensa): su taxonomía es bien conocida y son fácilmente recolectados; aparecen a lo largo de todo el espectro de aguas continentales, e incluyen especies con un amplio rango de tolerancias ecológicas; tienden a ser los macroinvertebrados

dominantes en muchos de los pequeños cuerpos de agua; y su biología y distribución son bien conocidas. De hecho, su importancia como indicadores de los cambios espaciales y temporales ha sido demostrada en diferentes ocasiones (e.g. Bournaud *et al.*, 1992; Richoux, 1994; Eyre *et al.*, 2006). En la Península Ibérica, los coleópteros acuáticos son un grupo bien estudiado, relativamente rico en especies (Ribera *et al.*, 1998; Ribera, 2000). Son, además, uno de los grupos de insectos acuáticos mejor estudiados en el Sureste Ibérico (e.g. Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003; Millán *et al.*, 2006).

MÉTODOS

Área de estudio y datos

Este estudio fue realizado en la cuenca del río Segura, en el sureste de la Península Ibérica, abarcando un área de 18.815 km² (Figura 1). La región tiene un clima mediterráneo, con una precipitación media anual de alrededor de 375 mm. La geología varía de calizas en las zonas más elevadas de cabecera, a margas terciarias ricas en sales a altitudes medias y en las zonas bajas de la cuenca, lo que determina las condiciones ambientales de los cuerpos de agua en el área, permitiendo la existencia de un amplio rango de ecosistemas acuáticos. Entre ellos se incluyen arroyos de cabecera, ríos, arroyos salinos e hipersalinos, embalses, humedales naturales, lagunas salinas y dulces, y salinas y *rock-pools* (Millán *et al.*, 1996; Gómez *et al.*, 2005).

Se incluyeron en el estudio todas las familias de coleópteros en las que una proporción sustancial de especies están ligadas al agua en al menos uno de sus fases de desarrollo. Con el fin de minimizar el error, algunas especies fueron excluidas debido al conocimiento insuficiente de su distribución y/o taxonomía (ver Abellán *et al.*, 2005b). Los datos de distribución de las especies fueron obtenidos de la literatura y de trabajo de campo, incluyendo, en la medida de lo posible, todos los registros inéditos y publicados actualmente conocidos. La base de datos resultante incluyó sobre 5800 registros (especies/localidad/fecha) para 209 especies de escarabajos acuáticos. Tal inventario extensivo no está disponible para otros taxones acuáticos en la cuenca del Río Segura y, por tanto, los datos de coleópteros acuáticos utilizados en este análisis representan el mayor conjunto de datos de biodiversidad de ecosistemas acuáticos disponible actualmente para la región.

Los datos de campo fueron recolectados entre 1981 y 2004 de un total de 422 localidades (Figura 1), la mayoría de las cuales fueron muestreadas al menos dos veces. Estas localidades representan todos los principales tipos de cuerpos de agua presentes en el área de estudio, los cuales fueron agrupados en cuatro categorías principales de hábitat para los propósitos de este estudio, representando las divisiones ecológicas fundamentales presentes: cuerpos de agua dulce lóticos (n = 245) y leníticos (n = 54), y ambientes salinos lóticos (n = 82) y leníticos (n = 41).

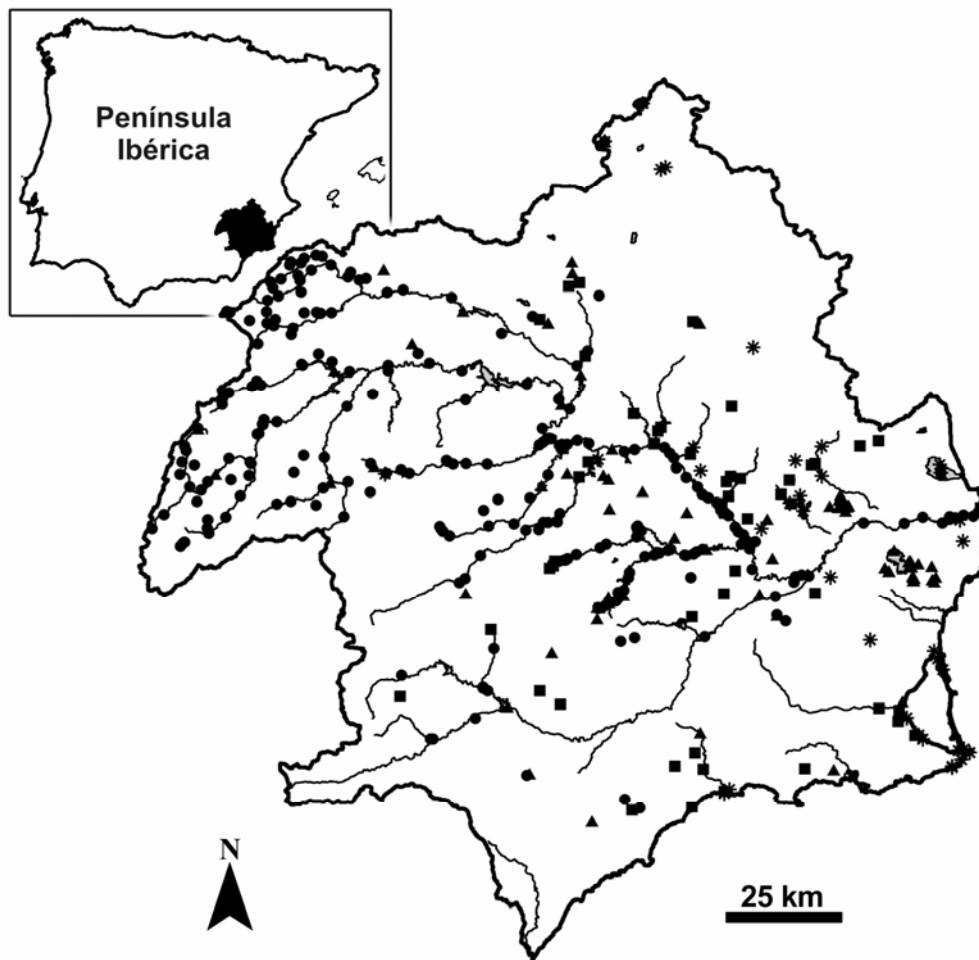


Figura 1. Localización de la Cuenca del Río Segura y las estaciones de muestreo. Los símbolos indican el hábitat tipo de los sitios: círculos, ambientes lóticos de agua dulce; cuadrados, ambientes lóticos salinos; triángulos, ambientes leníticos de agua dulce; y estrellas, ambientes leníticos salinos.

Medidas de diferenciación taxonómica

Se compiló una taxonomía completa basada principalmente en Ribera *et al.* (1998), con información adicional de Hansen (1999) y Nilsson (2001) para los grupos Hydrophiloidea y Dytiscidae, respectivamente. Se incluyeron hasta ocho niveles taxonómicos donde fue posible: especies, géneros, tribus, subfamilias, familias, superfamilias, subórdenes y orden. Se calcularon tres índices de diversidad taxonómica (Diferenciación Taxonómica Media, Δ^+ ; Variación en Diferenciación Taxonómica, Λ^+ ; y Diferenciación Taxonómica Total, $s\Delta^+$) definidos por Clarke y Warwick (1998, 2001) para datos de presencia/ausencia, utilizando para ello el programa Primer 5 (Clarke y Gorley, 2001):

$$\Delta^+ = [\sum_{i < j} \omega_{ij}] / [s(s - 1)/2] \quad (1)$$

$$\Lambda^+ = [\sum_{i < j} (\omega_{ij} - \bar{\omega})^2] / [s(s - 1)/2] \quad (2)$$

$$s\Delta^+ = \sum[(\sum_{i < j} \omega_{ij}) / (s - 1)] \quad (3)$$

donde s es el número de especies presentes y ω_{ij} es el “peso de diferenciación” dado para la longitud de la trayectoria que relaciona a las especies i y j en la taxonomía. Siguiendo a Warwick y Clarke (1995), se adoptó la forma más simple para la ponderación de los ocho niveles taxonómicos, es decir, $\omega = 1$ (para especies i y j dentro del mismo subgénero), $\omega = 2$ (para especies en diferentes subgéneros pero dentro del mismo género), $\omega = 3$ (para especies en diferentes géneros pero dentro de la misma tribu), etc. Aunque esta ponderación constante entre cada nivel taxonómico es un tanto arbitraria, ponderaciones alternativas para reflejar el reducido número de representatividad a cada nivel taxonómico tiene como resultado valores altamente correlacionados con los obtenidos usando la aproximación adoptada aquí (Rogers *et al.*, 1999). La Diferenciación Taxonómica Media, Eq. (1), toma en cuenta el nivel taxonómico al que están relacionadas dos especies cualquiera (*i.e.* importa su identidad), y puede ser entendida como la distancia media entre dos especies cualquiera presentes en la muestra elegidas aleatoriamente. El grado al que ciertos taxones están representados por encima o por debajo de la media en las muestras es otro atributo de la biodiversidad de relevancia ecológica, y es reflejado por la Variación en Diferenciación Taxonómica, Eq. (2). Por último, la Diferenciación Taxonómica Total, Eq. (3), fue propuesta por Clarke y Warwick como una medida útil de la amplitud taxonómica total de una comunidad.

Además, se calcularon también para cada localidad dos medidas de biodiversidad utilizadas más comúnmente: riqueza de especies y rareza. La rareza se calculó simplemente con el número de especies raras (*i.e.* aquellas especies que aparecen en un máximo de tres cuadrículas de 5x5 km dentro del área de estudio) en cada localidad

Evaluación de la sensibilidad al impacto humano

Con el fin de evaluar los impactos antrópicos sobre la biodiversidad, las localidades de muestreo fueron agrupadas en tres categorías de acuerdo a su nivel de modificación antrópica: (1) Modificación baja o inexistente, (2) Modificación media, y (3) Modificación elevada. Esta categorización fue realizada a partir del número y magnitud de los diferentes tipos de impacto que afectan las localidades de muestreo (ver Abellán *et al.*, 2005a para más detalles), a través de revisión bibliográfica y trabajo de campo. *Modificación elevada* indica calidad del agua muy pobre como consecuencia de vertidos urbanos o industriales más la existencia de modificaciones físicas severas del hábitat y la ribera (dragado y canalización del cauce, drenaje, urbanización y otras infraestructuras humanas); *Modificación media* agrupa a aquellas localidades con

algunos impactos derivados de la actividad agrícola (contaminación difusa, ocupación de las riberas para cultivos, extracción de agua para riego, etc.) o especies exóticas; y *Modificación baja o inexistente* indica calidad del agua buena o excelente, buena calidad del hábitat de ribera sin importantes estructuras construidas por el hombre, y sólo algunos impactos severos como los derivados del turismo de baja intensidad o el pastoreo.

Además, se realizó una evaluación alternativa del grado de alteración basada en el porcentaje de usos del suelo intensivos dentro de un radio de un kilómetro en cada localidad de muestreo. Para ello, se utilizaron las clases de usos del suelo de la base de datos CORINE Land Cover (EC, 1993). La categorización de las localidades a partir de ambas aproximaciones resultó muy similar, si bien la evaluación basada en los usos del suelo falló a la hora de reconocer determinados impactos, tales como la influencia de presas aguas arriba o la presencia de especies exóticas y que sí pudieron ser tenidos en cuenta a partir del trabajo de campo.

Clarke y Warwick (1998) diseñaron un test aleatorio para comparar los valores observados de diferenciación taxonómica frente a un valor “esperado” derivado de la lista total de especies del conjunto de muestras. La hipótesis nula es que las especies presentes en cualquier localidad se comportan como una selección aleatoria del total de especies (i.e. cada especie en la lista total tiene igual probabilidad de aparecer en todas las localidades). Submuestras aleatorias de diferente número de especies permiten representar los valores esperados en forma de un “embudo” de probabilidad (al nivel del 5%), frente al que pueden ser representados los valores de diferenciación taxonómica observados obtenidos de muestras reales. Así, este análisis nos permite determinar si una muestra tiene una representación taxonómica “más baja de la esperada”.

Se realizó este test tanto para el índice de Diferenciación Taxonómica Media como para el de Variación en Diferenciación Taxonómica, utilizando para ello el programa Primer 5 (Clarke y Gorley, 2001). De acuerdo con Clarke y Warwick (1998), los valores de diferenciación taxonómica de los sitios sin perturbación antrópica deberían encontrarse dentro de los límites de confianza, mientras que las localidades impactadas estarían fuera (por debajo) de estos límites. Esto supone que podrían establecerse condiciones comunes de referencia para un grupo particular de organismos a partir del rango de hábitats en el que aparecen, y los impactos de origen humano sobre la biodiversidad podrían ser evaluados frente a este estándar. Dado que la biodiversidad de cualquier localidad debe ser evaluada frente a unas condiciones de referencia, y cada hábitat tipo alberga una fauna de coleópteros distinta (pues algunas familias están representadas sólo en algunos hábitats), es necesario establecer condiciones de referencia separadas para cada hábitat. De acuerdo con esta idea, se utilizaron listas de especies separadas para los análisis en las cuatro categorías de hábitat distinguidas.

La significación de las diferencias entre las muestras de distintos hábitats tipo, y entre muestras con diferente nivel de modificación humana dentro de cada hábitat, fue

analizada usando el test ANOVA de una vía y el test de Tukey HSD para comparaciones múltiples de medias. Los análisis estadísticos fueron realizados usando Statistica para Windows (versión 6; StatSoft, Tulsa, Oklahoma, U.S.A.).

RESULTADOS

Variabilidad natural

Las diferentes medidas de biodiversidad de coleópteros acuáticos (riqueza de especies, rareza y diferenciación taxonómica) mostraron distintos patrones a lo largo de los cuatro hábitats tipo (Figura 2), con la excepción de la Diferenciación Taxonómica Total (no mostrada en la Figura 2) y la riqueza de especies, que aparecieron altamente correlacionadas (coeficiente de correlación de Spearman = 0.98). Por tanto, la Diferenciación Taxonómica Total es muy similar a la riqueza de especies y falla a la hora de proporcionar información adicional sobre la comunidad.

No hubo diferencias significativas entre los valores medios de diferenciación taxonómica (basados en Δ^+ y Λ^+) a lo largo de los diferentes hábitats (ANOVA, $p = 0.485$ y $p = 0.277$, respectivamente; Figura 2). La rareza, por su parte, no mostró diferencias significativas ($p = 0.195$). En contraste, la riqueza de especies fue significativamente diferente a lo largo de los distintos hábitats ($p < 0.001$). Así, la riqueza fue significativamente mayor en los ambientes lóticos de aguas dulces que en los hábitats leníticos (tanto dulces como salinos; test de Tukey HSD, $p < 0.001$ en ambos casos), así como en ambientes lóticos de aguas salinas respecto a los ambientes lénticos ($p < 0.05$ en ambos casos).

Las Figuras 3 y 4 muestran las desviaciones respecto de la media teórica de los valores de diferenciación taxonómica basados en Δ^+ y Λ^+ , respectivamente. En ambos casos, no hubo relación entre el número de especies en muestras individuales y su diferenciación taxonómica. Aunque la mayoría de los valores de Δ^+ cayeron dentro del embudo de confianza del 95% para los diferentes hábitats (con la excepción de los ambientes lóticos de aguas dulce), la mayoría de ellos también presentaron valores de Δ^+ menores que la media teórica determinada a partir del muestreo aleatorio desde la lista total de fauna de coleópteros de cada hábitat. En hábitat lótico de agua dulce, muchos valores cayeron por debajo del embudo de confianza. En el caso de la Variación en Diferenciación Taxonómica, la mayoría de los valores cayeron dentro de los límites de confianza, aunque en este caso la mayoría de ellos presentó además valores mayores que la media teórica.

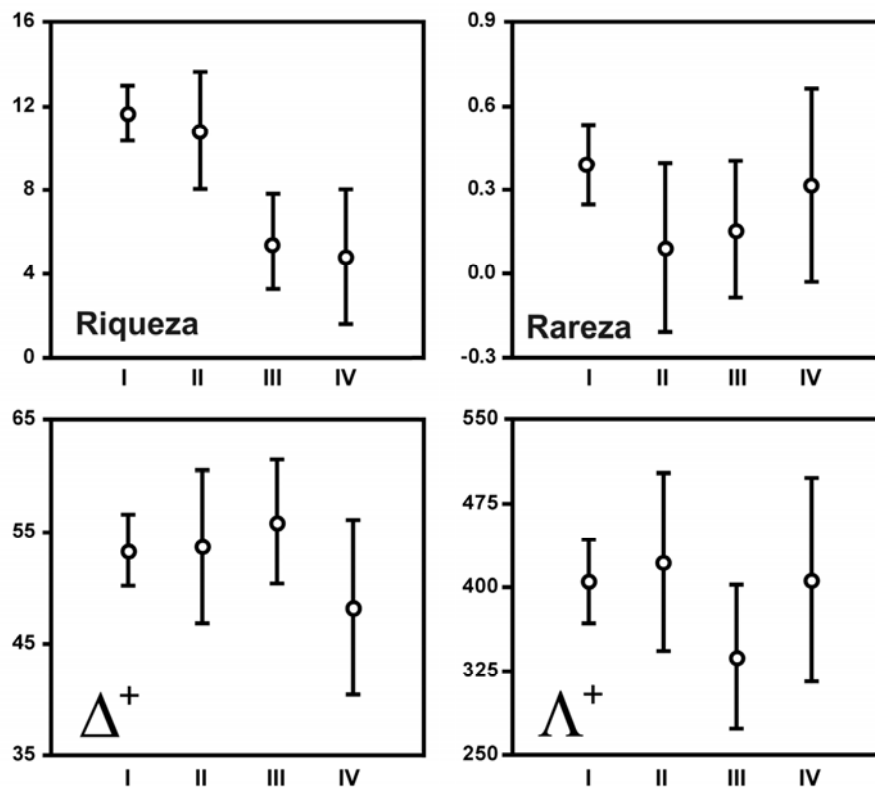


Figura 2. Medias e intervalos de 95% de confianza para las medidas de biodiversidad calculadas sobre las comunidades de coleópteros acuáticos para cada hábitat tipo (I, ambientes lóticos de agua dulce; II, ambientes lóticos salinos; III, ambientes leníticos de agua dulce; IV, ambientes leníticos salinos: riqueza de especies, rareza, Diferenciación Taxonómica Media (Δ^+) y Variación en Diferenciación Taxonómica (Λ^+).

En la Tabla 1 se muestra el número de especies pertenecientes a cada una de las once familias de escarabajos acuáticos del conjunto de datos. Esta tabla puede ser útil a la hora de interpretar las variaciones en diferenciación taxonómica entre los distintos hábitats para identificar qué taxones de escarabajos contribuyen en mayor medida a los patrones observados. En los hábitats lóticos, incluyendo los salinos pero especialmente en los de agua dulce, hubo un mayor número de familias que en las aguas leníticas y, además, el número de especies dentro de cada familia fue mayor. En los ambientes leníticos de agua dulce, que presentaron el mayor valor medio de Δ^+ y el menor de Λ^+ , apareció un pequeño número de familias, perteneciendo la mayoría de las especies a Dytiscidae e Hydrophilidae, ambas clasificadas en distintos subórdenes. Por otro lado, en los ambientes leníticos salinos, que presentaron los valores más bajos de Δ^+ , la mayoría de las especies pertenecieron a las familias Dytiscidae, Hydrophilidae e Hydraenidae.

En el Apéndice 4 se recogen los valores de los distintos índices aplicados para cada una de las estaciones de muestreo.

Tabla 1. Número medio de especies de coleópteros acuáticos pertenecientes a la misma familia, en cada uno de los cuatro habitats estudiados (Total) y a lo largo de los tres niveles de modificación antrópica (MB, modificación baja; MM, modificación media; ME, modificación elevada).

Familia	Lóticos de agua dulce			Lóticos salinos			Leníticos de agua dulce			Leníticos salinos					
	Total	MB	MM	ME	Total	MB	MM	ME	Total	MB	MM	ME			
Gyrinidae	0.5	0.7	0.5	0.2	0.2	0.1	0.2	0.3	0	0	0	0.1	0	0	0
Halplidae	0.8	1.1	0.8	0.4	0.5	0.5	0.5	0.6	0.2	0.6	0.4	0.1	0	0	0
Noteridae	0.1	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0.4	0.1	0.2	0.1	0	0	0.1	0
Hygrobiidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0
Dytiscidae	3.7	5.2	3.4	2.1	3.5	4.4	3.1	2.7	3.1	6.2	3.6	2.5	1.6	2	1.5
Helophoridae	0.2	0.5	0.2	0	0.2	0.3	0	0.2	0.1	1	0.1	0.1	0.1	0.1	0
Hydrochidae	0.1	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0.2	0	0	0	0	0
Hydrophilidae	2.2	3	2	1.4	3.2	4.3	2.9	2.1	1.3	1.8	1.5	1.1	1.9	2	1.7
Hydraenidae	1.6	3.1	1.2	0.3	2.6	3.8	2.4	0.8	0.5	0.4	0.5	0.5	1.2	2.4	1
Elmidae	1.6	3.4	0.7	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0	0
Dryopidae	0.8	1.2	0.8	0.5	0.4	0.3	0.5	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0	0	0

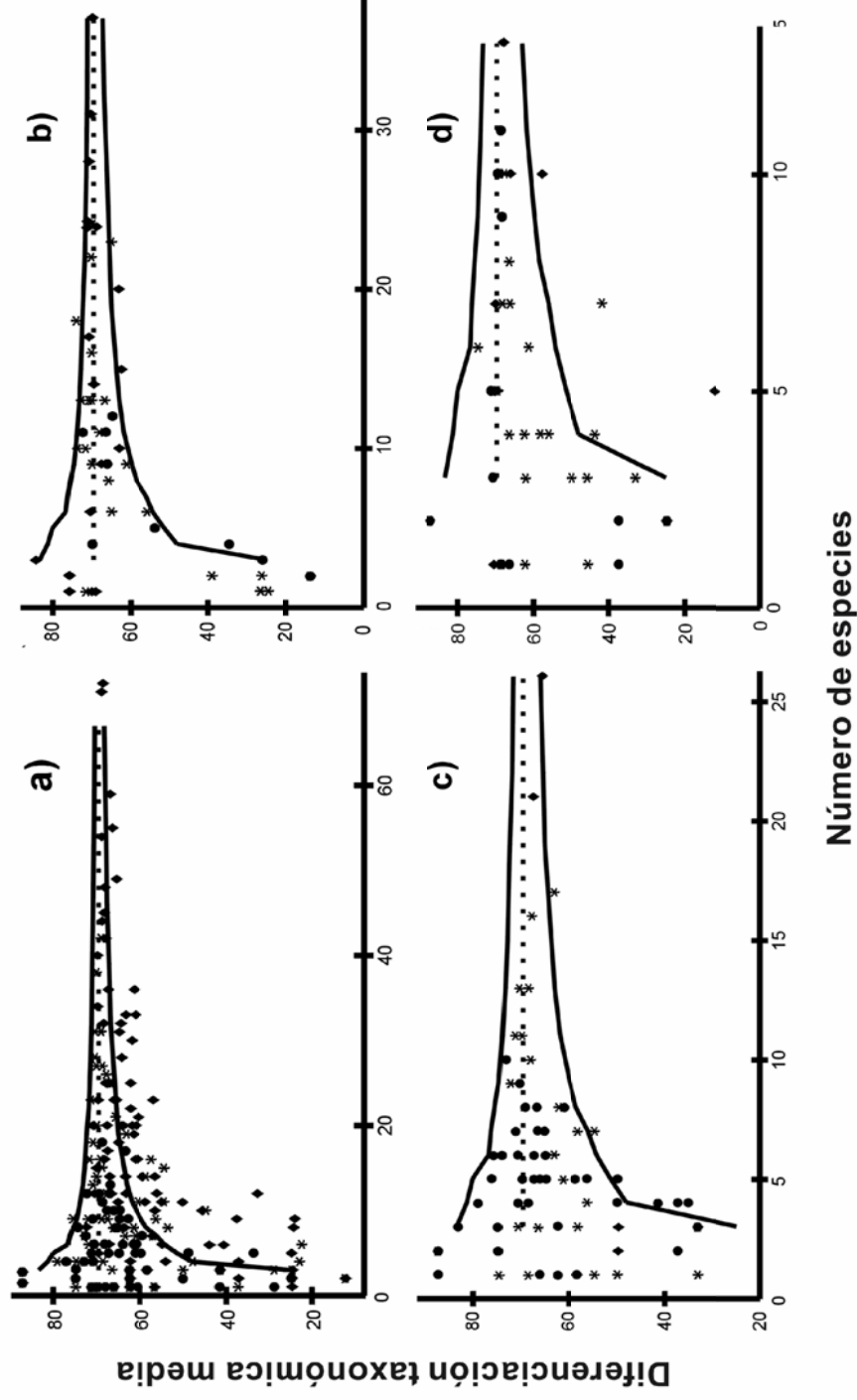


Figura 3. Diferenciación Taxonómica Media frente al número de especies. Los símbolos indican el nivel de modificación de las localidades: rombos, modificación baja o nula; estrellas, modificación media; círculos, modificación elevada. Se dan gráficos separados para los cuatro hábitats estudiados: a) ambientes lóticos de agua dulce, b) ambientes lóticos salinos, c) ambientes leníticos de agua dulce, y d) ambientes leníticos salinos). La media teórica (línea discontinua) y los límites de probabilidad (líneas continuas) se calcularon a partir de la lista total de especies para esos hábitats.

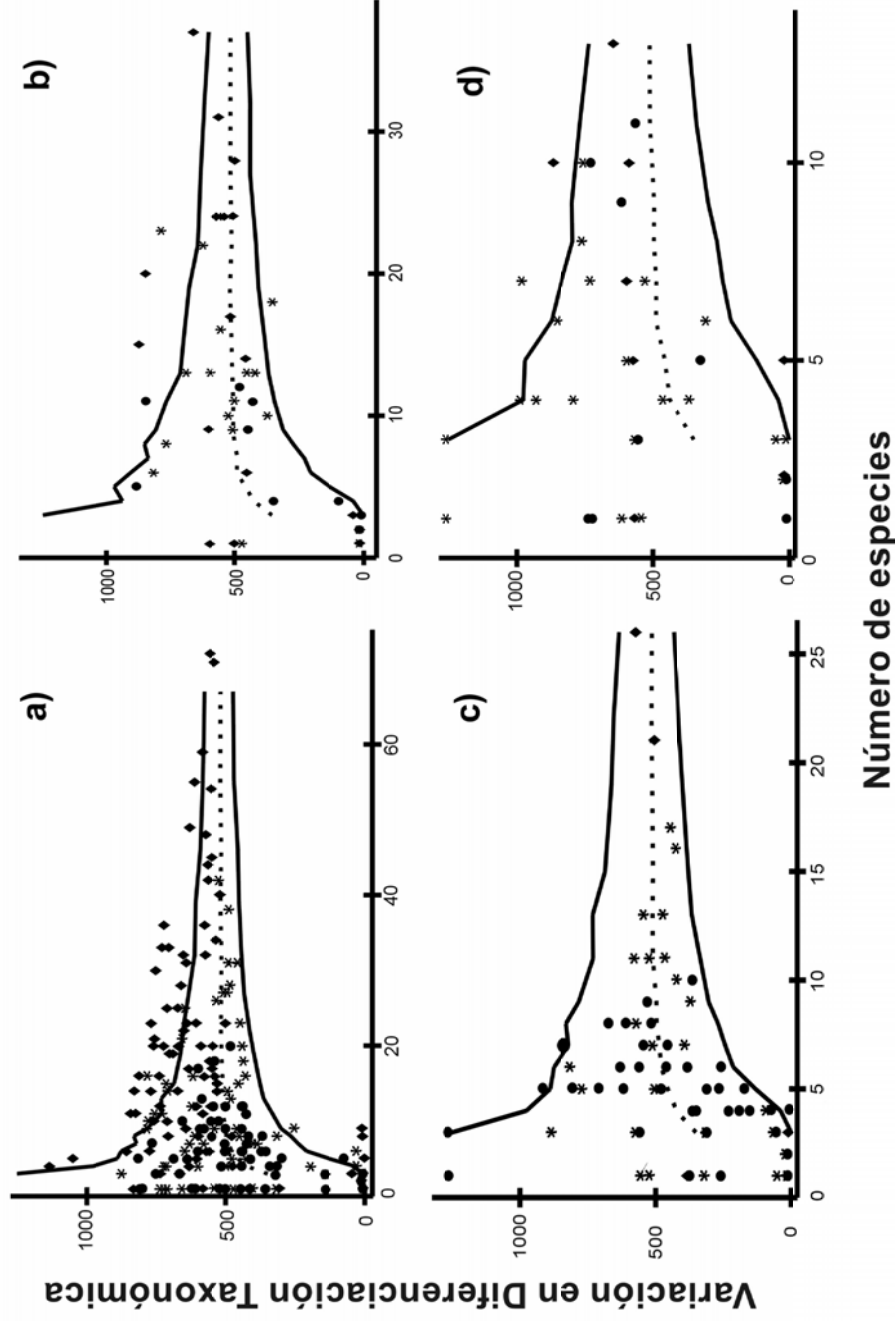


Figura 4. Variación en Diferenciación Taxonómica frente al número de especies. Los símbolos indican el nivel de modificación de las localidades: rombos, modificación baja o nula; estrellas, modificación media; círculos, modificación elevada. Se dan gráficos separados para los cuatro hábitats estudiados: a) ambientes lóticos de agua dulce, b) ambientes lóticos salinos, c) ambientes lóxicos salinos, y d) ambientes lóxicos salinos). La media teórica (línea discontinua) y los límites de probabilidad (líneas continuas) se calcularon a partir de la lista total de especies para esos hábitats

Sensibilidad a los cambios antrópicos

En general, no hubo una relación clara entre las medidas de diferenciación taxonómica y el nivel de perturbación. No hubo diferencias significativas en los valores de Diferenciación Taxonómica Media a lo largo de los diferentes niveles de perturbación humana para todas las muestras (ANOVA, $p = 0.480$) y dentro de los cuatro hábitats tipo. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas en la Variación en Diferenciación Taxonómica ($p < 0.001$) para todas las muestras. No obstante, por hábitat tipo, estas diferencias fueron significativas en los ambientes lóticos de agua dulce, donde los valores de los sitios con escasa o nula modificación fueron significativamente mayores respecto a los otros dos grupos (test de Tukey HSD, $p < 0.001$ en ambos casos; Figura 5).

Con respecto a las otras medidas de diversidad, la riqueza de especies y la rareza mostraron una clara tendencia a la reducción con el incremento en el nivel de impacto humano percibido (Figura 5) y hubo diferencias significativas en los valores de ambas medidas a lo largo del gradiente de perturbación humana para todas las muestras (ANOVA, $p < 0.001$ en ambos casos). Por hábitat tipo, la riqueza de especies fue significativamente diferente a lo largo del gradiente de impacto en los ambientes lóticos de agua dulce (test de Tukey HSD, $p < 0.001$ en todos los casos; Figura 5) y significativamente menor en las localidades altamente modificadas que en los sitios con poca o nula modificación ($p < 0.01$) en los ambientes leníticos de agua dulce. De forma similar, la rareza mostró diferencias significativas entre los sitios con elevada y baja modificación en los ambientes lóticos de agua dulce, en los leníticos de agua dulce y en los leníticos salinos ($p < 0.01$ in en aguas dulces lóticas y leníticas, y $p < 0.001$ en ambientes leníticos salinos).

Los tests aleatorios para ambas medidas de diferenciación taxonómica, Δ^+ y Λ^+ , no fueron capaces de discriminar claramente entre los tres niveles de perturbación humana en cualquiera de los hábitats (Figuras 3 y 4). En general, las localidades de modificación media y elevada cayeron dentro de los límites de confianza, y por tanto las muestras de los sitios impactados no presentaron valores menores de los esperados. Por el contrario, algunas localidades con poca o nula modificación cayeron por debajo de los límites de confianza, especialmente en los ambientes lóticos de agua dulce, en los que muchos sitios bien conservados presentaron valores más bajos que los que cabría esperar a partir de la selección aleatoria. Además, en este hábitat, Δ^+ y Λ^+ mostraron un patrón inverso. La mayoría de los sitios presentaron valores de Δ^+ por debajo de la media teórica, y la mayoría de las localidades que cayeron por debajo del límite de 95% de confianza fueron los de menor modificación. Muchos de estos sitios de "elevada calidad" mostraron valores elevados de Λ^+ en este hábitat, y la mayoría de las localidades que cayeron por encima de los límites de confianza fueron aquellos con niveles bajos de impacto humano.

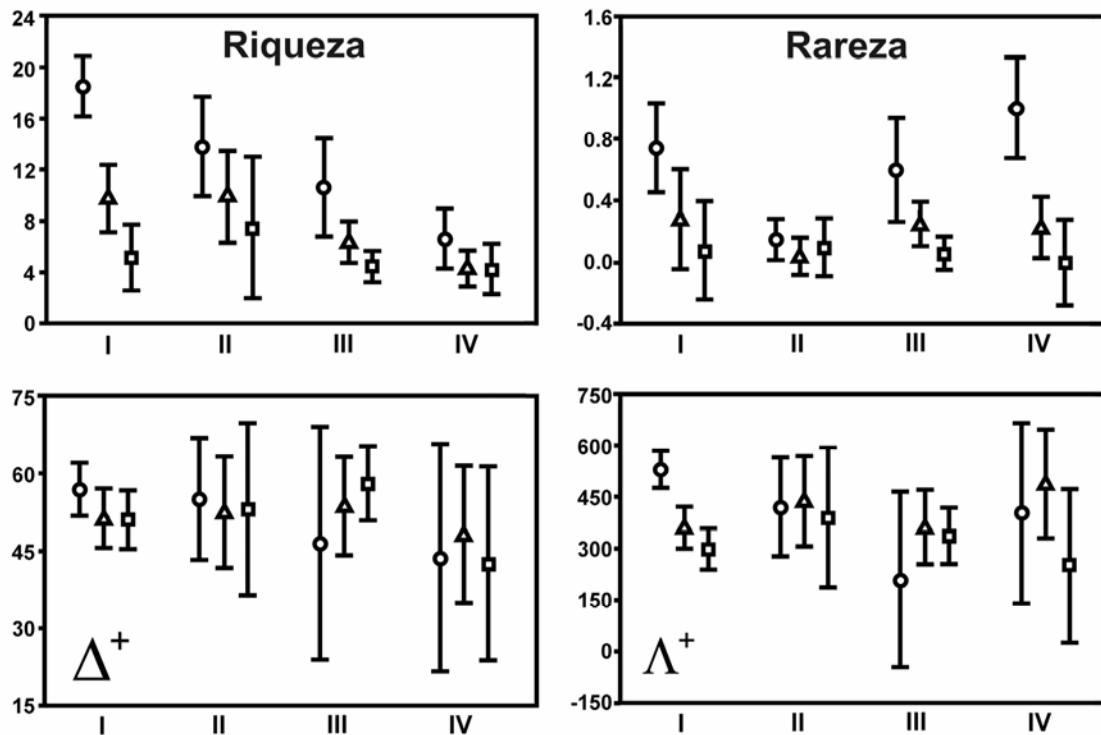


Figura 5. Medias e intervalos de 95% de confianza para las medidas de biodiversidad calculadas sobre las comunidades de coleópteros acuáticos para cada hábitat tipo (I, ambientes lóticos de agua dulce; II, ambientes lóticos salinos; III, ambientes leníticos de agua dulce; IV, ambientes leníticos salinos) a lo largo de los tres niveles de modificación antrópica: modificación baja o nula (círculos), modificación media (triángulos) y modificación elevada (cuadrados). Medidas de Biodiversidad: riqueza de especies, rareza, Diferenciación Taxonómica Media (Δ^+) y Variación en Diferenciación Taxonómica (Λ^+).

La Tabla 1 muestra el número medio de especies pertenecientes a cada familia a lo largo del gradiente de impacto antrópico para cada uno de los hábitats tipo. En este caso, esta información ayuda a interpretar las variaciones en diferenciación taxonómica en relación con el nivel de modificación. En los ambientes lóticos de agua dulce, hubo una reducción general en el número medio de especies de cada familia conforme incrementó el grado de alteración, especialmente en Hydraenidae y Elmidae. En los ambientes lóticos salinos, los efectos de la perturbación humana sobre la estructura taxonómica se revelaron como una reducción en el número de especies pertenecientes a algunas familias como Dytiscidae, Hydraenidae e Hydrophilidae, mientras que otras familias incrementaron su representación (Gyrinidae, Haliplidae y Noteridae). Hubo también una reducción en el número de especies pertenecientes a cada familia en los ambientes leníticos de agua dulce, especialmente en Dytiscidae. Finalmente, en los ambientes leníticos salinos el efecto más importante fue la reducción en el número medio de especies de Hydraenidae.

DISCUSIÓN

Bajo el marco propuesto por Clarke y Warwick (1998, 2001; ver también Leonard *et al.*, 2006), la variabilidad en la diferenciación taxonómica debido a factores ambientales naturales cae generalmente dentro de un rango predecible, basado en la expectación de la selección aleatoria a partir del conjunto regional de especies. Esto podría verse como una considerable ventaja de las medidas de diferenciación taxonómica sobre los índices tradicionales de biodiversidad basados en la riqueza de especies, los cuales están muy afectados por la variabilidad ambiental de origen natural. Además, dado que la influencia antrópica puede modificar este patrón, de forma que los valores caen por debajo del rango predicho, las medidas de diferenciación taxonómica deberían ser útiles para discriminar entre sitios naturales e impactados. Sin embargo, nuestros resultados no soportaron, de forma general, estas predicciones.

En primer lugar, muchos de los sitios menos modificados, especialmente entre los ambientes lóticos de agua dulce, cayeron fuera del rango esperado basado en las expectativas aleatorias, *i.e.* las especies en esas muestras estuvieron más estrechamente relacionadas entre sí que aquellas de las muestras aleatorias obtenidas a partir de la lista total de especies. La principal razón que explicaría este hecho es que unas pocas familias son especialmente ricas en especies en determinados ambientes con buen estado de conservación, algunos de cuales contienen radiaciones de endemismos recientes, muchos de ellos con interés de conservación (Ribera, 2000). Por ejemplo, en pequeños arroyos de cabecera, las familias Hydraenidae y Elmidae presentan un mayor número de especies de las que cabría esperar por azar. En el caso de la familia Hydraenidae, la mayoría de las especies pertenecen al género *Hydraena*, muchas de las cuales son endemismos ibéricos (e incluso endemismos locales, en algunos casos). Una situación similar se encuentra en algunos hábitats salinos bien conservados, en los que la familia Hydraenidae está representada por un elevado número de especies, mientras el resto de familias aparecen pobremente representadas. Esto es especialmente cierto en ambientes extremos, como salinas o *rock pools* entre los ambientes leníticos, o como los arroyos hipersalinos entre los sistemas lóticos, los cuales son pobres en especies de forma natural, perteneciendo además la mayoría de ellas a un único género, *Ochthebius*, el cual contiene también un alto número de endemismos.

Por tanto, con independencia de la influencia de los cambios antrópicos, existen factores ecológicos y evolutivos que pueden estar detrás de la distribución no aleatoria de las especies en los hábitats (o muestras). Desde una perspectiva evolutiva, esta distribución filogenética contagiosa (denominada como “atracción filogenética”) indica que el uso del hábitat es un rasgo conservado dentro del conjunto de especies en una comunidad, y que la atracción genotípica domina sobre la repulsión (Webb *et al.*, 2002). Indudablemente, esto está relacionado con el hecho de que diferentes clados tienen potenciales diferentes para la diversificación (Sanderson y Donoghue, 1996; Dodd *et al.*, 1999; Gardezi y da Silva, 1999) y algunas familias como Hydraenidae han sido capaces de adaptarse y de diversificarse en algunos ambientes mejor que otras familias de escarabajos acuáticos.

La segunda y ciertamente importante característica atribuida a la diferenciación taxonómica, no soportada por nuestros resultados, es su capacidad para detectar los cambios de origen antrópico. Clarke y Warwick (2001; ver también Warwick y Clarke, 1995, 1998) postularon que, bajo perturbación antrópica, las especies que desaparecen primero tienden a ser aquellas representativas de los niveles taxonómicos más altos relativamente pobres en especies, lo que significa que las especies que permanecen pertenecerían a un menor número de grupos, los cuales tienden a ser relativamente más ricos en especies. En otras palabras, las comunidades perturbadas tienden a tener una reducida diferenciación taxonómica, apareciendo compuestas por especies más estrechamente relacionadas que en las comunidades no perturbadas, las cuales tienden a presentar especies más distantes taxonómicamente, resultando en una mayor diferenciación taxonómica.

Sin embargo, en contraste con lo que ocurre en algunos sistemas marinos, los coleópteros acuáticos, y probablemente muchas comunidades de aguas continentales de forma general, no se caracterizan por la presencia de unas pocas familias (o géneros) ricas en especies y estrechamente relacionadas en respuesta a la perturbación. En la Figura 6, los casos 1 y 2 representan dos cambios alternativos en la composición de una comunidad hipotética como consecuencia de la modificación antrópica. En el caso 1, de acuerdo con la hipótesis propuesta por Warwick y Clarke (1998) las especies que desaparecen son aquellas representativas de taxones más altos y pobres en especies. Este efecto se manifestaría con la disminución en la Diferenciación Taxonómica Media y en la Variación en Diferenciación Taxonómica. En el caso 2, las especies que desaparecen son las representativas de taxones más bajos ricos en especies. En este caso, este efecto se manifestaría como un incremento en la Diferenciación Taxonómica Media y una reducción en la Variación en Diferenciación Taxonómica.

Con los datos de coleópteros acuáticos utilizados aquí, el número de especies perteneciente a cada familia tiende a decrecer con la perturbación, como en el caso 2, especialmente en las familias más ricas en especies como Hydraenidae. Estas familias contienen numerosas especies de rangos restringidos (especializadas ecológicamente), siendo como consecuencia de ello más sensibles a los cambios antrópicos. Otras familias ricas en especies como Dytiscidae e Hydrophilidae, aunque contienen algunas especies que sólo aparecen en ambientes bien conservados, contienen también bastantes especies relativamente oportunistas y de amplia distribución, con una elevada capacidad de dispersión y tolerancia a la polución y a otras perturbaciones humanas. Por tanto, las especies que permanecen (o las nuevas que colonizan) en un sitio perturbado pertenecen a un pequeño número de familias, cada una de ellas representada por un número de especies reducido. Como consecuencia de ello, los efectos de la perturbación humana se manifiestan más comúnmente con un incremento o ausencia de cambio en la Diferenciación Taxonómica Media, y una reducción en la Variación en Diferenciación Taxonómica (Figura 6, caso 2). Por ejemplo, en el caso de los sistemas más modificados, tales como balsas de riego o arroyos muy contaminados, es habitual encontrar sólo dos o

tres especies de amplia distribución y alta tolerancia a la perturbación –e.g. *Laccophilus hyalinus* (De Geer, 1774) y *Helochares lividus* (Forster, 1771)- pertenecientes a dos familias distintas (Dytiscidae y Hydrophilidae) en dos subórdenes diferentes. En tal caso el valor de Diferenciación Taxonómica Media sería el más alto del conjunto de datos. Esta situación no es exclusiva de las comunidades de escarabajos acuáticos, y puede explicar en términos generales por qué los índices de diferenciación taxonómica no responden siempre de una manera predecible a los cambios antrópicos. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Bhat y Marrugan (2006) para comunidades de peces de agua dulce. Estos autores encontraron también que sitios con elevada perturbación no mostraron una reducción en la diferenciación taxonómica en relación con la expectación aleatoria.

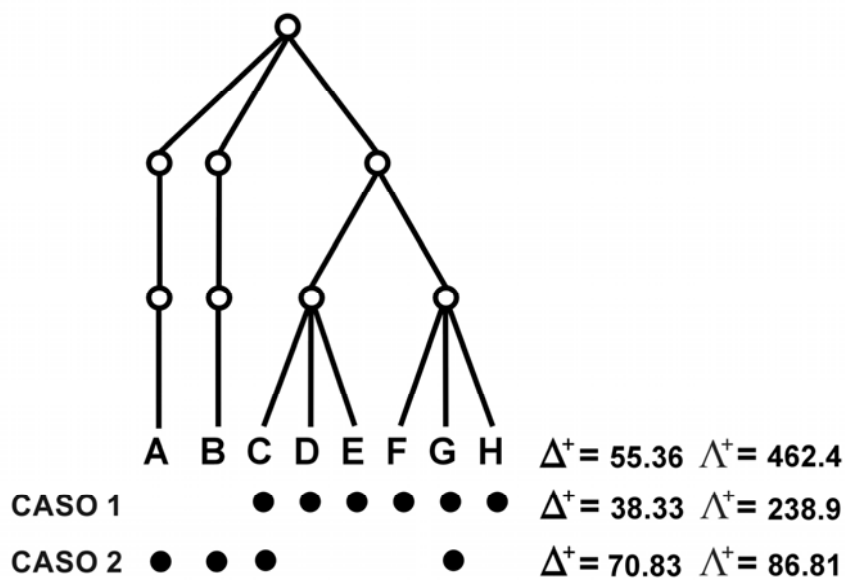


Figura 6. Una ilustración de la Diferenciación Taxonómica Media (Δ^+) y Variación en Diferenciación Taxonómica (Λ^+) calculadas para una jerarquía simple de tres niveles taxonómicos en dos escenarios diferentes como resultado del impacto humano. A-H representan ocho especies en un sitio no modificado. Los casos 1 y 2 representan dos posibles efectos de la perturbación antrópica, con las especies que permanecen en la localidad (indicadas con un círculo negro) tras esta perturbación (ver Discusión para más detalles).

En este estudio, la Diferenciación Taxonómica Total no proporcionó información adicional a la riqueza de especies, lo que la convierte en un índice redundante. De hecho, Warwick y Clarke (1998) han desaconsejado el uso generalizado de esta medida, altamente influida por la riqueza de especies. Estos autores han sugerido que sería sólo útil para programas de muestreo estrechamente controlados, en los que el esfuerzo de muestreo es idéntico para las muestras a comparar, o en las que el muestreo es suficientemente exhaustivo como para haber alcanzado la asíntota de la curva de especies-área. Esto concuerda con nuestros resultados, e indudablemente

las situaciones en las que $s\Delta^+$ aportará información adicional a la riqueza son limitadas, particularmente en monitoreo ambiental, donde tales programas de muestreo uniformes son más la excepción que la regla.

Al menos en la cuenca del Segura, las medidas de diferenciación taxonómica (Δ^+ y Λ^+) fueron menos sensibles que otras medidas de diversidad, como la riqueza de especies y la rareza, a los cambios antrópicos en los diferentes hábitats estudiados. Así, a pesar de que la riqueza y la rareza mostraron patrones diferentes a lo largo de los cuatro hábitats (lo que sugiere que proporcionan información complementaria), ambas medidas mostraron una clara tendencia a decrecer bajo perturbación. De forma similar, Salas *et al.* (2006) encontraron que las medidas de diferenciación taxonómica de comunidades marinas bentónicas fueron menos sensibles que otras medidas de diversidad a los efectos de la eutrofización en lagunas costeras. Además, Somerfield *et al.* (1997) encontraron patrones no consistentes entre la reducción de la diversidad taxonómica de comunidades de macrofauna marina y el incremento del impacto ambiental, y Hall y Greenstreet (1998), estudiando comunidades de peces marinos, hallaron que las medidas de diferenciación taxonómica mostraron tendencias similares a los índices convencionales de diversidad.

Los valores de diferenciación taxonómica fueron muy variables dentro de cada hábitat tipo con independencia del nivel de perturbación humana (Figura 5). Gran parte de esta variación podría ser resultado de los efectos de gradientes ambientales naturales dentro de cada hábitat, y esta alta variabilidad puede enmascarar la respuesta de estos índices a los impactos humanos (ver Bhat y Marrugan, 2006 para resultados similares). Asumiendo esta limitación, los resultados obtenidos aquí indican que las medidas de diferenciación taxonómica no son independientes de la variabilidad natural, contrariamente a lo que ha sido asumido hasta ahora (Warwick y Clarke, 1998; Leonard *et al.*, 2006). Estos autores han sugerido que la variabilidad en la diferenciación taxonómica entre hábitats muy diferentes debería permitir distinguir, a través del test aleatorio (que crea un embudo de 95% de probabilidad a partir de la lista total de especies), las localidades perturbadas de la no impactadas, debiendo mostrar valores de biodiversidad por debajo del rango esperado. En nuestro estudio, incluso en los ambientes lóticos de agua dulce, que mostraron una variabilidad relativamente baja para los valores de Δ^+ (*i.e.* se trata de un grupo de sitios homogéneo) el test aleatorio no permitió discriminar entre sitios perturbados y no perturbados (ver figuras 3, 4 y 5).

Ciertamente, las medidas de diferenciación taxonómica tienen importantes ventajas (tales como la incorporación de una lista total de especies que refleja lo que debería ser considerado como representativo de las condiciones de referencia, y un marco estadístico a partir del cual medir la distancia de los valores de las muestras respecto a aquellas condiciones de referencia) que hacen su uso atractivo en la evaluación ambiental, por ejemplo en la clasificación del estado ecológico siguiendo la Directiva Marco del Agua. Sin embargo, nuestros resultados no soportan las afirmaciones de Warwick y Clarke (1995) referidas al comportamiento monotónico de estos índices en respuesta a la degradación ambiental. En conclusión, los análisis

realizados demuestran que las medidas de diversidad taxonómica, así como otras medidas basadas en el grado de relación de las especies como la diversidad filogenética, no son siempre herramientas útiles para estas tareas, y ponen de relieve que su uso generalizado, y particularmente exclusivo, como indicadores de biodiversidad debería ser tomado con cautela.

BIBLIOGRAFÍA

Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005a. Assessing conservation priorities for insects: status of water beetles in southeast Spain. *Biological Conservation*, **121**, 79–90.

Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005b. Conservation of freshwater biodiversity: a comparison of different area selection methods. *Biodiversity and Conservation*, **14**, 3457-3474.

Allan J.D., Flecker A.S. 1993. Biodiversity conservation in running waters. *Bioscience*, **43**, 32–43.

Anand M., Orlóci L. 1996. Complexity in plant communities: the notion and quantification. *Journal of Theoretical Biology*, **179**, 179 –186.

Barker G.M. 2002. Phylogenetic diversity: a quantitative framework for measurement of priority and achievement in biodiversity conservation. *Biological Journal of the Linnean Society*, **76**, 165-194.

Bhat A., Marrugan A.E. 2006. Taxonomic distinctness in a linear system: a test using a tropical freshwater fish assemblage. *Ecography*, **29**, 104-110.

Bilton D.T., McAbendroth L., Bedford A., Ramsay, P.M. 2006. How wide to cast the net? Cross-taxon congruence of species richness, community similarity and indicator taxa in ponds. *Freshwater Biology*, **51**, 578-590.

Bournaud M., Richoux P., Usseglio-Polaterra P. 1992. An approach to the synthesis of qualitative ecological information from aquatic coleoptera communities. *Regulated Rivers: Research and Management*, **7**, 165-180.

Brown B.E., Clarke K.R., Warwick R.M. 2002. Serial patterns of biodiversity change in corals across shallow reef flats in Ko Phuket, Thailand, due to the effects of local (sedimentation) and regional (climatic) perturbations. *Marine Biology*, **141**, 21-29.

Clarke K.R., Gorley R.N. 2001. *PRIMER v5: User Manual/Tutorial*. PRIMER-E, Plymouth UK.

Clarke K.R., Warwick R.M. 1998. A taxonomic distinctness index and its statistical properties. *Journal of Applied Ecology*, **35**, 523–531.

Clarke K.R., Warwick R.M. 2001. A further biodiversity index applicable to species lists: variation in taxonomic distinctness. *Marine Ecology Progress Series*, **216**, 265–278.

Dodd M., Silvertown J., Chase M. 1999. Phylogenetic analysis of trait evolution and species diversity variation among Angiosperm families. *Evolution*, **53**, 732–744.

E.C. 1993. *CORINE Land Cover: technical guide*. Report EUR 12585. European Commission, Luxembourg.

E.C. 2000. *Directive of the European Parliament and of the Council 2000/60/EC establishing a framework for community action in the field of water policy*. PE-CONS 3639/1/00, 72 p.

Eyre M.D., Foster G.N., Luff M.L., Rushton S.P. 2006. The definition of British water beetle species pools (Coleoptera) and their relationship to altitude, temperature, precipitation and land cover variables. *Hydrobiologia*, **560**, 121–131.

Faith D.P. 1992. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biological Conservation*, **61**, 1–10.

Foster G.N. 1991. Conserving insects of aquatic and wetland habitats, with special reference to beetles. In: *The conservation of insects and their habitats* (eds. Collins N.M., Thomas J.A.), pp. 237–262. 15th Symposium of the Royal Entomological Society of London. Academic Press, London.

Gardezi T., da Silva J. 1999. Diversity in relation to body size in mammals: a comparative study. *American Naturalist*, **153**, 110–23.

Gómez R., Hurtado I., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R. 2005. Ramblas in south-east Spain: threatened and valuable ecosystems. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **15**, 387–402.

Hall S.J., Greenstreet S.P. 1998. Taxonomic distinctness and diversity measures: responses in marine fish communities. *Marine Ecology Progress Series*, **166**, 227–229.

Hansen M. 1999. *Hydrophiloidea (Coleoptera)*. *World Catalogue of Insects*, 2. Apollo Book. Stenstrup.

Harper J.L., Hawksworth D.L. 1994. Biodiversity: measurement and estimation. *Philosophical Transactions of the Royal Society Series B*, **345**, 5– 12.

Leonard D.R.P., Clarke K.R., Somerfield P., Warwick R.M. 2006. The application of an indicator based on taxonomic distinctness for UK marine biodiversity assessments. *Journal of Environmental Management*, **78**, 52–62.

Master L.L., Flack S.R., Stein B.A. 1998. *Rivers of Life: Critical Watersheds for Protecting Freshwater Biodiversity*. The Nature Conservancy: Arlington, Virginia.

Millán A., Abellán P., Ribera I., Sánchez-Fernández D., Velasco J. 2006. The Hydradephaga (Coleoptera) of the Segura basin (SE Spain): twenty-five years studying water beetles. *Memorie della Società Entomologica Italiana*, **85**, 137-158

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2002. *Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos y semiacuáticos de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses, Albacete.

Millán A., Velasco J., Vidal–Abarca M.R., Suárez M.L., Ramírez–Díaz L. 1996. Distribución espacial de los Adepaga acuáticos (Coleoptera) en la cuenca del río Segura (SE de la Península Ibérica). *Limnetica*, **12**, 13-30.

Nee S., May R.M. 1997. Extinction and the loss of evolutionary history. *Science*, **278**, 692–694.

Nilsson A.N. 2001. *Dytiscidae (Coleoptera)*. -*World Catalogue of Insects*, 3. Apollo Book. Stenstrup.

Piepenburg D., Voss J., Gutt J. 1997. Assemblages of sea stars (Echinodermata: Asteroidea) and brittle stars (Echinodermata: Ophiuroidea) in the Weddell Sea (Antarctica) and off Northeast Greenland (Arctic): a comparison of diversity and abundance. *Polar Biology*, **17**, 305–322.

Ribera I., Hernando C., Aguilera P. 1998. An Annotated checklist of the Iberian water beetles (Coleoptera). *Zapateri*, **8**, 43–111.

Ribera I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, **92**, 131–150.

Ribera I., Foster G. 1993. Uso de Coleópteros acuáticos como indicadores biológicos (Coleoptera). *Elytron*, **6**, 61–75.

Ricciardi A., Rasmussen J.B. 1999. Extinction rates in North American freshwater fauna. *Conservation Biology*, **13**, 1220–1222.

Richoux P. 1994. Theoretical habitat templates, species traits, and species richness: aquatic Coleoptera in the Upper Rhône River and its floodplain. *Freshwater Biology*, **31**, 377-395.

Rogers S.I., Clarke K.R., Reynolds J.D. 1999. The taxonomic distinctness of coastal bottom-dwelling fish communities of the North-east Atlantic. *Journal of Animal Ecology*, **68**, 769–782.

Salas F., Patrício J., Marcos C., Pardal M.A., Pérez-Ruzafa A., Marques J.C. 2006. Are taxonomic distinctness measures compliant to other ecological indicators in assessing ecological status? *Marine Pollution Bulletin*, **52**, 162-74.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Velasco J., Millán A. 2003. *Los coleópteros acuáticos de la región de Murcia. Catálogo faunístico y áreas prioritarias de conservación*. Monografías SEA, vol. 10: Zaragoza.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Mellado A., Velasco J., Millán A. (in press) Are water beetles good indicators of biodiversity in Mediterranean aquatic ecosystems? The case of the Segura river basin (SE Spain). *Biodiversity and Conservation*.

Sanderson M.J., Donoghue M.J. 1996. Reconstructing shifts in diversification rates on phylogenetic trees. *Trends in Ecology and Evolution*, **11**, 15–20.

Saunders D., Meeuwig J., Vincent A.J. 2002. Freshwater protected areas: Strategies for conservation. *Conservation Biology*, **16**, 30–41.

Somerfield P.J., Olsgard F., Carr M.R. 1997. A further examination of two new taxonomic distinctness measures. *Marine Ecology Progress Series*, **154**, 303–306.

Tilman D., Knops J.M.H., Wedin D.A., Reich P.B., Ritchie M.E., Siemann, E. 1997. The influence of functional diversity and composition on ecosystem processes. *Science*, **277**, 1300-1302.

Warwick R.M., Clarke K.R. 1995. New 'biodiversity' measures reveal a decrease in taxonomic distinctness with increasing stress. *Marine Ecology Progress Series*, **129**, 301–305.

Warwick R.M., Clarke K.R. 1998. Taxonomic distinctness and environmental assessment. *Journal of Applied Ecology*, **35**, 532–543.

Warwick R.M., Light, J. 2002. Death assemblages of molluscs on St Martin Flats, Isles of Scilly: a surrogate for regional biodiversity. *Biodiversity and Conservation*, **11**, 99 –112.

Webb C.O., Ackerly D.D., McPeck M.A., Donoghue M.J. 2002. Phylogenies and community ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **33**, 475–505.

Williams P.H., Humphries C.J., Vane-Wright R.I. 1991. Measuring biodiversity: taxonomic relatedness for conservation priorities. *Australian Systematic Botany*, **4**, 665–679.

Capítulo 5

Genética de la conservación en ecosistemas hipersalinos: diversidad genética y filogeografía de un escarabajo acuático amenazado

Resumen

Los ambientes acuáticos salinos son hábitats globalmente amenazados que albergan, además, muchas especies endémicas que a menudo tienen rangos geográficos restringidos y presentan poblaciones aisladas. En este trabajo se estudió la variación genética y la filogeografía de *Ochthebius glaber* Montes y Soler, un escarabajo acuático raro y amenazado endémico de arroyos hipersalinos del sur y sureste de la Península Ibérica. Se usó un fragmento de 633 pb del gen de la subunidad 1 de la citocromo oxidasa para determinar la diversidad genética y la estructura filogeográfica dentro de la especie, e interpretar los resultados en el contexto de los requerimientos de conservación de la especie. Fueron muestreadas trece poblaciones a lo largo del rango geográfico de la especie, y la diversidad genética resultó muy alta, con 37 haplotipos en los 71 especímenes examinados (p -distancia 0.2-7.3%, media 3.1 ± 0.4). Los análisis filogeográficos revelaron un inesperado alto grado de estructura geográfica, apreciable entre poblaciones separadas por distancias relativamente cortas, con tres grupos principales de haplotipos que han estado aparentemente aislados durante significativos periodos de tiempo. Las principales causas inferidas para las asociaciones geográficas detectadas fueron eventos de fragmentación alopátrica y expansión contigua del rango. El establecimiento de linajes evolutivos independientes como unidades de conservación es particularmente importante en especies que ocupan hábitats salinos tales como *O. glaber*, al estar amenazada por pérdida de hábitat en la mayor parte de su distribución. Sin embargo, dada la inestabilidad natural de los ambientes hipersalinos, sería necesaria la conservación de una red de poblaciones y hábitats potenciales para la preservación de los procesos que están generando y manteniendo la diversidad de la especie.

INTRODUCCIÓN

Los ambientes acuáticos salinos son hábitats raros que se encuentran, en muchos casos, amenazados, y que contienen comunidades particularmente ricas en especies raras o endémicas (Williams, 1999; Gómez *et al.*, 2005). Teniendo en cuenta la pérdida dramática de hábitats salinos como consecuencia del cambio en los usos del suelo que está teniendo lugar en algunas áreas mediterráneas, transformándose de agricultura extensiva a intensiva (Martínez-Fernández *et al.*, 2000; Stoate *et al.*, 2001), la evaluación de la variación genética y los patrones filogeográficos en taxones de ambientes salinos cobra especial importancia si han de abordarse medidas de conservación apropiadas.

Aunque nuestro conocimiento de la diversidad genética y la filogeografía de invertebrados de agua dulce ha incrementado significativamente en la última década (e.g. Hughes *et al.*, 1996, 2003; King *et al.*, 1999; Baker *et al.*, 2003; Kauwe *et al.*, 2004), la información concerniente a las poblaciones de invertebrados de ambientes salinos es escasa y se encuentra limitada a unas pocas especies (Diogo *et al.*, 1999; Gómez *et al.*, 2000, 2002), a pesar de su reconocido valor de conservación (Bamber *et al.*, 1992; Foster, 2000; Gómez *et al.*, 2005). Entre los hábitats acuáticos salinos, los arroyos hipersalinos son particularmente interesantes debido a su rareza y al alto número de taxones endémicos que albergan, especialmente especies de coleópteros acuáticos (Moreno *et al.*, 1997; Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003). En la región mediterránea, el género de hydrénidos *Ochthebius* incluye muchas especies que viven exclusivamente en aguas salinas o hipersalinas con rangos restringidos (Hansen, 1999), de las que más de veinte son exclusivas de la Península Ibérica (Ribera *et al.*, 1998; Ribera, 2000).

El presente estudio se centra en la estructura genética de *Ochthebius glaber* Montes y Soler, un escarabajo acuático de pequeño tamaño (<3 mm) endémico del sur de la Península Ibérica y una de las especies más características de la comunidad de macroinvertebrados de arroyos hipersalinos (Abellán *et al.*, 2005a). Aunque puede ser localmente abundante, la especie está limitada a sólo unos pocos arroyos salinos o ramblas, agrupadas en tres áreas geográficas, las cuencas de los ríos Guadalquivir, Segura y Júcar (en esta última con una única población).

La especie muestra una elevada especificidad de hábitat, apareciendo sólo en aguas corrientes hipersalinas (generalmente asociadas a sustratos margosos) con salinidades que varían desde 40 hasta por encima de 300 gL⁻¹ (Montes y Soler, 1988; Abellán *et al.*, 2005a). Muchos de estos ambientes hipersalinos están altamente amenazados (Sánchez-Fernández *et al.*, 2003; Gómez *et al.*, 2005), y algunas poblaciones de *O. glaber* han desaparecido en las últimas décadas (Abellán *et al.*, 2005a). Las principales amenazas que sufre la especie, al igual que otras muchas especies de hábitats salinos, están relacionadas con las actividades de agricultura intensiva, tal como la sobreexplotación de acuíferos, la contaminación difusa y la reducción en la salinidad debido a la entrada de agua dulce de los excedentes agrícolas (Abellán *et al.*, 2005a). A pesar de que no existe un reconocimiento legal de su grado de amenaza (en realidad ninguna de las especies de coleópteros acuáticos de la Península Ibérica están cubiertas por la legislación nacional o internacional), *O. glaber* es una especie vulnerable debido a su distribución restringida y fragmentada, su

elevada especificidad de hábitat y la pérdida continua de hábitat. Ha sido propuesta su inclusión en la lista roja de la UICN (Abellán *et al.*, 2005b) y se encuentra incluida en la lista roja española de invertebrados (Verdú y Galante, 2006).

En este trabajo se utilizaron secuencias parciales del gen mitocondrial de la subunidad 1 de la citocromo oxidasa (*cox1*) para determinar la diversidad genética y la estructura filogeográfica de las poblaciones de esta especie a través de su rango. La información sobre la diversidad genética y su grado de subdivisión geográfica puede ayudar a la toma de decisiones en la gestión y en el diseño de estrategias de recuperación (Avice, 2000; Crandall *et al.*, 2000) para esta y otras especies de insectos adaptadas a ambientes salinos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreo y secuenciación de ADN

Los especímenes fueron recolectados en 13 localidades a lo largo del rango de *O. glaber* (sur-sureste de la Península Ibérica) durante 2003 y 2004 (Figura 1, Tabla 1). Con la excepción de algunas posibles poblaciones adicionales en Jaén (cuenca del Guadalquivir), fueron estudiadas todas las poblaciones conocidas de la especie, determinadas a través del muestreo reciente en hábitats potenciales en el sureste de España (Abellán *et al.*, 2005a). Cada localidad de muestreo (es decir, arroyos individuales) constituye un parche de hábitat aislado para *O. glaber* y, por tanto, cada muestra fue considerada como una población separada.

Para los análisis filogenéticos se utilizaron como *outgroups* las especies *O. notabilis* Rosenhauer, estrechamente relacionada con *O. glaber* de acuerdo a la morfología (Jäch 1992), *O. montesi* Ferro y *O. quadrifossulatus* Wollaston, más otras dos especies relacionadas más lejanamente (*Catops fuliginosus* Erichson, familia Leiodidae, y *Aleochara bilineata* Gyllenhal, familia Staphylinidae), ambas en la misma superfamilia que Hydraenidae (Lawrence y Newton 1995). La secuencia de *A. bilineata* fue obtenida de Maus *et al.* (2001) (número de entrada AJ293086).

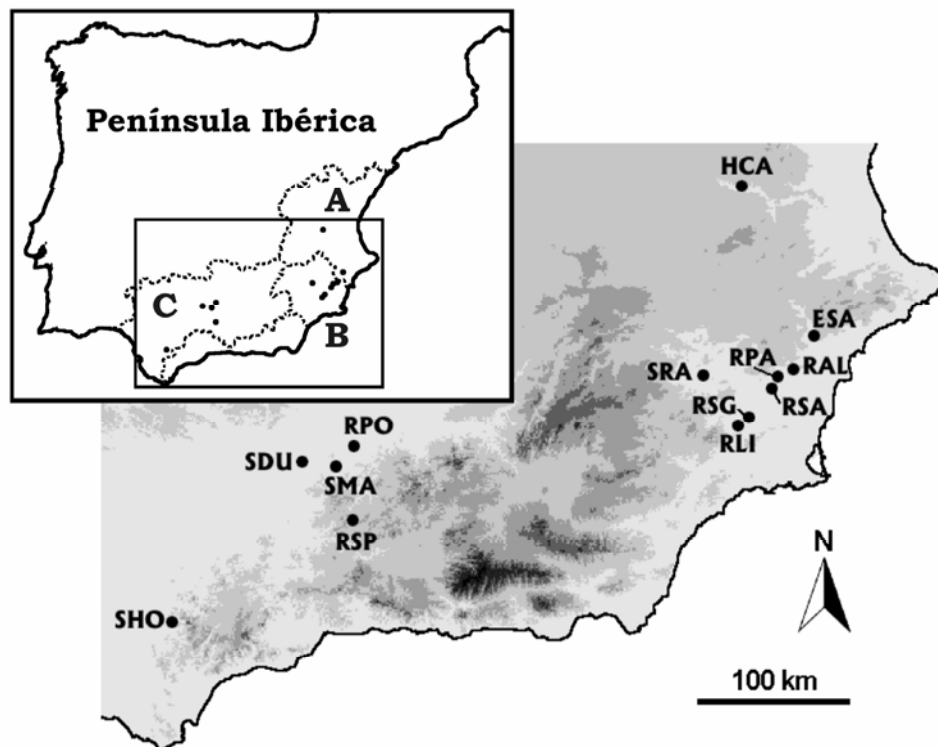


Figura 1. Localidades de muestreo de *Ochthebius glaber* en la Península Ibérica. El sombreado gris representa isoclinas de 500 m. Ver Tabla 1 para los códigos de las localidades. Las tres cuencas (Júcar, A; Segura, B; Guadalquivir, C) se indican en el mapa de localización insertado.

Las muestras fueron guardadas en etanol absoluto y el ADN fue extraído usando el Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, Mannheim). El fragmento de mtADN usado en este estudio fue una secuencia parcial de aproximadamente 800 pb del gen codificante de la proteína *cox1*, que fue amplificada mediante PCR usando los *primers* o cebadores C1-J-2183 y L2-N-3014 (Simon *et al.*, 1994). La secuenciación fue realizada usando el kit ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing (Applied Biosystems, Foster City) siguiendo las instrucciones del fabricante, y los productos secuenciados se analizaron en un aparato de electroforesis sobre los secuenciadores automáticos ABI 310 y 3700 (Applied Biosystems, Foster City).

Las secuencias nuevas obtenidas para este estudio fueron enviadas a la base de datos de genes EMBL (números de entrada AJ890027-AJ890079).

Tabla 1. Datos de las localidades, número de individuos (N), número de haplotipos (h), diversidad nucleotídica (π) y frecuencias de los haplotipos (en paréntesis, número de individuos con el mismo haplotipo) de las poblaciones estudiadas de *Ochthebius glaber* y los otros *Ochthebius* considerados como *outgroups*. Se indican también las principales clases de usos del suelo en el área adyacente a las localidades de muestreo.

Código	Localidad ^a	N	h	π	Haplotipos	Usos del suelo ^b
<i>O. glaber</i>						
HCA	Rambla Hoces del Cabriel (V)	6	4	0.002	Ju1(1), Ju2(3), Ju3(1), Ju4(1)	A
ESA	Estrecho de la Salineta (A)	6	3	0.001	Se5(4), Se6(1), Se7(1)	A, C
RAL	Rambla de Albaterra (A)	6	2	0.002	Se8(4), Se9(2)	A
RPA	Rambla de la Parra (MU)	5	3	0.003	Se8(3), Se10(1), Se11(1)	C
RSA	Rambla Salada Fortuna (MU)	7	2	0.001	Se8(5), Se12(2)	C
SRA	Salinas de la Ramona (MU)	5	4	0.003	Se8(2), Se13(1), Se14(1), Se15(1)	A
RSG	Rambla de Sangonera (MU)	7	2	0.000	Se16(1), Se17(6)	C
RLI	Rambla de Librilla (MU)	6	3	0.005	Se8(2), Se17(3), Se18(1)	A
RPO	Rambla en Porcuna (J)	5	5	0.013	Gu19(1), Gu20(1), Gu21(1), Gu22(1), Gu23(1)	B
SMA	Salinas de la Maturra (CO)	5	5	0.011	Gu21(1), Gu22(1), Gu24(1), Gu25(1), Gu26(1)	B
SDU	Salinas de Duernas (CO)	4	4	0.012	Gu21(1), Gu27(1), Gu28(1), Gu29(1)	B
RSP	Río Salado de Priego (CO)	4	4	0.011	Gu30(1), Gu31(1), Gu32(1), Gu33(1)	B
SHO	Salinas de Hortales (CA)	5	4	0.009	Gu34(1), Gu35(2), Gu36(1), Gu37(1)	B
<i>O. notabilis</i>						
SHO	Salinas de Hortales (CA)	1	1	—	n1(1)	B
SDU	Salinas de Duernas (CO)	1	1	—	n2(1)	B
CVE	Ayo. salino Casa de Ves (AB)	6	2	0.002	n3(5), n4(1)	A
SAN	Salinas de Añana (AV)	4	3	0.002	n5(2), n6(1), n7(1)	A
<i>O. montesi</i>						
RAG	Rambla de Algüeda (A)	6	4	0.003	m1(2), m2(2), m3(1), m4(1)	B
<i>O. quadrifossulatus</i>						
	Oued Kenndek, Morocco	4	4	0.005	q1(1), q2(1), q3(1), q4(1)	—

^a Provincia española (en paréntesis): A Alicante; AB Albacete; AV Álava; CA Cádiz; CO Córdoba; J Jaén; MU Murcia; V Valencia.

^b Usos del suelo en el área adyacente: A Vegetación natural; B Agricultura y ganadería extensivas; C Agricultura intensiva.

Variabilidad genética y estructura poblacional

Las secuencias de mtADN fueron editadas y alineadas a ojo usando el programa BioEdit 7.0 (Hall 1999). Se calculó la diversidad nucleotídica (π ; Nei, 1987) para diferentes grupos de haplotipos usando DnaSP 3.53 (Rozas *et al.*, 1999) y las medidas de divergencia genética dentro y entre grupos de haplotipos fueron obtenidas con Mega 2.2 (Kumar *et al.*, 1994). La diferenciación genética mitocondrial entre poblaciones fue evaluada a través de valores de F_{ST} par a par y testando su significación por 10.000 permutaciones usando Arlequin 2.0 (Schneider *et al.*, 2000). La asociación entre la distancia geográfica y genética (valores de

F_{ST}) entre pares de poblaciones fue evaluada por el test no-paramétrico de Mantel implementado en Arlequin 2.0 usando 1.000 permutaciones. El estadístico D de Tajima (Tajima, 1989), que identifica los efectos de cambios demográficos bajo la asunción de neutralidad, fue calculado para testar las evidencias de expansiones o contracciones poblacionales en el pasado. La significación estadística del valor observado de D se obtuvo generando muestras bajo la hipótesis nula de neutralidad selectiva y población en equilibrio, usando un algoritmo de simulación coalescente en DnaSP 3.53 adaptado de Hudson (1990). En este caso, las simulaciones se ejecutaron usando el mismo número de sitios de segregación observados en la muestra, y un tamaño muestral idéntico para cada uno de los escenarios testados.

Para identificar agrupaciones geográficas de poblaciones genéticamente distintas se utilizó un test implementado en SAMOVA 1.0 (Dupanloup *et al.*, 2002). El método se basa en un procedimiento de *annealing* simulado que tiene como finalidad maximizar la proporción de varianza genética total debida a las diferencias entre grupos de poblaciones (F_{CT}). A diferencia de los tests clásicos de estructura genética poblacional (e.g., AMOVA), este método no requiere una definición de poblaciones a priori, sino que explora estructuras de grupos emergentes basadas sólo en datos genéticos. Para ello se definió el número de poblaciones (K) y se ejecutaron 100 procesos de *annealing* simulado para cada posible K, desde K = 2 hasta K = 12, registrándose la escisión progresiva de las poblaciones de acuerdo a su varianza genética.

Análisis filogenéticos

Los árboles filogenéticos fueron elaborados usando análisis bayesiano con MrBayes 3.0b4 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Se utilizó ModelTest 3.06 (Posada y Crandall, 1998) para elegir el modelo de evolución molecular que mejor se adapta a nuestros datos. En la inferencia bayesiana, se ejecutaron cuatro cadenas de 2.000.000 generaciones cada una, muestreándose la cadena cada 100 generaciones. Después de confirmarse que la verosimilitud estimada de los árboles alcanzó una meseta, los primeros 1000 árboles en cada análisis fueron descartados para evitar la inclusión de árboles sub-óptimos y los árboles restantes fueron utilizados para estimar las probabilidades posteriores para cada uno de los parámetros del modelo y del árbol (incluyendo longitudes de las ramas). Para comparar con los resultados de la inferencia bayesiana, fueron ejecutados un análisis de parsimonia (a través de PAUP 4.0b, Swofford, 2002) y un análisis de máxima verosimilitud (MV) con Phyml 2.4 (Guindon y Gascuel, 2003), utilizando en este último el mismo modelo de evolución que el del análisis bayesiano. Se utilizaron los valores *bootstrap* y probabilidades posteriores de la inferencia bayesiana para calcular el soporte de los nodos. Los valores *bootstrap* fueron calculados en PAUP y Phyml usando 1.000 y 100 pseudoréplicas, respectivamente.

Análisis cladístico anidado

Se utilizó análisis cladístico anidado (ACA) sobre los datos de secuencias de mtADN para discriminar la influencia de eventos históricos y procesos de dinámica poblacional sobre la estructura genética de las poblaciones de *O. glaber* (Templeton *et al.*, 1995; Templeton,

1998). El ACA testa la hipótesis nula de no asociación entre la localización de las muestras y la variación de haplotipos, y provee una interpretación de patrones estadísticamente significativos (Templeton *et al.*, 1995). Se obtuvieron redes o *networks* de haplotipos sin homoplasia (con un intervalo de confianza del 95%) basadas en las conexiones más parsimoniosas con el programa TCS 1.18 (Clement *et al.*, 2000), el cual incorpora el algoritmo de estimación de cladogramas descrito por Templeton *et al.* (1992). Las *networks* independientes fueron unidas *a posteriori* considerándose sólo las conexiones más parsimoniosas entre dos haplotipos cualquiera relajando la probabilidad de conectar haplotipos sin homoplasia en las muestras (es decir, incrementando el número de posibles pasos mutacionales entre haplotipos) con TCS 1.18. Los datos fueron a continuación convertidos en series anidadas jerárquicas de haplotipos agrupados (llamados a partir de ahora “clados”) siguiendo las reglas propuestas por Templeton *et al.* (1995). Estos clados fueron analizados para ver si existía asociaciones significativas con la geografía utilizando Geodis 2.0 (Posada *et al.*, 2000). Los eventos demográficos fueron inferidos a partir de la clave más reciente provista en la página web de Geodis (14 de Julio de 2004; http://zoology.byu.edu/crandall_lab/geodis.htm), modificado de Templeton (1998).

RESULTADOS

Diversidad de mtADN y estructura poblacional

Se obtuvieron secuencias de *cox1* de 71 especímenes de *O. glaber*, que definieron 37 haplotipos distintos (Tabla 1). Las secuencias (después de eliminar los finales incompletos) tuvieron 633 pb, incluyendo 62 sitios polimórficos, de los cuales 57 (92%) fueron en la terceras posiciones del codón, 4 (6%) en las primeras, y sólo uno (2%) en las segundas. Los únicos cambios de aminoácidos fueron una valina por isoleucina en tres de los cuatro haplotipos del Júcar, y una tirosina por una isoleucina en todos los haplotipos de las cuencas del Júcar y Guadalquivir. La divergencia entre secuencias varió de 0.2% hasta 7.3% (media: $3.1 \pm 0.4\%$), con una diversidad nucleotídica total de $\pi=0.026$. La mayoría de los haplotipos (33 de los 37) estuvieron restringidos a localidades concretas, y sólo cuatro (Se8, Se17, Gu21 y Gu22) fueron observados en dos o más localidades (Tabla 1). Las tres principales áreas geográficas consideradas en el estudio (cuencas del Guadalquivir, Segura y Júcar) no compartieron ningún haplotipo.

La diversidad nucleotídica dentro de *O. glaber* fue un orden de magnitud mayor que la de su probable especie hermana, *O. notabilis* (0.026 y 0.004, respectivamente), a pesar de la mayor área ocupada por las poblaciones muestreadas de esta última (desde el sur al norte de la Península Ibérica). Por el contrario, la diversidad nucleotídica dentro de las poblaciones de *O. glaber* fue muy similar a la obtenida para las otras tres especies de *Ochthebius*, con la única excepción de las poblaciones de la cuenca del Guadalquivir, que fueron más diversas (Tabla 1). El número de haplotipos dentro de las muestras de la cuenca del Guadalquivir (19) fue mayor que en la cuenca del Segura (14), a pesar del mayor número de individuos muestreados en esta última (Tabla 1). De forma similar, la diversidad nucleotídica dentro de las poblaciones del Guadalquivir fue aproximadamente un orden de

magnitud mayor que la del resto de poblaciones, generalmente con tantos haplotipos como individuos (Tabla 1).

Aunque para evaluar la estructura poblacional, aproximaciones de genética de poblaciones podrían no ser apropiadas para datos con elevada diversidad y pocos individuos muestreados por población, en el contexto amplio de este estudio pueden ayudar a entender los resultados obtenidos. Así, la comparación de los valores de F_{ST} entre pares de poblaciones fueron también indicativos de altos niveles de diferenciación. La mayoría de las poblaciones estuvieron significativamente diferenciadas de las otras, excepto, aquellas dentro del mismo área geográfica (Tabla 2). Los mayores valores de diferenciación se encontraron entre la población de la cuenca del Júcar y las otras, aunque todos los valores entre las principales áreas geográficas fueron altos (Tabla 2). Los valores de F_{ST} entre poblaciones dentro del mismo área geográfica fueron en general mucho menores, con unas pocas excepciones: ESA y RSG en la cuenca del Segura, y SHO en la del Guadalquivir (Tabla 2). El nivel de diferenciación entre pares de poblaciones medido como valores de F_{ST} estuvo significativamente correlacionado con la distancia geográfica (test de Mantel: $r = 0.63$; $P = 0.001$).

Tabla 2. Valores de F_{ST} para los pares de poblaciones (en negrita, valores con $p < 0.01$ medida con 1000 permutaciones).

Code	ESA	RAL	RPA	RSA	SRA	RSG	RLI	RPO	SMA	SDU	RSP	SHO
HCA	0.97	0.97	0.96	0.98	0.96	0.98	0.95	0.87	0.88	0.89	0.89	0.91
ESA		0.71	0.65	0.79	0.64	0.93	0.62	0.79	0.82	0.83	0.85	0.86
RAL			-0.11	0.20	0.15	0.87	0.33	0.80	0.81	0.83	0.85	0.86
RPA				0.08	0.01	0.81	0.18	0.77	0.79	0.80	0.82	0.84
RSA					0.16	0.91	0.37	0.82	0.84	0.85	0.87	0.88
SRA						0.81	0.23	0.76	0.77	0.78	0.81	0.83
RSG							0.37	0.84	0.85	0.87	0.89	0.91
RLI								0.76	0.77	0.77	0.81	0.83
RPO									-0.08	-0.15	0.02	0.31
SMA										-0.06	0.11	0.44
SDU											0.14	0.38
RSP												0.41

Los valores obtenidos con el test de la D de Tajima fueron negativos para el conjunto de secuencias de la especie (-0.008), así como para las secuencias del Guadalquivir (-0.653) y del Segura (-1.142). Sin embargo, ninguno de los valores de D mostró diferencias estadísticamente significativas del modelo de coalescencia neutral de Hudson (1990).

El algoritmo de SAMOVA (Dupanloup *et al.*, 2002) permitió identificar sin ambigüedad el número de K grupos de poblaciones mostrando la mayor diferenciación entre grupos (Tabla 3), incrementando los valores de F_{CT} progresivamente con K , mientras los de F_{SC} decrecieron. Esto se correspondió con lo esperado, dada la relación entre ambos parámetros (Dupanloup *et al.*, 2002). El valor de F_{CT} aumentó claramente entre $K = 2$ y $K = 3$, mientras que todos los valores para $K \geq 3$ fueron muy similares, todos ellos estadísticamente significativos, variando de 0.81 ($K = 3$) hasta 0.85 ($K = 12$). Esto, posiblemente, indica que la información proporcionada por el tercer grupo es más importante que la proporcionada por el cuarto y los siguientes. La composición de grupos para $K = 3$ correspondió con la configuración geográfica de las localidades de acuerdo a las cuencas de los ríos (Figura 1). Incrementos progresivos en K tuvieron el efecto de añadir nuevos grupos conteniendo una única población, diluyendo la estructura de grupos.

Tabla 3. Resultados de los test de SAMOVA incrementando K (número de grupos). Con asterisco (*), valores con $p < 0.05$ basados en 100 simulaciones. Ver tabla 1 para los códigos de las localidades.

K	F_{SC}	F_{ST}	F_{CT}	Composición de los grupos
2	0,76*	0,92*	0,68	(HCA) (ESA, RAL, RPA, RSA, SRA, RSG, RLI, RPO, SMA, SDU, RSP, SHO)
3	0,39*	0,88*	0,81*	(HCA) (ESA, RAL, RPA, RSA, SRA, RSG, RLI) (RPO, SMA, SDU, RSP, SHO)
4	0,33*	0,88*	0,82*	(HCA) (ESA, RAL, RPA, RSA, SRA, RSG, RLI) (RPO, SMA, SDU, RSP) (SHO)
5	0,22*	0,86*	0,82*	(HCA) (ESA, RAL, RPA, RSA, SRA, RLI) (RSG) (RPO, SMA, SDU, RSP) (SHO)
6	0,13*	0,85*	0,83*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA, RSA, SRA, RLI) (RSG) (RPO, SMA, SDU, RSP) (SHO)
7	0,06*	0,85*	0,84*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA, RSA, SRA, RLI) (RSG) (RPO, SMA, SDU) (RSP) (SHO)
8	0,04*	0,85*	0,84*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA, RSA, SRA, RLI) (RSG) (RPO, SMA) (SDU) (RSP) (SHO)
9	-0,00*	0,83*	0,83*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA, RSA) (SRA) (RSG) (RLI) (RPO, SMA, SDU) (RSP) (SHO)
10	-0,06*	0,83*	0,84*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA, RSA) (SRA) (RSG) (RLI) (RPO, SDU) (SMA) (RSP) (SHO)
11	-0,10*	0,83*	0,84*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA, RSA) (SRA) (RSG) (RLI) (RPO) (SMA) (SDU) (RSP) (SHO)
12	-0,16	0,82*	0,85*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA) (RSA) (SRA) (RSG) (RLI) (RPO) (SMA) (SDU) (RSP) (SHO)

Relaciones filogenéticas

El modelo de sustitución óptimo para la matriz seleccionado por Modeltest, incluyendo los *outgroups*, fue el modelo GTR (*general time-reversible*; Rodríguez *et al.*, 1990), con una proporción de sitios variables y tasas heterogéneas que siguieron una distribución gamma (GTR+I+G). Los resultados del análisis bayesiano (árbol mostrado en la Figura 2) fueron muy similares a los obtenidos a partir de los otros métodos filogenéticos (no mostrados), con *O. glaber* como especie hermana de *O. notabilis* y elevado soporte de los nodos para la monofilia de los haplotipos encontrados en las cuencas de Segura y Júcar (Figura 2). Sin embargo, los nodos basales que establecen las relaciones entre los haplotipos de las tres principales áreas geográficas tuvieron un soporte muy bajo, definiendo lo que es de hecho una politomía basal que incluye varios linajes dentro de la cuenca del Guadalquivir, más las poblaciones de la cuenca del Segura y la población única de la cuenca del Júcar (Figura 2). El uso de las secuencias de *O. glaber* sólo (con un modelo de evolución estimado HKY85+I+G, Hasegawa *et al.*, 1985) no mejoró la resolución de los nodos basales dentro de la especie. Dentro de la cuenca del Segura, tres haplotipos de la misma localidad fueron hermanos del resto (Se5, Se6 y Se7, Tabla 1), aunque con un soporte moderado (Figura 2). Algunos otros clados, dentro de las cuencas del Segura y del Guadalquivir, mostraron un soporte alto (Figura 2), definiendo una estructura geográfica clara (ver más adelante).

Análisis cladístico anidado

Las redes o *networks* de parsimonia estadística (Templeton *et al.*, 1992) conectaron los haplotipos de *cox1* de *O. glaber* a través de diez o menos sustituciones nucleotídicas con una probabilidad del 95% de no presentar homoplasia. Este umbral separó tres *networks* independientes, formadas por los haplotipos de las tres principales áreas geográficas: las cuencas de los ríos Segura, Guadalquivir y Júcar (Figura 3a), en concordancia con los resultados filogenéticos (ver arriba). La *network* de la cuenca del Segura presentó una forma típica en estrella, con el haplotipo más abundante y con una distribución más amplia apareciendo en una posición central, mientras que la de la cuenca del Guadalquivir tuvo una estructura más difusa, con muy pocos haplotipos encontrados en más de una población (Figura 3a).

Con el fin de establecer la mejor hipótesis para el origen geográfico de las poblaciones del Segura y el Júcar, se forzó la conexión entre las tres *networks* de haplotipos relajando el umbral de confianza del 95%. La conexión entre las redes de las cuencas del Segura y Guadalquivir requirió catorce pasos mutacionales, cuatro pasos por encima del umbral de confianza para no incluir mutaciones homoplásicas (Templeton *et al.*, 1995), mientras que la conexión entre las cuencas del Júcar y el Guadalquivir requirió 31 pasos. El estudio de inferencias históricas o demográficas por medio de ACA requiere que la *network* este enraizada (Posada *et al.*, 2000), pero en ausencia de una hipótesis robusta sobre las relaciones entre los tres grupos de haplotipos (ver arriba), se optó por enraizar la genealogía de *O. glaber* en la rama larga que conecta los haplotipos de las cuencas del Guadalquivir y Júcar.

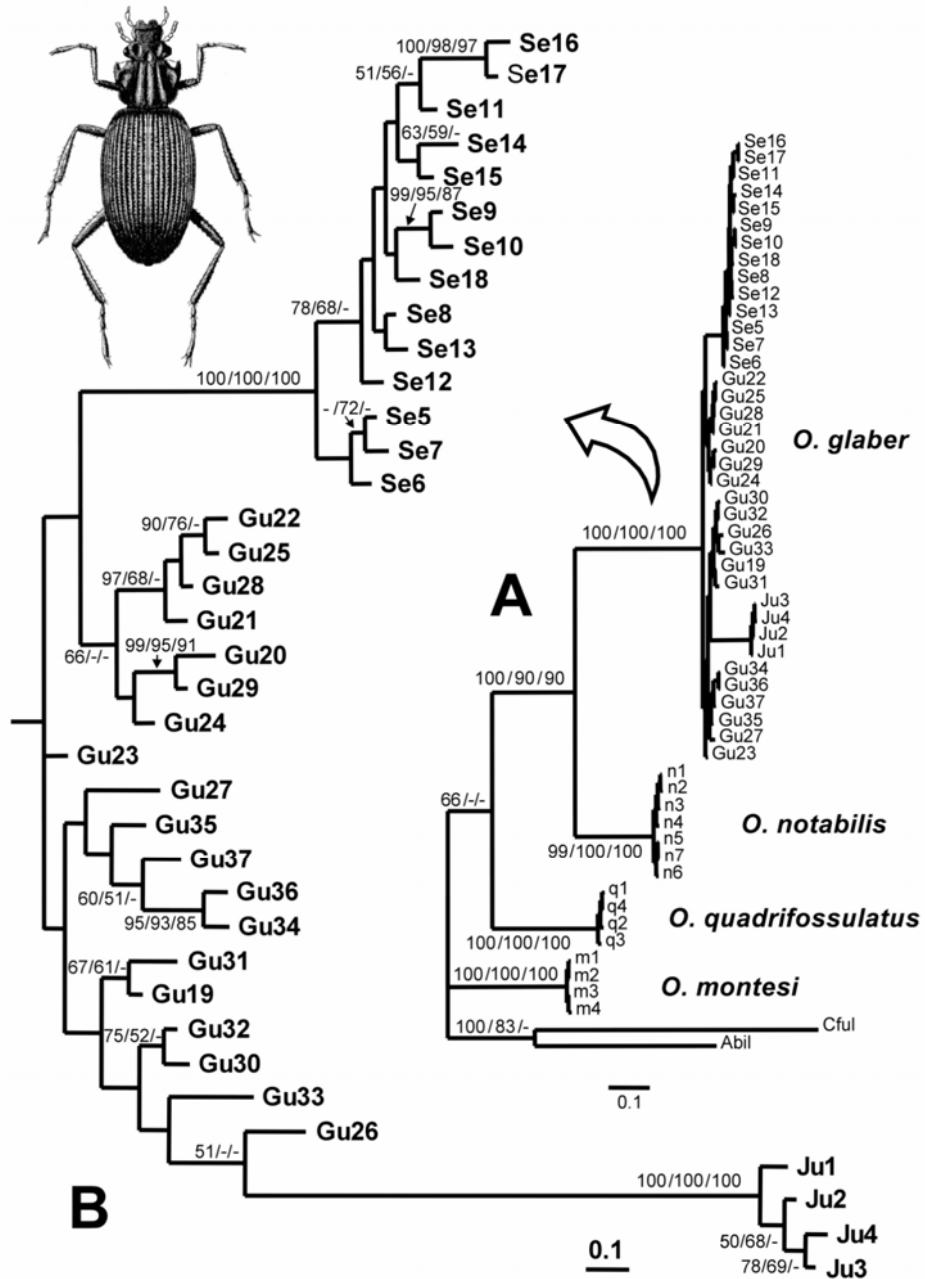


Figura 2. Reconstrucción filogenética de los haplotipos de *cox1* de *Ochethebius glaber*. A, Árbol de consenso del análisis bayesiano incluyendo los *outgroups*; B, Análisis incluyendo sólo los haplotipos de *O. glaber*. Los números sobre las ramas indican, respectivamente, probabilidades posteriores bayesianas (x100) / valores *bootstrap* de ML / valores *bootstrap* de parsimonia. Para el soporte de los nodos del análisis bayesiano y ML se muestran sólo los valores superiores al 50%, y para los de parsimonia los superiores al 70% (bajo estos criterios todos los nodos aportados son congruentes). Los códigos de los haplotipos corresponden a los indicados en la Tabla 1, con la adición de Cful y Abil (*Catops fuliginosus* y *Aleochara bilineata* respectivamente).

La conexión entre las *networks* de las cuencas del Segura y Guadalquivir presentó un lazo (*loop*) homoplásico, con dos conexiones alternativas igualmente parsimoniosas del haplotipo Se6 (Figura 3). Se consideraron las dos conexiones alternativas para realizar el análisis cladístico anidado, aunque esta ambigüedad sólo afectó al diseño de las *networks* al tercer nivel jerárquico del anidamiento, dando lugar a dos posibilidades distintas (Figura 3). En una de ellas (Solución 1), el clado 2-12 (que incluye la localidad ESA) conectó con el clado 2-3 (que incluye las localidades RPO y SHO), mientras que en la otra (Solución 2) el clado 2-12 conectó con el clado 2-9 (SMA). La Tabla 4 muestra las inferencias del análisis cladístico anidado para los clados con asociaciones geográficas significativas para las dos soluciones anidadas alternativas. En ambos casos, las causas principales de las asociaciones geográficas fueron, de acuerdo con el ACA, flujo genético restringido con aislamiento por distancia, fragmentación alopátrica y expansión contigua del rango.

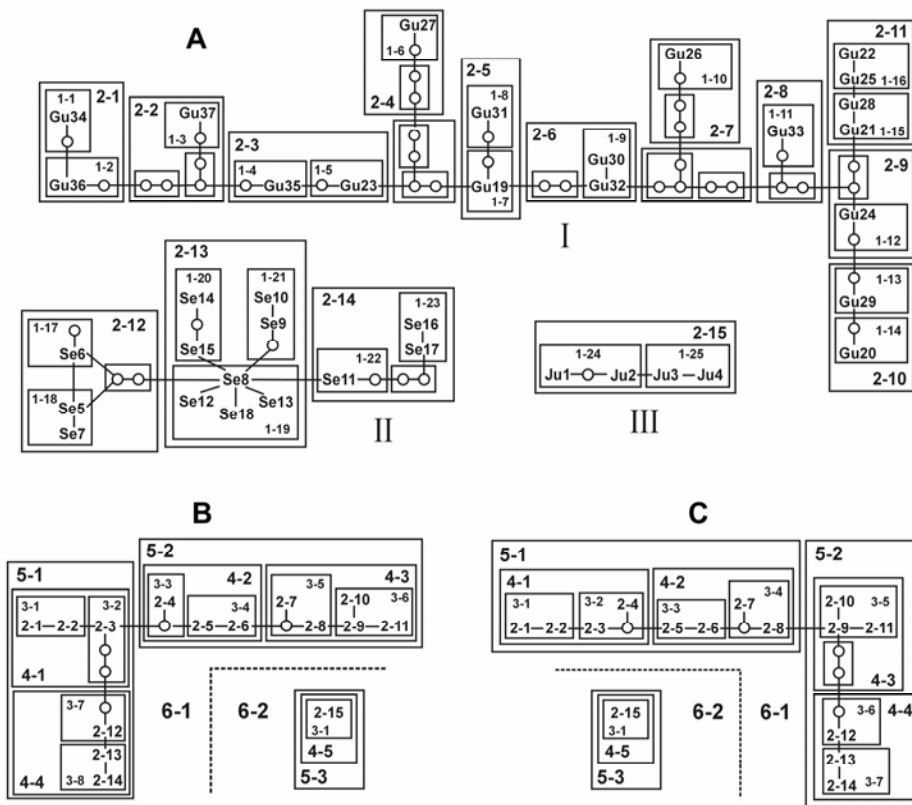


Figura 3. Redes de parsimonia estadística para los haplotipos de *cox1* de *Ochthebius glaber*. Los códigos de los haplotipos corresponden con los indicados en la Tabla 1. Las líneas continuas conectan haplotipos con una única mutación, las cajas indican clados anidados a distinto nivel jerárquico; los haplotipos intermedios no encontrados son indicados por un círculo. (A) Las tres redes independientes obtenidas con una probabilidad del 95% de estar conectadas sin homoplasia (conexiones $con \leq 10$ pasos mutacionales). Para mayor claridad, los clados de los niveles tercero al sexto son representados en redes separadas (B y C). Las redes I, II y III agrupan a los haplotipos de las cuencas del Segura, Guadalquivir y Júcar, respectivamente. Catorce pasos mutacionales conectan las redes I y II, y 31 pasos conectan las redes II y III. (B) y (C) Diseños alternativos conectando las redes I y II (Soluciones 1 y 2 respectivamente; ver Resultados). En B el clado 2-12 conecta con el clado 2-3 y en C el clado 2-12 conecta con el 2-9.

Tabla 4. Inferencias del análisis cladístico anidado de los clados con asociaciones geográficas significativas para las dos soluciones anidadas alternativas (ver texto y Figura 3).

Solución 1			Solución 2			Secuencia en la clave y procesos inferidos
Clado	χ^2	<i>P</i>	Clado	χ^2	<i>P</i>	
3-8	25.161	0.000	3-7	25.161	0.000	1-2-3-4-NO Flujo génico restringido
4-4	42.000	0.000	4-4	42.000	0.000	1-19-NO Fragmentación alopátrica
5-1	47.000	0.000	5-2	52.000	0.000	1-19-NO Fragmentación alopátrica
5-2	6.163	n.s.	5-1	10.988	0.009	1-2-11-12-NO Expansión contigua del rango
6-1	60.858	0.000	6-1	47.813	0.000	1-2-11-12-NO Expansión contigua del rango
Cladograma Total	70.000	0.000	Cladograma Total	70.000	0.000	1-19-NO Fragmentación alopátrica

DISCUSIÓN

Diversidad genética e historia poblacional de Ochthebius glaber

El resultado más inesperado de este estudio fue la detección de una diversidad genética considerable de haplotipos mitocondriales dentro y entre poblaciones de *O. glaber*, especialmente en las de la cuenca del Guadalquivir. Estas divergencias genéticas intraespecíficas son mayores que las encontradas entre otros coleópteros acuáticos endémicos de la Península bien caracterizadas morfológicamente (Ribera y Vogler, 2004), cuyos rangos geográficos son mucho más amplios que el de *O. glaber*. La variación genética de *O. glaber* también reveló una estructura poblacional bien definida, en contraste con lo que podría esperarse a partir de la taxonomía y la biología de la especie. Poco se conoce acerca de la capacidad de dispersión de *O. glaber*, pero es capaz de volar y su pequeño tamaño podría facilitar su dispersión pasiva por el viento. Otras especies del género *Ochthebius* en hábitats similares muestran vuelos en enjambre masivos bajo ciertas condiciones ambientales (observaciones no publicadas), aunque este fenómeno no ha sido observado nunca en *O. glaber*.

Los resultados obtenidos demuestran claramente la existencia de tres grupos geográficos principales de haplotipos pero con relaciones filogenéticas sin resolver, los cuales han permanecido aislados los unos de los otros durante periodos de tiempo considerables. La mayor diversidad genética observada en las poblaciones del Guadalquivir, que aparecen en los árboles como basales y parafiléticas con respecto a las poblaciones del Segura y el Júcar, sugiere que *O. glaber* podrían haberse originado en esta cuenca terciaria,

desde donde podrían haber sido colonizadas otras áreas. Otro hecho que apoya está hipótesis es la forma de estrella de la red de haplotipos de la cuenca del Segura, típica de expansiones poblacionales rápidas a partir de un reducido número de fundadores (Slatkin y Hudson, 1991; von Haeseler *et al.*, 1996; Forster *et al.*, 2001), con un alto valor negativo de D (Aris-Brosou y Excoffier 1996; Rogers *et al.*, 1996).

El evento filogeográfico más antiguo inferido para *O. glaber* fue una fragmentación que separó la población del Júcar del resto. Huecos genéticos prominentes definen linajes alopátricos, originados probablemente a partir de barreras extrínsecas durante grandes periodos de tiempo para el intercambio genético (Avice, 2000), lo que concuerda con la elevada singularidad genética mostrada por la población del Júcar. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la distancia entre la población del Júcar y la población más cercana de la especie en la cuenca del Segura es sólo de 110 Km (Figura 1), y aunque no hay hábitats disponibles para la especie entre ellas, no existen tampoco barreras orográficas importantes.

La historia del resto de las poblaciones de las cuencas del Guadalquivir y Segura, según la reconstrucción obtenida a partir del ACA, parece ser la expansión del rango y una subsiguiente fragmentación que habría originado el aislamiento de los haplotipos del Segura en el Sureste de España. Dentro de este último grupo, un nuevo evento de fragmentación alopátrica y de flujo genético restringido parecen haber jugado un papel principal en las asociaciones geográficas de haplotipos.

Una explicación potencial para la considerable divergencia de mtADN y la estructuración genealógica encontrada en poblaciones separadas por distancias geográficas relativamente pequeñas podría ser la distribución discontinua y dispersa del hábitat adecuado. Los resultados presentados aquí sugieren que la distribución parcheada de los arroyos hipersalinos (Abellán *et al.*, 2005a) parece ser suficiente para restringir el flujo genético incluso entre poblaciones cercanas dentro del mismo área, lo cual podría estar reforzado, en algunos casos, por una topografía abrupta. Un factor adicional para ser considerado es la inestabilidad natural de los ambientes hipersalinos, que resultaría en probables eventos frecuentes de extinción/recolonización y cambios importantes en el tamaño efectivo de las poblaciones debido a las dinámicas poblacionales explosivas de *O. glaber*.

Implicaciones para la conservación

La identificación de unidades de conservación por debajo del nivel de especie es una tarea crucial si se pretende evitar la pérdida de diversidad genética en especies que ocupan ambientes amenazados como los ecosistemas de aguas salinas interiores. Un marco operativo ampliamente utilizado para distinguir unidades para propuestas de conservación es el de unidades evolutivamente significativas (con las siglas ESU en inglés), propuesto originariamente por Ryder (1986), aunque desarrollado después por diferentes autores (*e.g.* Waples, 1991; Avice, 1994; Moritz, 1994b; Vogler y DeSalle, 1994; ver Fraser y Bernatchez, 2001 para una revisión). Los resultados de este estudio muestran la existencia de tres

unidades genéticas discretas dentro de *O. glaber* a una escala geográfica relativamente pequeña, los cuales podrían ser considerados potencialmente como ESUs.

Hay que tener en cuenta los efectos potenciales de la estocasticidad evolutiva y las limitaciones de muestro a la hora de definir ESUs a partir, exclusivamente, de mtADN, el cual es también heredado por vía sólo materna y no refleja el flujo genético mediado por el macho (Moritz, 1994a; Avise, 1995). Además, algunos autores (e.g. Bowen, 1999; Crandall *et al.*, 2000) han abogado recientemente por la incorporación de datos genéticos o ecológicos de importancia adaptativa en la formulación de ESUs. Hasta la fecha, no existe evidencia de que las poblaciones de *O. glaber* exhiban ninguna divergencia adaptativa (morfológica o ecológica), y la obtención de información de tipo ecológico, de comportamiento o de historia de vida se escapa a los objetivos originales del presente trabajo. No obstante, la profunda estructuración genética encontrada en *O. glaber* puede haber promovido adaptaciones locales no detectadas aún y que podrían ser importantes para el mantenimiento del potencial adaptativo de la especie. Al menos, el aislamiento histórico representa una acumulación de mutaciones noveles entre poblaciones, incluso aunque estas no sean aún distinguibles por diferencias “adaptativas” externas (Fraser y Bernatchez, 2001).

Fraser y Bernatchez (2001) integran la idea de ESU en un concepto más general y flexible, el de unidad de Conservación Evolutiva Adaptativa (con las siglas AEC en inglés). En este marco teórico, un ESU es un linaje que evidencie un elevado grado de restricción en el flujo genético respecto a otros linajes dentro una especie o de un nivel de organización mayor, y los autores sugieren su uso a partir de la mejor información biológica disponible a la hora de definir ESUs sobre la base de caso por caso. En general, cualquier criterio que aporte evidencias que permitan diferenciar linajes a través de la existencia de flujo genético altamente reducido son potencialmente útiles para iniciativas de conservación bajo la definición de ESU a partir de AEC, siempre que sea aplicado rigurosamente. Los datos de ADN mitocondrial presentados aquí sugieren estructuración geográfica significativa de la diversidad genética a lo largo del rango de *O. glaber*, y los análisis filogenéticos y filogeográficos apuntan hacia el aislamiento histórico durante un periodo de tiempo bastante largo entre las tres áreas geográficas donde aparece esta especie, correspondiendo con las cuencas de los tres ríos. Teniendo en cuenta la existencia de grandes áreas de discontinuidad de hábitat entre estas tres regiones, su singularidad genética y la historia inferida para el grupo, parece poco probable que exista intercambio genético entre estas tres zonas. Así, el presente estudio suporta el reconocimiento de estos tres linajes como unidades evolutivamente significativas bajo el concepto de conservación evolutiva adaptativa.

Además, la definición de ESUs dentro de *O. glaber* correspondiente con las principales cuencas se corresponde con su estado de conservación diferente (ver Green, 2005). Las transformaciones antropogénicas del hábitat no son igualmente dramáticas en las tres áreas donde se encuentran las poblaciones de la especie. Aunque los hábitats salinos continentales son, en general, ambientes poco valorados socialmente, los cambios en los usos del suelo son particularmente intensos en el sureste de España, especialmente en la cuenca del Segura (ver Tabla 1), donde la superficie de regadíos se ha incrementado

rápidamente, y donde los arroyos salinos están desapareciendo debido a la intensificación agrícola en las áreas adyacentes (Martínez-Fernández *et al.*, 2000; Sánchez-Fernández *et al.*, 2004). En términos de conservación, las poblaciones del Segura están más amenazadas, y por tanto requieren atención más urgente que las de otras áreas menos transformadas como las cuencas del Guadalquivir y el Júcar.

Dada la inestabilidad natural de los ambientes hipersalinos, parece probable que sean inútiles los esfuerzos para preservar poblaciones individuales que pudieran considerarse como representativas de ESUs diferentes, no quedando garantizada la preservación de los procesos que están generando y manteniendo su diversidad. Por tanto, se podría argumentar que es necesaria la preservación de una red completa de poblaciones y hábitats potenciales para conservar los procesos que subyacen a la generación de los patrones observados (ver *e.g.* Ennos *et al.*, 2005), y que uno de los factores más importantes sería el de preservar la habilidad de generar y mantener altos niveles de diversidad haplotípica dentro y entre poblaciones, sea cual sea el mecanismo que la origina.

BIBLIOGRAFÍA

Abellán P., Sánchez-Fernández D., Ribera I., Velasco J., Millán A. 2005a. *Ochthebius glaber* (Col: Hydraenidae), un coleóptero acuático endémico de la Península Ibérica con elevada especificidad de hábitat. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **36**, 9-14.

Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005b. Assessing conservation priorities for insects: status of water beetles in southeast Spain. *Biological Conservation*, **121**, 79-90.

Aris-Brosou S., Excoffier L. 1996. The impact of population expansion and mutation rate heterogeneity on DNA sequence polymorphism. *Molecular Biology and Evolution*, **13**, 494–504.

Avice J.C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, New York.

Avice J.C. 1995. Mitochondrial DNA polymorphism and a connection between genetics and demography of relevance to conservation. *Conservation Biology*, **9**, 686–690.

Avice J.C. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA, USA.

Baker A.M., Williams S.A., Hughes J.M. 2003. Patterns of spatial genetic structuring in a hydroptychid caddisfly from southeastern Australia. *Molecular Ecology*, **12**, 3313–3324.

Bamber R.N., Batten S.D., Sheader M., Bridgewater N.D. 1992. On the ecology of brackish water lagoons in Great Britain. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **2**, 65-94.

Bowen B.W. 1999. Preserving genes, species, or ecosystems? Healing the fractured foundations of conservation policy. *Molecular Ecology*, **8**, 5–10.

Clement M.D., Posada D., Crandall K.A. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, **9**, 1657–1659.

Cracraft J. 1997. Species concepts in systematics and conservation biology -An ornithological viewpoint, In: *Species: The units of biodiversity* (eds. Claridge M.F., Dawah H. A., Wilson M.R.), pp. 325–339. Chapman and Hall, New York.

Crandall K.A., Bininda-Emonds O.R.P., Mace G.M., Wayne R.K. 2000. Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution*, **17**, 390–395.

Diogo A.C., Vogler A.P., Jiménez A., Gallego D., Galián J. 1999. Conservation genetics of *Cicindela deserticoloides* an endangered tiger beetle endemic to southeastern Spain. *Journal of Insect Conservation*, **3**, 117–123.

Dupanloup I., Schneider S., Excoffier L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, **11**, 2571–2581.

Ennos R.A., French G.C., Hollingsworth P.M. 2005. Conserving taxonomic complexity. *Trends in Ecology and Evolution*, **20**, 164-168.

Forster P., Torroni A., Renfrew C., Röhl A. 2001. Phylogenetic star contraction applied to Asian and Papuan mtDNA evolution. *Molecular Biology and Evolution*, **18**, 1864–1881.

Foster G.N. 2000. The aquatic Coleoptera of British saltmarshes: extremes of generalism and specialism, In: *British Saltmarshes* (eds. Sherwood B.R., Gardiner B.G., Harris T.), pp. 223-233. Linnean Society, London.

Fraser D.J., Bernatchez L. 2001. Adaptative evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Molecular Ecology*, **10**, 2741–2752.

Gómez A., Carvalho G.R., Lunt D.H. 2000. Phylogeography and regional endemism of a passively dispersing zooplankter: mitochondrial DNA variation in rotifer resting egg banks. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **267**, 2189-2197.

Gómez A., Serra M., Carvalho G.R., Lunt D.H. 2002. Speciation in ancient cryptic species complexes: Evidence from the molecular phylogeny of *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Evolution*, **56**, 1431-1444.

Gómez R., Hurtado I., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R. 2005. Ramblas in south-east Spain: threatened and valuable ecosystems. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **15**, 387-402.

Green D.M. 2005. Designatable units for status assessment of endangered species. *Conservation Biology*, **11**, 1813-1820.

Guindon S., Gascuel O. 2003. PHYML: A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, **52**, 696–704.

Hansen M. 1999. *Hydrophiloidea (Coleoptera)*. *World Catalogue of Insects*. Vol. 2. Apollo, Stenstrup.

von Haeseler A., Sajantila A., Pääbo S. 1996. The genetical archaeology of the human genome. *Nature Genetics*, **14**, 135–140.

Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**, 95–98.

Hasegawa M., Kishino K., Yano T. 1985. Dating the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, **22**, 160-174.

Huelsenbeck J.P., Ronquist F. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, **17**, 754– 755.

Hudson R.R. 1990. Gene genealogies and the coalescent process. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*, **7**, 1–44.

Hughes J.M., Bunn S.E., Hurwood D.A., Choy S., Pearson R.G. 1996. Genetic differentiation among populations of *Caridina zebra* (Decapoda: Atyidae) in tropical rainforest streams, northern Australia. *Freshwater Biology*, **36**, 289–296.

Hughes J.M., Mather P.B., Hillyer M.J., Cleary C., Peckarsky B. 2003. Genetic structure in a montane mayfly *Baetis bicaudatus* (Ephemeroptera: Baetidae), from the Rocky Mountains, Colorado. *Freshwater Biology*, **48**, 2149–2162.

Jäch M.A. 1992. Revision of the Palearctic species of the genus *Ochthebius* Leach, 1815. IX. The andraei and notabilis species groups (Coleoptera, Hydraenidae). *Nachrichtenbl. Nachrichtenblatt Bayerischer Entomologen*, **41**, 7-21.

Kauwe J.S.K., Shiozawa D.K., Evans R.P. 2004. Phylogeographic and nested clade analysis of the stonefly *Pteronarcys californica* (Plecoptera:Pteronarcyidae) in the western USA. *Journal of the North American Benthological Society*, **23**, 824–838.

King T.L., Eackles M.S., Gjetvaj B., Hoeh W.R. 1999. Intraspecific phylogeography of *Lasmigona subviridis* (Bivalvia: Unionidae): conservation implications of range discontinuity. *Molecular Ecology*, **8**, 65–78.

Kumar S., Tamura K., Nei M. 1994. MEGA: molecular evolutionary genetics analysis software for microcomputers. *Computer Applications in Biosciences*, **10**, 189–191.

Lawrence J.F., Newton Jr A.F. 1995. Families and subfamilies of Coleoptera (with selected genera, notes, references and data on family-group names). In: *Biology, phylogeny, and classification of Coleoptera*. Papers celebrating the 80th birthday of Roy A. Crowson (eds. Pakaluk J., Slipinski S.A.), pp. 779–1006. Crowson. Muzeum I Instytut Zoologii PAN, Warszawa.

Martínez–Fernández J., Esteve–Selma M.A., Calvo–Sendín J.F. 2000. Environmental and socio–economic interaction in the evolution of traditional irrigate lands. A dynamic system model. *Human Ecology*, **28**, 279–299.

Maus C., Peschke K., Dobler S. 2001. Phylogeny of the genus *Aleochara* inferred from mitochondrial cytochrome oxidase sequences (Coleoptera: Staphylinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **18**, 202–216.

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2002. *Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos y semiacuáticos de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses, Albacete.

Montes C., Soler A.G. 1988. A new species of the Genus *Ochthebius* (Subgenus *Calobius*) (Coleoptera: Hydraenidae) from Iberian hypersaline waters. *Aquatic Insects*, **10**, 43–47.

Moreno J.L., Millán A., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R., Velasco J. 1997. Aquatic Coleoptera and Heteroptera assemblages in waterbodies from ephemeral coastal streams (“ramblas”) of south-eastern Spain. *Archiv fur Hydrobiologie*, **141**, 93–107.

Moritz C. 1994a. Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review. *Molecular Ecology*, **3**, 401–411.

Moritz C. 1994b. Defining “evolutionary significant units” for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, **9**, 373–375.

Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.

Posada D., Crandall K.A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, **14**, 817–818.

Posada D., Crandall K.A., Templeton A.R. 2000. Geodis: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. *Molecular Ecology*, **9**, 487-488.

Ribera I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, **92**, 131-150.

Ribera I., Hernando C., Aguilera P. 1998. An Annotated checklist of the Iberian water beetles (Coleoptera). *Zapateri*, **8**, 43-111.

Ribera I., Vogler A.P. 2004. Speciation of Iberian diving beetles in Pleistocene refugia (Coleoptera, Dytiscidae). *Molecular Ecology*, **13**, 179-193.

Rodríguez F., Oliver J.F., Marín A., Medina J.R. 1990. The general stochastic model of nucleotide substitution. *Journal of Theoretical Biology*, **142**, 485-501.

Rogers A.R., Fraley A.E., Bamshad M.J., Watkins W.S., Jorde L.B. 1996. Mitochondrial mismatch analysis is insensitive to the mutational process. *Molecular Biology and Evolution*, **13**, 895-902

Rozas J., Sánchez-DelBarrio J.C., Messeguer X., Rozas R. 1999. Dnasp, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, **19**, 2496–2497.

Ryder, O.A. 1986. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*, **1**, 9 –10.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Barahona J., Velasco J., Millán A. 2004. El regadío amenaza a los mejores ecosistemas acuáticos de Murcia. *Quercus*, **215**, 68-69.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Millán A., Velasco J. 2003. *Los coleópteros acuáticos de la Región de Murcia. Catálogo faunístico y áreas prioritarias de conservación*. Monografías SEA 10. Zaragoza.

Schneider S., Roessli D., Excoffier L. 2000. *Arlequin, version 2.000: A software for population genetic analysis*. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Geneva.

Simon C., Frati .F, Beckenbach A.T., Crespi B., Liu H., Flook P. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, **87**, 651–701.

Sites J.W., Marshall J.C. 2004. Operational criteria for delimiting species. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **35**, 199-22

Slatkin M., Hudson R.R. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, **129**, 555–562.

Stoate C., Boatman N.D., Borralho R.J., Carvalho C.R., de Snoo G.R., Eden P. 2001. Ecological impacts of arable intensification in Europe. *Journal of Environmental Management*, **63**, 337–365.

Swofford D.L. 2002. *PAUP*: Phylogenetic Analysis using Parsimony (* and other methods)*, Version 4.0b10. Sinauer and Associates. Sunderland, Massachusetts.

Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, **123**, 585–595.

Templeton A.R. 1998. Nested clade analysis of phylogeographic data: testing hypothesis about gene flow and population history. *Molecular Ecology*, **7**, 381–397.

Templeton A.R., Crandall K.A., Sing C.F. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. III. Cladogram estimation. *Genetics*, **132**, 619–633.

Templeton A.R., Routman E., Phillips C.A. 1995. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographic distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics*, **140**, 767–782.

Verdú J.R., Galante E. 2006. *Libro Rojo de los Invertebrados de España*. Dirección General para la Biodiversidad, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.

Vogler A.P., DeSalle R. 1994. Diagnosing units of conservation management. *Conservation Biology*, **8**, 354–363.

Waples R.S. 1991. Pacific Salmon, *Oncorhynchus* spp. and the definition of “species” under the endangered species act. *Marine Fisheries Review*, **53**, 11–22.

Williams W.D. 1999. Conservation of wetlands in drylands: a key global issue. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **9**, 517–522.

Conclusiones generales

Los resultados aportados en esta tesis permiten concluir que ciertas especies de coleópteros acuáticos, de rangos geográficos restringidos y amenazadas por la pérdida de hábitat, corren el riesgo de desaparecer, síntoma de las transformaciones del hombre sobre los sistemas acuáticos de Sureste Ibérico. Además, frente a los índices tradicionales utilizados para identificar espacios con interés de conservación, nuevas estrategias de selección de áreas como las basadas en el principio de complementariedad, se revelan como más adecuadas para conservar los mayores niveles de biodiversidad de los sistemas acuáticos continentales. Estos métodos permiten, así, identificar los ambientes y hábitats de mayor interés de conservación en el Sureste Ibérico. También se muestra que las redes actuales de espacios protegidos pueden no ser eficaces en la preservación de la biodiversidad de estos ecosistemas, frente a metodologías alternativas que maximizan la diversidad representada. Por otro lado, se ponen de manifiesto las limitaciones de las medidas de basadas en la diversidad taxonómica para la evaluación del estado de conservación de los ecosistemas, y del papel en su efectividad de la estructura filogenética y la historia evolutiva y ecológica de los taxones muestreados. Y finalmente, la elevada diversidad genética y la marcada estructura filogeografía encontrada en *Ochthebius glaber*, además de aportar información útil para la conservación de esta especie, aporta datos interesantes sobre los patrones de diversidad genética de los organismos de ambientes singulares como los arroyos salinos, información que puede ser fundamental en el reconocimiento de unidades de conservación por debajo del nivel de especie, necesaria para la gestión adecuada de estos organismos y de la diversidad en general de estos ambientes.

Desglosadas por capítulos, las principales conclusiones generales de esta tesis son:

Capítulo 1

(1) *Ochthebius glaber*, *O. irenae*, *O. montesi*, *O. albacetinus* y *Hydraena mecai* aparecieron como las especies de coleópteros acuáticos más vulnerables, por lo que se propone su inclusión en el Catálogo Nacional de Especies Amenazadas. Además, se propone la inclusión de *Ochthebius glaber*, *O. irenae* y *O. montesi* en la lista roja de la UICN como “Vulnerables”. Estas especies son endemismos ibéricos con rangos geográficos restringidos al sureste y se encuentran, además, amenazadas por la pérdida de hábitat.

(2) La protección efectiva de estas especies requiere medidas dirigidas a la conservación de sus hábitats. Entre los hábitats prioritarios del Sureste de la Península Ibérica para la conservación de estas especies, se incluyen los arroyos de agua dulce de media montaña, los arroyos salinos y las lagunas endorreicas

Capítulo 2

(3) Los métodos de complementariedad fueron más eficaces que los índices y los *hotspots* de riqueza y rareza a la hora de representar los objetivos de conservación en un número determinado de áreas y para identificar un conjunto mínimo de áreas que recojan todas las especies al menos una vez. Dentro de éstos, el algoritmo basado en la riqueza fue más eficiente que el basado en la rareza de las especies.

(4) Los hábitats de mayor interés para la conservación de la biodiversidad de ecosistemas acuáticos en el área estudiada son los arroyos de media altitud, los arroyos hipersalinos y los complejos kársticos y endorreicos.

Capítulo 3

(5) Aunque la actual red de áreas protegidas en el área de estudio cubre un número relativamente alto de especies de coleópteros acuáticos, la distribución y extensión de los espacios naturales protegidos son aún insuficientes para proteger la biodiversidad acuática, especialmente las especies de interés de conservación.

(6) Los métodos alternativos de selección de áreas (*hotspots* y complementariedad) fueron más eficaces que los ENPs para representar los escarabajos acuáticos. Dentro de éstos, la complementariedad fue el método más eficaz, siendo capaz de representar todas las especies en un área significativamente menor que la actual red de ENPs.

(7) Por otro lado, la futura Red Natura 2000 supondrá un incremento considerable en la superficie total protegida así como en la biodiversidad representada.

(8) Por desgracia, el hecho de que la distribución de una especie quede incluida dentro de un espacio natural protegido no es una garantía de su supervivencia a largo plazo, ya que la extensión de las áreas protegidas es a menudo insuficiente y pueden tener lugar alteraciones fuera de los límites del parque. Por tanto, se hace indispensable la gestión a nivel de cuenca y el mantenimiento de los caudales naturales para la conservación de la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos.

Capítulo 4

(9) Las medidas de diferenciación taxonómica no fueron capaces de identificar los efectos de perturbación humana y no hubo una clara relación entre estos nuevos índices de biodiversidad y el nivel de impacto registrado en localidades individuales.

(10) Además, las medidas de diferenciación taxonómica utilizadas fueron aparentemente menos sensibles a los efectos del impacto antrópico que otras medidas de diversidad como la riqueza de especies y la rareza.

(11) Los índices de diferenciación taxonómica pueden no funcionar siempre tan bien como otras métricas en la evaluación de la calidad ambiental. Además, este tipo de medidas debería ser utilizado con cautela, ya que su comportamiento y su capacidad de detectar impactos antrópicos puede depender de la estructura filogenética de los taxones muestreados dentro de una región, y de su historia evolutiva y ecológica.

Capítulo 5

(12) Los análisis genéticos revelaron una elevada diversidad genética y un inesperado alto grado de estructura geográfica en *Ochthebius glaber*, apreciable entre poblaciones separadas por distancias espaciales relativamente cortas, con tres grupos principales de haplotipos que han estado aparentemente aislados durante periodos significativos de tiempo.

(13) Las principales causas inferidas para las asociaciones geográficas detectadas fueron eventos de fragmentación alopátrica y expansión contigua del rango.

(14) El establecimiento de linajes evolutivos independientes como unidades de conservación es particularmente importante para especies que ocupan hábitats salinos tales como *O. glaber*, la cual está amenazada por pérdida de hábitat en la mayor parte de su distribución. Sin embargo, dada la inestabilidad natural de los ambientes hipersalinos, sería necesaria la conservación de una red de poblaciones y hábitats potenciales para la preservación de los procesos que están generando y manteniendo la diversidad de la especie.

**Conservation of freshwater biodiversity in
southeastern Spain: methods and approaches
from water beetle data**

General abstract

This thesis involves different approaches and methods following the common thread of inland waters conservation in the south-east of the Iberian Peninsula, using water beetle data.

Firstly, an objective method for assessing the vulnerability of species and for prioritizing species and populations for conservation, especially insects, is proposed. Species of water beetles from two Spanish provinces of the southeast of the Iberian Peninsula are ranked according to their conservation priority at the local, national and global levels taking into consideration a set of six variables: general distribution, endemism, rarity, persistence, habitat rarity and habitat loss. *Ochthebius glaber*, *O. irenae*, *O. montesi*, *O. albaceticus* and *Hydraena mecai* were seen to be the most vulnerable. Effective protection of these species requires measures directed at the conservation of their habitats.

Then, the performance of various area-selection methods, ranging from scoring procedures to complementarity-based algorithms, which are based on different criteria such as richness, rarity and vulnerability, is compared. The complementarity approaches were more efficient than methods using scoring or richness and rarity hotspots for representing conservation targets in a given number of areas and for identifying the minimum set of areas containing all species at least once. Within these, the richness-based algorithm was more efficient than rarity-based algorithm. Crucial target habitats for aquatic biodiversity conservation in the area studied are streams at medium altitude, hypersaline streams, and endorreic and karstic complexes.

In relation with setting priorities for areas, an attempt is made to address the performance of current and future protected areas in the context of freshwater

biodiversity conservation. The results show that the distribution and extent of reserves is still inadequate or insufficient to protect freshwater biodiversity, especially species of conservation concern. Alternative area-selection methods (hotspots and complementary) were more efficient than protected areas for representing water beetles. Within these, complementarity was the most efficient approach, and was able to represent all species in a significantly lower.

On the other hand, the behaviour of distinctiveness measures in relation to putative levels of anthropogenic impact in inland waters and their potential utility in environmental monitoring are tested. Taxonomic distinctness measures were not able to identify human disturbance effects and there were no clear relationships between these new biodiversity measures and the disturbance level recorded at individual localities. Thus, their performance and ability to detect anthropogenic disturbance may depend on the phylogenetic structure of sampled taxa within a region, and their evolutionary and ecological history.

Finally, the genetic variation and phylogeography of *Ochthebius glaber*, a rare and endangered water beetle endemic to hypersaline streams in the South and Southeast of the Iberian Peninsula, are studied. Phylogeographic analyses revealed a surprisingly high degree of geographical structure, detectable among populations separated by relatively short geographical distances, with three main groups of haplotypes which have apparently been isolated for significant periods of time. Past fragmentation and contiguous range expansion events were inferred as the main causes of the detected geographical associations of haplotypes. Given the natural instability of hypersaline environments, the conservation of a network of populations and potential habitats would be necessary to enable the preservation of the process generating and maintaining the diversity of the species.

General introduction

Biodiversity conservation in inland waters

One of the major concerns we face today is the ever-growing mass extinction of living forms caused by human activities (Humphries and Fisher, 1994; Kerr and Currie, 1995; Purvis and Hector, 2000). As a result, the conservation of biological diversity has become a global preoccupation and a commonly acknowledged goal, as illustrated by the Convention on Biological Diversity signed by 150 member states (United Nations Environment Programme, 2005). Although our knowledge of global biodiversity and extinction is very limited, it has been estimated that, of the 2 to 100 million species believed to exist, about 17500 are being lost each year, that is, two species every hour (Wilson, 1988; Stork, 1994). Of these, the vast majority belong to understudied groups like insects (Dunn, 2005). Despite their fundamental roles in nature and potential for use in the definition of conservation priority areas, arthropods have been systematically ignored in conservation studies (Franklin, 1993; Kremen *et al.*, 1993). When corrected for this knowledge bias, the data for this taxon show even higher extinction rates and proportion of threatened species than well-known taxa such as birds and mammals (Thomas and Morris, 1994; MacKinney, 1999).

Despite this lack of species information, there is widespread agreement that the biodiversity of inland waters is highly threatened, to a greater extent, many believe, than in any other ecosystem (Allan and Flecker, 1993; Master *et al.*, 1998; Ricciardi and Rasmussen, 1999). For example, of more than 200 freshwater, wetland and water margin vertebrate species, most species were found to be in decline (WCMC, 1998). Available data suggest that around 30% of fish species are threatened (IUCN, 2006). Nevertheless, all estimates concerning biodiversity loss are necessarily conservative given the lack of knowledge for many groups of species like invertebrates. In addition to species loss, habitat degradation, eutrophication and the introduction of alien species also affect freshwater bodies worldwide. The rapidly increasing use of water for drinking, sanitation, irrigation and generation of electricity is almost invariably associated with the loss or degradation of wetland habitat following construction of dams, chanelization of rivers and alteration of river flow regimes. Thus, freshwater ecosystems are recognised to be among the most threatened ecosystems in the world (Abell, 2002; Saunders *et al.*, 2002). Despite the signs of rapid and destructive

changes in freshwater ecosystems, freshwater biodiversity remains of low priority in global conservation initiatives carried out by governmental and intergovernmental organizations (Balmford et al., 2002; Saunders et al., 2002).

The loss of freshwater biodiversity is particularly worrying in the southeast of the Iberian Peninsula, one of the biodiversity hotspots of the Mediterranean Basin (Médail and Quézel, 1999). Despite being one of the most arid of Europe, this region comprises a wide range of aquatic ecosystems, from freshwater streams, ponds and wetlands to hypersaline ramblas, or continental and coastal salt-pans. Many of these ecosystems are unique because of their ecological characteristics and because of the presence of rare and endemic species (Moreno et al., 1997; Gómez et al., 2005). On the other hand, the landscape in the region has been subject to strong human influence for centuries, leading to the progressive loss of freshwater species and habitats. The transformation of agricultural landscapes, moving from extensive to intensive farming, has accelerated during the last decades, and the current expansion of irrigated lands in this area is increasing agricultural water demands far beyond available resources, leading to the exhaustion of natural flows in rivers and ephemeral channels, aquifer overexploitation, loss of springs and wetlands and the depletion of water reserves (Martínez-Fernández and Esteve, 2005). Therefore, the conservation of aquatic ecosystems and freshwater biota in this region has become a urgent and critical task.

One of the fundamental issues in conservation is how to maximize the protection of biodiversity and ultimately fulfil the goals of representativeness and persistence, that is, to identify and protect for the long term the broadest possible sample of biodiversity of a region (Humphries *et al.*, 1995; Margules and Pressey, 2000). Such goals involve decisions about the location and design of reserves and about the conservation of specific species. Given that resources for the conservation of species diversity are always limited, they should obviously be directed at those species and areas that have the highest conservation priorities (Margules and Pressey, 2000; Sutherland, 2000).

As far as the priority of species is concerned, arthropods (freshwater or not) have traditionally received only minimal legislative protection, presumably because of their small size and distant evolutionary relationship to humans (Metrick and Weitzman, 1996), but also because of the difficulty involved in categorising them using the widespread systems of vulnerability ranking (Samways, 1994; New, 1999). The overall lack of conservation attention is evident in the disproportionately few insects listed as threatened. For example, 623 species of insects are listed as threatened in the IUCN red list while the number the threatened vertebrate species is 5624 (IUCN, 2006). This fact seems surprising given the relative abundance of insects and the ease with which they can be collected and studied. While these attributes have likely contributed to the widespread use of insects as model organisms in other facets of biological study, they have not received commensurate attention in conservation biology. Establishing conservation priorities for insect taxa is simply not as easy as the equivalent task for birds, mammals, and most plants (Martín-Piera, 1997). Thus, the design of objective and repeatable protocols for identifying and ranking insect species of high risk is a

crucial task if we are to avoid losing many of them, as well as to assign conservation priorities to certain areas within a region.

On the other hand, the designation of protected areas has historically been opportunistic or *ad hoc*, and areas have been chosen for conservation based on availability, competition with alternative land uses, scenic value and other factors, regardless of any theoretical considerations about reserve design (Pressey, 1994). As a consequence, reserves are frequently concentrated in landscapes easiest to protect and in least need of protection (Adam 1992; Barnard et al. 1998) and the coverage of biodiversity by existing protected areas is often inadequate (Prendergast *et al.*, 1999). In this context, efforts to conserve freshwater biodiversity have often been lacking or ineffective and few protected areas have been created to protect aquatic biota (Saunders *et al.*, 2002). Therefore, one of the first stages in addressing this problem is to measure the extent that existing protected areas represent biodiversity and identify elements that need further protection (Scott *et al.*, 1993).

In recognition of the problems of *ad hoc* designations, research efforts in the field of conservation planning have focused on developing of principles and tools to configure efficient and representative reserve networks. Independently of the target group, many different methods and approaches have tried to answer the questions of what should be protected, how and when. Thus, numerous priority-setting approaches have been used to identify areas of high conservation value, where conservation efforts might yield the greatest efficiency and effectiveness (Williams, 1998): *e.g.*, diversity indexes, hotspots, iterative selection and mathematical solutions, to develop reserve systems in an efficient and scientifically defensible manner (Margules and Pressey, 2000). However, the prioritisation of areas in inland waters is a task for which the performance of the different methodologies remains to be tested. Thus, we do not know if richness and rarity hotspots overlap at regional level in aquatic systems, or if traditional indices of conservation priority are efficient in terms of the amount of biodiversity they cover, or how complementary areas maximise the biodiversity in this sort of environment.

Priority-setting methods usually rely on species distribution data, but most biodiversity still remains poorly known with respect to the distribution and taxonomy of some groups. This is especially true in inland waters. There is a general paucity of inventory data for freshwater systems and nor can complete inventories in many river basins be expected within the near future (Lévêque *et al.*, 2005). Hence, we are faced with the task of identifying priority areas for conservation based on partial information. One common approach has been to use a subset of species as surrogates for all species (Gaston, 1996), *i.e.* biodiversity surrogates. These usually consist of those species in a relatively species rich single taxon thought to represent biodiversity as a whole (Noss, 1990). In this context, water beetles provide an ideal group to be used as surrogates for biodiversity (Foster, 1991; Ribera and Foster, 1993): they occur across the entire spectrum of inland waters, and include species with a wide range of ecological tolerances; they tend to be the dominant macroinvertebrates present in

many small inland waters; and their biology and distribution are well understood. In the Iberian Peninsula, water beetles are a well-known group (e.g. Ribera *et al.*, 1998; Ribera, 2000) with high species richness. They also are one of the best studied group of aquatic insects in the southeast of Iberian Peninsula (e.g. Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003; Millán *et al.*, 2006). Moreover, a number of authors have found that water beetle diversity represents wider invertebrate diversity in inland waters (Jeffries 1988; Fairchild *et al.* 2000; Bilton *et al.* 2006; Sánchez-Fernández *et al.*, in press).

In order to design and evaluate conservation policies we have to measure and evaluate biological diversity, not only from the area-selection perspective but also in terms of assessing the effects of human perturbation on the ecosystems. Although diversity has traditionally been measured only in terms of species richness, or in the form of indices combining richness with abundance, such approaches have been challenged more recently by the claim that an appropriate measure of diversity should be based on genetic or taxonomic distances between species. Measures of phylogenetic structure, based on the analysis of cladograms of particular groups of organisms, have been advocated widely for the design of protected area networks, in order to conserve sets of species that include as much 'evolutionary history' as possible (e.g. Williams *et al.*, 1991; Faith, 1992; Nee and May, 1997). However, phylogenetic and related taxonomic measures have seen limited use in environmental monitoring and assessment, where the emphasis is not on choosing species to conserve, but instead on monitoring environmental degradation or the benefits of remediation. Furthermore, the usefulness of these new biodiversity measures has been tested almost exclusively in marine environments, while there is a paucity of information regarding their use in inland waters, where these metrics might help to assess the conservation status of the ecosystems.

The goal of conservation biology is to conserve global biodiversity, from genes to ecosystems. In order to accomplish this monumental task, the field of conservation biology must be multi-disciplinary, and include different and complementary disciplines, from ecology and natural history to sociology or economics. One of the last disciplines incorporated to the conservation biology is genetics. In this context, conservation genetics provides information for prioritizing protection efforts using molecular tools. Information, such as genetic diversity, population structure, phylogenetic relationships or phylogeography, may help to guide conservation priority setting and management decisions, and be particularly useful for reporting and implementing conservation measures for those species identified as being at greatest risk. In this sense, although our knowledge of the genetic diversity and phylogeography of freshwater invertebrates has increased significantly in the last decade (e.g., Hughes *et al.*, 1996, 2003, King *et al.*, 1999, Kauwe *et al.*, 2004), information concerning invertebrate populations in saline environments is scarce and limited, despite their widely acknowledged conservation value (Foster 2000; Gómez *et al.*, 2005).

Given all the exposed above, and following the common thread of inland waters conservation in the south-east of the Iberian Peninsula, this thesis involves different

approaches and methods from the double perspective of setting priorities for organisms and areas. Firstly, the organisms are studied, water beetles in this case, so that information relative to their distribution, demography, habitat or threats to their populations, will provide one of the bases for biodiversity conservation in these systems. In this sense, several issues involving the identification of areas of high conservation value based on this information are treated, and the efficiency of different methods and criteria are weighed up. Closely related with the previous point, are studied the level of protection provided by the protected areas to the organisms and the overall biodiversity, as well as the extent to which they agree with other area sets chosen according to different alternative methodologies. Finally, the use of tools for characterising and managing the areas, and organisms or units therein, is examined. Thus, it is studied the usefulness of new diversity measures for assessin the conservation status of ecosystems, and it is investigated the singularity of the organisms below the species level.

Thus, the main objectives of this thesis are:

- To design an objective methodology for assessing the vulnerability of species and for prioritizing species and populations for conservation, especially insects, and identify the water beetle species of greatest conservation interest in southeastern Spain.

- To compare the performance of different area-selection methods, ranging from scoring procedures to complementarity-based algorithms, and based on different criteria such as richness, rarity and vulnerability.

- To identify the crucial target habitats to conserve freshwater biodiversity in the southeast of the Iberian Peninsula .

- To assess the efficiency of protected areas in the context of freshwater biodiversity conservation in a Mediterranean river basin, to examine the performance of protected areas in representing freshwater biodiversity relative to the performance of hypothetical alternative networks selected using other approaches, and explore additional areas to complement the current protected area system.

- To test the use of taxonomic distinctiveness indices in environmental monitoring in inland waters.

- To study the genetic diversity, population structure and diferentiation, phylogetic relationships and phylogeography of *Ochthebius glaber* Montes and Soler, one of the most vulnerable species from the study area.

Thesis structure

All the chapters here presented have already been published (1, 2 and 4) or are currently in press (3 and 5) to be published in international peer-reviewed journals indexed in SCI. Each chapter can be read independently from the rest of the thesis and still be understood. This was a conscious decision since if specific information is required, the reader only has to consult one paper of reduced length instead of having to go through an entire thesis. This option may cause some reiteration of many statements and arguments, but this is not necessarily bad, since the most recurrent ideas should be present all the time in the reader's mind. Thus, the thesis is based on the following papers:

- Chapter 1 Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005 Assessing conservation priorities for insects: status of water beetles in southeast Spain. *Biological Conservation*, **121**, 79–90.
- Chapter 2 Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005. Conservation of freshwater biodiversity: a comparison of different area selection methods. *Biodiversity and Conservation*, **14**, 3457-3474.
- Chapter 3 Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. in press. Effectiveness of protected area networks in representing freshwater biodiversity: the case of a Mediterranean river basin (SE Spain). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*.
- Chapter 4 Abellán P., Bilton D.T., Millán A., Sánchez-Fernández D., Ramsay P.M. in press. Can taxonomic distinctness assess anthropogenic impacts in inland waters? A case study from a Mediterranean river basin. *Freshwater Biology*, **51**, 1744-1756.
- Chapter 5 Abellán P., Gómez-Zurita J., Millán A., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Galián J., Ribera I. in press. Conservation genetics in hypersaline inland waters: mitochondrial diversity and phylogeography of an endangered Iberian beetle (Coleoptera: Hydraenidae). *Conservation Genetics*. (published on line. DOI: 10.1007/s10592-006-9150-9)

In chapter 1, an objective method for assessing the vulnerability of species and for prioritising species and populations for conservation, especially insects, is proposed. According to the designed methodology, species of water beetles from two Spanish provinces of the southeast of the Iberian Peninsula are ranked according to their conservation priority at the local, national and global levels. This assessment of species vulnerability may provide interesting insights into the threats and conservation priorities of several taxa restricted to the Iberian Peninsula, and also provide a basis for design and for comparing methods and strategies to prioritise areas for conservation.

In chapter 2, I used data records of water beetles from a province of the southeast of Spain to identify priority areas at local scale for aquatic biodiversity conservation and to evaluate the effectiveness of various area-selection methods (from ranking systems to complementarity-based algorithms) which are based on different criteria, such as richness, rarity and vulnerability. Thus, the following questions are addressed in this section: (1) what area-selection procedure provides the smallest number of sites containing all beetle species at least once? and (2) for a given area of protection, what procedure provides the greatest accumulation of conservation targets in protected areas?

In chapter 3, I investigate how well the protected areas in a Mediterranean river basin cover the distributions of water beetles, which are taken as freshwater biodiversity indicators. For this purpose, the efficiency of the current PA system and the future Natura 2000 Network in representing water beetles is assessed. Furthermore, I examine the performance of protected areas in representing freshwater biodiversity relative to the performance of hypothetical alternative networks selected using other approaches, and explore additional areas to complement the current PA system.

In chapter 4, I try to determine whether new biodiversity measures based on taxonomic distinctness and related indices are useful for the environmental monitoring of inland waters, and, specifically, whether they provide complementary information to existing measures of biodiversity. For this purpose, I use an extensive dataset for water beetles from the southeast of the Iberian Peninsula to test whether these new taxonomic diversity indices reflect changes in species diversity at different habitat types.

Finally, in chapter 5, I study the genetic variation and phylogeography of *Ochthebius glaber* Montes and Soler, one of the water beetle species identified as being of highest conservation priority. Mitochondrial DNA is used to determine the genetic diversity and phylogeographic structure within this species, and results are interpreted in the light of the species' conservation requirements. Data on the genetic diversity of these populations and their degree of geographical subdivision may help decision making in conservation management for this and other water insects adapted to saline environments.

References

- Abell R. 2002. Conservation biology for the biodiversity crisis: a freshwater follow-up. *Conservation Biology*, **16**, 1435-1437.
- Adam, P. 1992. The end of conservation on the cheap. *National Parks Journal*, **36**, 19-22.

Allan J.D., Flecker A.S. 1993. Biodiversity conservation in running waters: Identifying the major factors that threaten destruction of riverine species and ecosystems. *BioScience*, **43**, 32-43.

Balmford A., Bruner A., Cooper P., Costanza R., Farber S., Green R.E., Jenkins M., Jefferiss P., Jessamy V., Madden J., Munro K., Myers N., Naeem S., Paavola J., Rayment M., Rosendo S., Roughgarden J., Trumper K., Turner R.K. 2002. Why conserving wild nature makes economic sense. *Science*, **297**, 950-953.

Barnard, P., Brown, C.J., Jarvis, A.M. and Robertson, A. 1998. Extending the namibian protected area network to safeguard hotspots of endemism and diversity. *Biodiversity and Conservation*, **7**, 531-547.

Bilton D.T., McAbendroth L., Bedford A., Ramsay, P.M. 2006. How wide to cast the net? Cross-taxon congruence of species richness, community similarity and indicator taxa in ponds. *Freshwater Biology*, **51**, 578-590.

Dunn R.R. 2005. Modern insect extinctions, the neglected majority. *Conservation Biology*, **19**, 1030-1036.

Fairchild G.W., Faulds A.M., Matta J.F. 2000. Beetle assemblages in ponds: effects of habitat and site age. *Freshwater Biology*, **44**, 523-534.

Faith D.P. 1992. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biological Conservation*, **61**, 1-10.

Foster G.N. 1991. Conserving insects of aquatic and wetland habitats, with special reference to beetles. In: *The conservation of insects and their habitats* (eds N.M. Collins, J.A. Thomas), pp. 237-262. 15th Symposium of the Royal Entomological Society of London. Academic Press, London.

Foster G.N. 2000. The aquatic Coleoptera of British saltmarshes: extremes of generalism and specialism, In: *British Saltmarshes* (eds Sherwood BR, Gardiner BG, Harris, T), pp. 223-233. Linnean Society, London.

Franklin J.F. 1993. Preserving biodiversity: species, ecosystems, or landscapes? *Ecological Applications*, **3**, 202-205.

Gaston K.J. 1996. Biodiversity: congruence. *Progress in Physical Geography*, **20**: 105-112.

Gómez R., Hurtado I., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R. 2005. Ramblas in south-east Spain: threatened and valuable ecosystems. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **15**, 387-402.

Hughes J.M., Bunn S.E., Hurwood D.A., Choy S., Pearson R.G. 1996. Genetic differentiation among populations of *Caridina zebra* (Decapoda: Atyidae) in tropical rainforest streams, northern Australia. *Freshwater Biology*, **36**, 289–296.

Hughes J.M., Mather P.B., Hillyer M.J., Cleary C., Peckarsky B. 2003. Genetic structure in a montane mayfly *Baetis bicaudatus* (Ephemeroptera: Baetidae), from the Rocky Mountains, Colorado. *Freshwater Biology*, **48**, 2149–2162.

Humphries C.J., Fisher C.T. 1994. The loss of Banks's legacy. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, **344**, 3-8.

Humphries C.J., Williams P.H., Vane-Wright R.I. 1995. Measuring biodiversity value for conservation. *Annual review of ecology and systematics*, **26**, 93-111.

IUCN 2006. 2006 IUCN Red List of Threatened Species. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 4 May 2006.

Jeffries M. 1988. Do water beetle communities reflect the wider freshwater community? A trial run. *Newsletter Balfour-Browne Club*, **42**, 14-17.

Kauwe J.S.K., Shiozawa D.K., Evans R.P. 2004. Phylogeographic and nested clade analysis of the stonefly *Pteronarcys californica* (Plecoptera:Pteronarcyidae) in the western USA. *Journal of the North American Benthological Society*, **23**, 824–838.

Kerr J.T., Currie D.J. 1995. Effects of human activity on global extinction risk. *Conservation Biology*, **9**, 1528-1538.

King T.L., Eackles M.S., Gjetvaj B., Hoeh W.R. 1999. Intraspecific phylogeography of *Lasmigona subviridis* (Bivalvia: Unionidae): conservation implications of range discontinuity. *Molecular Ecology*, **8**, 65-78.

Kremen C., Colwell R.K., Erwin T.L., Murphy D.D., Noss R.F., Sanjayan M.A. 1993. Terrestrial arthropod assemblages: their use in conservation planning. *Conservation Biology*, **7**, 796-808.

Lévêque C., Balian E.V., Martens K. 2005. An assessment of animal species diversity in continental waters. *Hydrobiologia*, **542**, 39-67.

MacKinney M.L. 1999. High rates of extinction and threat in poorly studied taxa. *Conservation Biology*, **13**, 1273-1281.

Margules C.R., Pressey R.L. 2000. Systematic conservation planning. *Nature*, **405**, 243–253.

Martínez-Fernández J., Esteve M.A. 2005. A critical view of the desertification debate in southeastern Spain. *Land Degradation and Development*, **16**, 529-539.

Martín-Piera F. 1997. Apuntes sobre Biodiversidad y Conservación de Insectos: Dilemas, ficciones y ¿Soluciones?. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **20**, 25-55.

Master L.L., Flack S.R., Stein B.A. 1998. *Rivers of Life: Critical Watersheds for Protecting Freshwater Biodiversity*. The Nature Conservancy, Arlington, Virginia.

Médail F., Quézel P. 1999. Biodiversity hotspots in the Mediterranean basin: setting global conservation priorities. *Conservation Biology*, **13**, 1510–1513.

Metrick A., Weitzman M.L. 1996. Patterns of behavior in endangered species preservation. *Land Economics*, **72**, 1-16.

Millán A., Abellán P., Ribera I., Sánchez-Fernández D., Velasco J. 2006. The Hydradephaga (Coleoptera) of the Segura basin (SE Spain): twenty-five years studying water beetles. *Memorie della Società Entomologica Italiana*, **85**, 137-158.

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2002. *Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos y semiacuáticos de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses, Albacete.

Moreno J.L., Millán A., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R., 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.

Nee S., May R.M. 1997. Extinction and the loss of evolutionary history. *Science*, **278**, 692–694.

New T.R. 1999. Limits to Species Focusing in Insect Conservation. *Annals of the Entomological Society of America*, **92**, 853-860.

Noss R.F. 1990. Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology*, **4**, 355-364.

Prendergast JR, Quinn RM, Lawton JH. 1999. The gaps between theory and practice in selecting nature reserves. *Conservation Biology*, **13**: 484–492.

Pressey R.L. 1994. Ad hoc reservations: forward or backward steps in developing representative reserve systems. *Conservation Biology*, **8**, 662–668.

Pressey R.L., Humphries C.J., Margules C.R., Vane-Wright R.I., Williams P.H. 1993. Beyond opportunism: key principles for systematic reserve selection. *Trends in Ecology and Evolution*, **8**, 124–128.

Purvis A., Hector A. 2000. Getting the measure of biodiversity. *Nature*, **405**, 212–219.

Ribera I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, **92**, 131–150.

Ribera I., Foster G. 1993. Uso de Coleópteros acuáticos como indicadores biológicos (Coleoptera). *Elytron*, **6**, 61–75.

Ribera I., Hernando C., Aguilera P. 1998. An Annotated checklist of the Iberian water beetles (Coleoptera). *Zapateri*, **8**, 43–111.

Ricciardi A., Rasmussen J.B. 1999. Extinction rates in north American freshwater fauna. *Conservation Biology*, **13**, 1220-1222.

Samways M.J. 1994. Insects in biodiversity conservation: some perspectives and directives. *Biodiversity and Conservation*, **2**, 258-282.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Millán A., Velasco J. 2003. Los coleópteros acuáticos de la Región de Murcia. Catálogo faunístico y áreas prioritarias de conservación. Monografías SEA 10. Zaragoza.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Mellado A., Velasco J., Millán A. En prensa. Are water beetles good indicators of biodiversity in Mediterranean aquatic ecosystems? The case of the Segura river basin (SE Spain). *Biodiversity and Conservation*.

Saunders D., Meeuwig J., Vincent A.J. 2002. Freshwater protected areas: Strategies for conservation. *Conservation Biology*, **16**, 30–41.

Scott J.M., Davis F., Csuti B., Noss R., Butterfield B., Groves C., Anderson H., Caicco S., Derchia F., Edwards T.C., Ulliman J., Wright R.G. 1993. Gap analysis: a geographic approach to protection of biological diversity. *Wildlife Monographs*, **123**, 1-41.

Stork N.E. 1994. Inventories of biodiversity: more than a question of numbers. In P.L. Forey, C.J. Humphries, R.I. Vane-Wright (eds.) *Systematics and conservation evaluation*. Oxford University Press, Oxford, UK. pp. 81-100.

Sutherland W.J. 2000. *The conservation Handbook. Research, management and policy*. Blackwell Science. Cambridge.

Thomas J.A., Morris M.G. 1994. Patterns, mechanisms and rates of extinction among invertebrates in the United Kingdom. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, **344**, 47-54.

United Nations Environment Programme (2005) *Convention on biological diversity* <http://www.biodiv.org> (accessed 18 August 2005).

WCMC 1998. *Freshwater Biodiversity: a preliminary global assessment*. World Conservation Press, Cambridge.

Williams P.H. 1998. Key sites for conservation: area-selection methods for biodiversity. In G. M. Mace, A. Balmford, and J. R. Ginsberg, editors. *Conservation in a changing world*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom. pp 211–250.

Williams P.H., Humphries C.J., Vane-Wright R.I. 1991. Measuring biodiversity: taxonomic relatedness for conservation priorities. *Australian Systematic Botany*, **4**, 665–679.

Wilson E.O. 1988. The current state of biological diversity. In E.O. Wilson & M. P. Peters (eds.) *Biodiversity*. National Academy Press, Washington DC, USA. pp. 3-18.

Chapter 1

Assessing conservation priorities for insects: status of water beetles in southeast Spain

Abstract

We propose an objective method for assessing the vulnerability of species and for prioritising species and populations for conservation, especially insects. Species of water beetles from two Spanish provinces of the southeast of the Iberian Peninsula were ranked according to their conservation priority at the local, national and global levels taking into consideration a set of six variables: general distribution, endemism, rarity, persistence, habitat rarity and habitat loss. Each variable was categorised into four ranks (0-3) of increasing risk for survival. *Ochthebius glaber*, *O. irenae*, *O montesi*, *O. albaceticus* and *Hydraena mecai* were seen to be the most vulnerable, for which reason we propose they should be included in the national red list. Furthermore, *Ochthebius glaber*, *O. irenae* and *O montesi* are proposed for inclusion in the IUCN red list as “Vulnerable”. These species are Iberian endemisms, with geographic ranges restricted to the southeast, and are threatened by habitat loss. Effective protection of these species requires measures directed at the conservation of their habitats. Crucial target habitats for protection in the southeast of the Iberian Peninsula include freshwater streams at medium altitudes, saline streams and endorreic lagoons.

INTRODUCTION

The process of setting priorities for conservation, particularly at species level, has largely focused on the listing and ranking of species based on their level of threat or likelihood of extinction. A variety of methods has been developed for risk assessment, from subjective assessment and rules of thumb to analytical and simulation models.

In moving from subjective methods to simulation models, the number of taxa which can potentially be included decreases because the data requirements increase steeply (Gaston *et al.*, 2002). Qualitative methods are simpler and less reliant on difficult-to-gather data, but suffer from a nearly complete reliance on expert opinion and present difficulties when assigning species to distinct categories of risk (Mace and Lande, 1991). On the other hand, analytical and simulation models tend to demand many data that are not readily available and may be difficult to collect, especially for some groups of invertebrates such as insects. Quantitative or semi-quantitative methods based on a few relatively easy measured variables (e.g. Cofré and Marquet, 1999; Andreone and Luiselli, 2000) resolve some of these limitations and provide an objective and repeatable assessment.

On a global scale, IUCN (2001) provides a rigorous range of categories which attempts to classify species according to their likelihood of extinction within a given period. These categories have been widely accepted throughout the world and form the basis of the IUCN Red List of Threatened Animals. However, for many groups most species would have to be classified as data-deficient and in the case of some invertebrates it is inconceivable that there will ever be sufficient data for a sensible classification (Sutherland, 2000). Therefore, it is still necessary to draw up protocols for biological diversity conservation, especially for invertebrates.

The Mediterranean Basin is considered as one of Earth's hotspot areas for biodiversity (Mittermeier *et al.*, 1998; Myers *et al.*, 2000). Of particular interest in this context is the southeast Iberian Peninsula, the most arid region of Europe, which has a rich and endemic biota (Médail and Quézel, 1997) and in which anthropogenic threats to biodiversity are increasing. Because the scarcity of surface water is a distinguishing feature of the region, aquatic ecosystems, some of which are particularly rich in rare or endemic species, are especially important. Furthermore, most of these habitats are themselves of European significance and some are unique to this region. Aquatic beetles have a high species richness in the Mediterranean region and they inhabit virtually every kind of fresh- and brackish water habitat, from the smallest ponds to lagoons and wetlands and from streams to irrigation ditches and reservoirs. Furthermore, water beetles are a well known group of insects in the Iberian Peninsula (e.g. Ribera *et al.*, 1998; Ribera, 2000) and are one of the best known groups of insects in southeast Spain (e.g. Delgado *et al.*, 1992; Millán *et al.*, 1996; Delgado y Soler, 1997; Millán *et al.*, 2001 a and b; Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003). However, there is a lack of overall knowledge as regards their conservation status (Ribera, 2000). A first attempt to determine the vulnerability status of water beetles species was made by Sánchez-Fernández *et al.* (2003) for Murcia province (Spain).

In this paper, we propose a categorization system to rank species of insects according to their conservation priority or vulnerability. We assess the conservation status of water beetles from two Spanish provinces of the southeast Iberian Peninsula. The assessment was carried out at the local level for all species and at the national and global levels for the endemic species restricted to the southeast of the Iberian Peninsula.

MATERIAL AND METHODS

Study area and data set

We assessed the conservation priorities of the water beetles from two Spanish provinces located in the southeast of the Iberian Peninsula: Murcia and Albacete (Figure 1).

The families in which a substantial proportion of the species are linked with water in any of their developmental stages were included. Well established subspecies were also considered. The nomenclature used follows Ribera *et al.* (1998). In order to minimize uncertainty, species of the families Sphaeriusidae, Chrysomelidae, Curculionidae, Georissidae, Scirtidae, Limnichidae and Heteroceridae were not included, owing to insufficient knowledge of their distribution and/or taxonomy.



Figure 1. Location map of the study area (Albacete and Murcia provinces)

Data on species were obtained from the literature and from fieldwork. As far as possible, all published and unpublished data presently known have been included. Field data were collected between 1981 and 2002 at 337 sites (227 and 110 localities in Murcia and Albacete provinces, respectively). Most sites were sampled at least two times. The sites selected represent the diversity of water body types present within the study area. Following Millán *et al.* (2002), these sampling sites were associated with habitat types according to environmental and ecological parameters. Eighteen main types of habitat were distinguished (Table 1). In all, 66 of the 144 10 x 10 km U.T.M. grid cells of the Murcia province, and 51 of the 116 10 x 10 km U.T.M. grid cells of the Albacete province, were covered, comprising, respectively, 46% and the 32% of the total surface.

Based on the literature records and the specimens examined, a database was constructed that included species identity, collecting location, collecting date, collector, and number of specimens. In all, more than 6500 available records (species/site/date records) of aquatic beetles were used in the analysis (over 3,000 records in Murcia province and over 3500 records in Albacete province). A total of 226 species and subspecies of water beetles from the study area (209 from Albacete and 145 from Murcia) were included in the assessment. Of these, 32 are endemic to the Iberian Peninsula, of which 15 are restricted to the southeast (all the Baetic cordilleras, including Sierra de Alcaraz in Albacete, and some places in the southwest of the Iberian Peninsula).

Table 1. Habitat types studied.

Code	Habitat types
1	Headwater streams
2	Middle reach streams
3	Middle courses of rivers
4	Rivers influenced by dams
5	Eutrophic streams
6	Saline streams
7	Springs
8	Irrigation channels
9	Reservoirs
10	Irrigation pools
11	Karstic lagoons
12	Endorreic lagoons
13	Pools, ponds and other wetlands
14	Continental salt-pans
15	Channeled rivers
16	Rice-fields
17	Coastal salt-pans
18	Rocks pools

Assessment of species priorities for conservation

A system to rank species according to their conservation priority or vulnerability at local, national and global scale was developed. The ranking system was based on six variables (species and habitat attributes) that take values from 0 to 3 (Table 2). The overall vulnerability score (VS) for each species was the sum of all scores for each variable, giving a total value from 0 to 18.

Species were then grouped into four vulnerability categories according to their vulnerability scores at each of the three levels (local, national and global): *low* (0-4); *moderate* (5-8); *high* (9-13); and *very high* (14-18). Species assigned to categories *high* and *very high* were recognized as high-priority species.

a) Assessment at local level:

The local level refers to sub-national unit, such as province or other similar jurisdiction (Spanish provinces in our study). The variables included in the analysis (Table 2) were:

i. General distribution (GD)

Five types of general distribution range were distinguished, in accordance with Ribera *et al.* (1998). The highest scores were given to species with a more restricted range. The different distribution ranges, from largest to smallest, were as follows:

- a. Trans-Iberian species: present in Europe north of the Pyrenees, the Iberian Peninsula, and north Africa.
- b. Southern species: present in north Africa and in some areas of the Iberian Peninsula, but not extending north of the Pyrenees.
- c. Northern species: present in Europe north of the Pyrenees and in some areas of the Iberian Peninsula, but not in north Africa.
- d. Eastern species: present in some areas in the Iberian Peninsula and in some areas in the eastern Mediterranean region, but not in Europe north of the Pyrenees.
- e. Iberian endemic species: present only in the Iberian Peninsula, including the north face of the Pyrenees (and some areas of the extreme south of France in some cases).

Table 2. Variables used in the species vulnerability analysis and their rank of values.

Variables	Score			
	0	1	2	3
GD	Trans-Iberian species	Northern and southern species	Eastern species	Iberian endemic species
E	No strict	General	Southeast	Exclusive
R (local or national/global rarity)	None of the following criteria: - Small range size (two 10 x 10 UTM grid cell or two provinces) - Low abundance (3 or less individuals at any time) - High habitat specificity (maximum of two habitat types)	One of the criteria previously listed	Any two of the criteria previously listed	All the criteria previously listed
P	Last capture between 1998 and 2002	Last capture between 1992 and 1997	Last capture between 1986 and 1991	Last capture between 1981 and 1985
HR	Rarity values of habitat types (mean) between 0 and 0.75	Rarity values of habitat types (mean) between >0.75 - 1.50	Rarity values of habitat types (mean) between >1.50 - 2.25	Rarity values of habitat types (mean) between >2.25 - 3
HL	Vulnerability values of habitat types (mean) between 0 and 1	Vulnerability values of habitat types (mean) between >1 and 2	Vulnerability values of habitat types (mean) between >2 and 3	Vulnerability values of habitat types (mean) between >3 and 4

^a Symbols: GD, General distribution; E, Endemicity; R, Rarity; P, Persistence; HR, Habitat rarity; HL, Habitat loss.

ii. Endemicity (E)

Five types of endemism were distinguished for Iberian endemic species following Ribera *et al.* (1998) and Millán *et al.* (2002). Similarly, the highest scores were given to species with a more restricted geographic range. The types of endemism were:

- a. Not strictly: present in Iberian Peninsula and the north face of the Pyrenees, and/or some areas in the extreme south of France.
- b. General: present only in the Iberian Peninsula but with widespread distribution.
- c. Southeast Iberia: present only in the Tertiary basin of the Guadalquivir river, with all the Baetic cordilleras (including Sierra de Alcaraz in Albacete), the Baetic and Rif internal zones, and the southwest of the Iberian Peninsula in some cases.

d. Exclusive: present only in one of the two studied provinces (Albacete or Murcia province).

iii. Rarity (R)

As Gaston (1994) pointed out, rarity, whether expressed in terms of abundance or occupancy, is undoubtedly a major determinant of a species' risk of extinction at the scale at which it was recognized as rare. We performed a rarity analysis based on the scheme proposed by Rabinowitz (1981), which considers three different types of rarity: rarity of occupancy, rarity of individuals within areas (density rarity), and habitat specificity. In general, species with a restricted geographic range, with a low abundance and which are associated with a narrow spectrum of habitats are more vulnerable to extinction than widely distributed species, with high abundance and habitat generalist.

The local occupancy of the species were quantified as the number of 10 x 10 UTM grid cells occupied. Species were scored as having "small area of occupancy" when they occurred in a maximum of two grid cells. The local abundance of the species was evaluated as number of individuals recorded per sample. Species were scored as having "low abundance" when no more than three individuals per sample were found. The degree of habitat specificity was evaluated on the basis of the number of habitat types in which a species appears. Species were scored as having "high habitat specificity" when they occurred in a maximum of two habitat types.

iv. Persistence (P)

The persistence of a species was evaluated as its continuity in time in the study area and determined from the date of the last record (the last capture in the study area). The period of time covered by our data was divided into four intervals of five years each. As species not collected in recent years could be very rare or be in decline, higher scores were given to species which were only collected in older intervals. This variable may offer more information regarding the vulnerability of a particular species.

v. Habitat Rarity (HR)

Some habitat types are rarer than others, and so species that depend on these scarce habitats will be more at risk. Thus, habitat rarity was considered because species restricted to locally scarce habitats are more vulnerable to local extinction. The rarity of habitats was evaluated on the basis of the number of 10 x 10 UTM grid cells of the study area in which a habitat type occurs, taking values from 0 to 3: (0) >10 grid cells; (1) 5-10 grid cells; (2) 2-4 grid cells; (3) 1 grid cell (Table 3).

Table 3. Rarity values of habitat types in the study area.

Code	Habitat types	Province: Albacete		Murcia	
		N # grid cells	Rarity value	N # grid cells	Rarity value
1	Headwater streams	21	0	6	1
2	Middle reach streams	21	0	18	0
3	Middle courses of rivers	9	1	6	1
4	Rivers influenced by dams	7	1	4	2
5	Eutrophic streams	2	2	6	1
6	Saline streams	4	2	25	0
7	Springs	13	0	13	0
8	Irrigation channels	2	2	5	1
9	Reservoirs	4	2	5	1
10	Irrigation pools	3	2	6	1
11	Karstic lagoons	4	2	–	–
12	Endorreic lagoons	7	1	–	–
13	Pools, ponds and other wetlands	4	2	24	0
14	Continental salt-pans	1	3	5	1
15	Channeled rivers	–	–	4	2
16	Rice-fields	–	–	2	2
17	Coastal salt-pans	–	–	5	1
18	Rocks pools	–	–	1	3

After scoring habitat types according to their rarity, the next step was to score species according to habitat types in which they occurred. For each species, habitat rarity score was taken as the mean value of all the habitat types in which it occurred (sum of scores divided by the number of habitat types). These values were aggregated in four categories, scored from 0 to 3. The highest scores were given to species detected in the rarest habitat types.

As habitat rarity is of little importance in habitat generalist species, only species that occur in three or fewer habitat types were considered. A score of 0 was given directly to species that occur in more than three habitat types.

vi. Habitat Loss (HL)

Species that were once widespread can become rare or vulnerable because of habitat loss or fragmentation, for which the degree of anthropic influence upon species was also included in the analysis. For each species, habitat vulnerability to loss or degradation was evaluated from the impact on habitat types in which given species occur. The impacts considered for this study were grouped into four main types:

A. Infrastructures: Dredging and stream channelisation, drainage, urbanization and other human developments.

B. Agriculture: impact of agricultural activity on aquatic ecosystems such as clearing land for crops, water extraction for irrigation, non-point source pollution, etc.

C. Pollution: wastewater and industrial wastes.

D. Other impacts: Recreational use and tourism, exotic species, grazing and other human disturbances.

For each habitat type a vulnerability value was assigned based on the number of impacts types affecting more than half of the sampling sites within the habitat type. This assessment of sampling site impact was based on a review of the literature and fieldwork. The scores were as follows: (0) no impact; (1) one type of impact; (2) two types of impact; (3) three types of impact; (4) four types of impact. Some habitat types (rivers influenced by dams, eutrophic streams, irrigation channels, reservoirs, irrigation pools and channeled rivers) were not considered because they are human-made systems, and so cannot be considered as being in regression or threatened (Table 4).

For each species, the habitat loss value (HL) was calculated in the same way as the habitat rarity value (sum of scores divided by the number of habitat types). The values ranged between 0 and 4 points which were aggregated into four categories, scored from 0 to 3. The highest scores were given to species found in habitat types suffering greatest impact. Again, a score of 0 was given directly to species that occurred in more than three habitat types.

Table 4. Vulnerability values of habitat types in the study area. Only habitat types vulnerable to anthropic impacts were included (see text).

Code	Habitat types	Province: Albacete		Murcia	
		Impacts ^a	Vulnerability value	Impacts ^a	Vulnerability value
1	Headwater streams	O	1	A	1
2	Middle reach streams	A, P	2	I, A, O	3
3	Middle course of rivers	I, A, P, O	4	I, A, P, O	4
6	Saline streams	I, A, P	3	I, A, P, O	4
7	Springs	I, A	2	A	1
11	Karstic lagoons	A	1	–	–
12	Endorreic lagoons	A, P, O	3	–	–
13	Pools, ponds and other wetlands	A, O	2	A, O	2
14	Continental salt-pans	O	1	O	1
16	Rice-fields	–	–	I, O	2
17	Coastal salt-pans	–	–	O	1
18	Rocks pools	–	–	O	1

^a Symbols: I: infrastructures; A: Agriculture; P: Pollution; O: Others

b) Assessment at national and global levels

For national and global assessment, we only took into account endemic species restricted to southeast of the Iberian Peninsula (and some areas of the southwest in some cases) found in the study area because they are potentially the most threatened.

At both levels, the variables considered were the same as those used for the local scale, but some were modified according to national and global contexts. Consequently, the data used was referred to the global population of the taxa. The basic references used to determine the species distribution were taken from the Iberian lists by provinces (Montes & Soler, 1986; Rico *et al.*, 1990; Valladares & Montes, 1991; Rico, 1997; Valladares & Ribera, 1999), and from specific papers (see Table 5).

Table 5. Data and literature sources used to define scores of rarity variable (number of provinces, relative abundance and habitat type preferences) and persistence variable (last record) for the Iberian endemic species found in the study area and restricted to southeast of the Iberian Peninsula.

Taxon	N # provinces	Relative abundance over 3	Habitat type preferences ^b	Last record	Sources ^c
<i>Deronectes depresicollis</i> (Rosenhauer, 1856)	5	Yes	1, 2	2003	1 *
<i>Hydrochus nooreinus</i> Henegouwen & Sáinz-Cantero, 1999	5	Yes	1, 7	2002	2, 3, 4 *
<i>Hydraena manfredjaechi</i> Delgado & Soler, 1991	2	Yes	1, 2	1997	5, 6 *
<i>Hydraena bolivari</i> d'Orchymont, 1936	4	Yes	1, 7	1997	7, 8, 9, 10, 11 *
<i>Hydraena mecai</i> Millán & Aguilera, 2000 ^a	1	Non	1	1998	12 *
<i>Hydraena servilia</i> d'Orchymont, 1936	4	Yes	1, 2	2002	5, 7, 13 *
<i>Limnebius hispanicus</i> d'Orchymont, 1941	6	Yes	7	1998	3, 8, 14 *
<i>Limnebius millani</i> Ribera & Hernando, 1998 ^a	1	Yes	1, 7	2002	15 *
<i>Ochthebius bellieri</i> Kuwert, 1887	2	Yes	1, 2	1997	8, 11, 16, 17 *
<i>Ochthebius irenae</i> Ribera & Millán, 1999 ^a	1	Yes	12	2002	18, 19 *
<i>Ochthebius albacetus</i> Ferro, 1984	2	Yes	1	1991	20, 21 *
<i>Ochthebius glaber</i> Montes & Soler, 1988	5	Yes	6	2003	19, 21, 22, 23 *
<i>Ochthebius semotus</i> d'Orchymont, 1942	3	Yes	2	2002	21, 24 *
<i>Ochthebius montesi</i> Ferro, 1984	4	Yes	6	2003	3, 20, 21, 25 *
<i>Ochthebius tudmirensis</i> Jäch, 1997	4	Yes	1, 7, 12, 14	2003	26 *

^a Endemic specie to Albacete province.

^b Habitat types in which specie occurred: number codes as in Table 1.

^c Literature cited: 1, Fery & Brancucci, 1997; 2, Berge Henegouwen & Sáiz-Cantero, 1992; 3, Sáiz-Cantero & Aceituno-Castro, 1997; 4, Ribera *et al.*, 1999; 5, Delgado *et al.*, 1992; 6, Delgado & Soler, 1991; 7, d'Orchymont, 1936; 8, Balfour-Browne, 1978; 9, Lagar & Fresneda, 1990; 10, Sáiz-Cantero & Alba-Tercedor, 1991; 11, Ribera *et al.*, 1997; 12, Millán & Aguilera, 2000; 13, Castro, 1999; 14, d'Orchymont, 1941; 15, Ribera & Hernando, 1998; 16, Jäch, 1990; 17, Valladares & Montes, 1999; 18, Ribera & Millán, 1999; 19, Millán *et al.*, 2002; 20, Ferro, 1984; 21, Delgado & Soler, 1997; 22, Montes & Soler, 1988; 23, Castro, 1997; 24, Jäch, 2001; 25, Sáiz-Cantero, 1997; 26, Jäch, 1997; * Field data.

General distribution (GD) and Type of endemism (TE) defined at local level were adopted unaltered, and species were scored in the same way.

Rarity (R) was applied to the global population of the taxa and also included the rarity of occupancy, rarity of individuals within areas, and habitat specificity. The area of occupancy of the species were quantified as sub-national units occupied (Spanish provinces). Species were scored as being of small area of occupancy when they occurred in a maximum of two provinces (10 x 10 grid cells were not used because this

kind of information it is not available for aquatic beetles in the Iberian peninsula). The abundance of a species was evaluated as the number of individuals included in each bibliographic citation or sample record. Species were scored as low abundance when no more than three individuals were found. The degree of habitat specificity was evaluated on the basis of the number of habitat types in which a species occurs. Species were scored as having high habitat specificity when they occurred in a maximum of two habitat types.

Persistence (P) was determined from the date of the last record (including bibliographic records) of each species (referring now to global population). Similarly, we considered the interval to which the last species record belongs.

Habitat Rarity (HR) was evaluated according to a habitat occurrence at national and global levels, and based on approximate calculations from the literature and the authors' experience. The habitat scores take values ranging from 0 to 3: (0) very common; (1) moderately common; (2) moderately rare; (3) extremely rare. Similarly, for each species, the habitat rarity score was the mean of all habitat type values in which it occurred. These values were grouped into four categories, scored from 0 to 3.

Similarly, Habitat Loss (HL) was evaluated according to the number of different types of impact on the habitat. The impacts considered were the same as for local ranking but according to national and global contexts.

RESULTS

Species vulnerability at local scale

All 209 species of Albacete province and all 145 species of Murcia province were ranked in descending order of conservation priority at local level (Appendixes 1 and 2). Of the 209 species of water beetles that were identified in Albacete province, none was identified as being of *very high* vulnerability at local level. Ten species (4.8%) were identified as of *high* vulnerability, 44 taxa (21%) as *moderate*, and the 155 remaining species (74.2%) were assigned *low* vulnerability status. Table 6 shows the high-priority species from Albacete province (vulnerability score of 9 or above), all belonging to the family Hydraenidae.

Similarly, of the 145 species of water beetles found in Murcia province, none was included in the category of *very high* vulnerability at local level. Twelve taxa (8.3%) were identified as being of *high* vulnerability, 35 species (24.1%) as *moderate*, and the 98 remaining species (67.6%) were assigned *low* vulnerability status. The high-priority species in Murcia province are presented in Table 7. The families with the larger number of high-priority species were Elmidae and Hydraenidae with three species each, followed by Hydrochidae and Helophoridae, with two species each.

The rarest habitat type in Albacete province was continental salt-pans, while the most vulnerable were the middle reach streams, following by saline streams and endorreic lagoons. Rock pools were the rarest habitat type in Murcia province, while middle reach streams and saline streams were the most vulnerable habitats (Tables 3 and 4).

Table 6. Species from Albacete province with high priority for conservation at the local level (vulnerability score of 9 or above), and scores of variables^a used in the vulnerability assessment.

Taxon	GD	E	R	P	HR	HL	VS
<i>Ochthebius irenae</i> Ribera & Millán, 1999	3	3	2	0	1	1	10
<i>Ochthebius albacetus</i> Ferro, 1984	3	2	3	2	0	0	10
<i>Ochthebius glaber</i> Montes & Soler, 1988	3	2	2	0	1	2	10
<i>Hydraena afussa</i> d'Orchymont, 1936	3	1	3	1	0	1	9
<i>Hydraena bolivari</i> d'Orchymont, 1936	3	2	2	1	0	1	9
<i>Hydraena mecai</i> Millán & Aguilera, 2000	3	3	3	0	0	0	9
<i>Limnebius hispanicus</i> d'Orchymont, 1941	3	2	3	0	0	1	9
<i>Limnebius millani</i> Ribera & Hernando, 1998	3	3	2	0	0	1	9
<i>Ochthebius bellieri</i> Kuwert, 1887	3	2	2	1	0	1	9
<i>Ochthebius semotus</i> d'Orchymont, 1942	3	2	3	0	0	1	9

^aSymbols: GD, General distribution; E, Endemicity; R, Rarity; P, Persistence; HR, Habitat rarity; HL, Habitat loss; VS: Vulnerability score.

Table 7. Species from Murcia province with high priority for conservation at the local level (vulnerability score of 9 or above), and scores of variables used in the vulnerability assessment^a

Taxon	GD	E	R	P	HR	HL	VS
<i>Oulimnius tuberculatus perezii</i> Crotch in Sharp, 1872	3	0	3	3	1	3	13
<i>Hydraena exasperata</i> d'Orchymont, 1935	3	1	3	3	0	2	12
<i>Nebrioporus b. cazorlensis</i> (Lagar, Fresneda & Hernando, 1987)	3	1	3	3	1	0	11
<i>Ochthebius montesi</i> Ferro, 1984	3	2	2	1	0	3	11
<i>Ochthebius glaber</i> Montes & Soler, 1988	3	2	1	0	0	3	9
<i>Hydrochus nooreinus</i> Henegouwen & Sáinz-Cantero, 1999	3	2	3	0	1	0	9
<i>Elmis aenea</i> (P.H. Müller, 1806)	1	0	3	3	0	2	9
<i>Helophorus brevipalpis</i> Bedel, 1881	1	0	3	3	0	2	9
<i>Hydrochara flavipes</i> (Steven, 1808)	0	0	3	3	2	1	9
<i>Helophorus alternans</i> Gené, 1836	0	0	3	3	0	3	9
<i>Limnius opacus</i> P.H. Müller, 1806	0	0	2	3	1	3	9

^aSymbols: GD, General distribution; E, Endemicity; R, Rarity; P, Persistence; HR, Habitat rarity; HL, Habitat loss; VS: Vulnerability score.

Species vulnerability at national and global scales

The national and global scores for the six variables studied in the fifteen species restricted to the southeast of the Iberian Peninsula found in the study area are presented in Tables 8 and 9. These species were principally found in three different habitat types: headwaters, middle reach streams and springs. Only a few species were located in saline streams and endorreic lagoons. As streams and springs are very common habitats in national and global terms, the species recorded in these habitats were scored 0 in Habitat Rarity (HR) at both scales. However, saline streams are rare ecosystems in the Iberian Peninsula and extremely rare in global terms (Moreno *et al.*, 1996, 1997). Thus, species that occurred in saline streams were scored 2 and 3 in Habitat Rarity at national and global levels, respectively. Similarly, species found in endorreic lagoons were scored 2 and 3 in Rarity of Habitat at the national and global levels, respectively, because this habitat type is rare or extremely rare at these levels.

Table 8. Scores of the variables^a used in the vulnerability analysis at national level for the species restricted to the southeast of the Iberian Peninsula found in the study area.

Taxon	GD	E	R	P	HR	HL	VS	Category
<i>Ochthebius irenae</i>	3	3	2	0	2	2	12	High
<i>Ochthebius glaber</i>	3	2	1	0	2	3	11	High
<i>Ochthebius montesi</i>	3	2	1	0	2	3	11	High
<i>Ochthebius albacetinus</i>	3	2	2	2	0	0	9	High
<i>Hydraena mecai</i>	3	3	3	0	0	0	9	High
<i>Limnebius millani</i>	3	3	2	0	0	0	8	Moderate
<i>Ochthebius bellieri</i>	3	2	2	1	0	0	8	Moderate
<i>Hydraena manfredjaechi</i>	3	2	2	1	0	0	8	Moderate
<i>Limnebius hispanicus</i>	3	2	2	0	0	0	7	Moderate
<i>Hydraena bolivari</i>	3	2	1	1	0	0	7	Moderate
<i>Ochthebius semotus</i>	3	2	1	0	0	0	6	Moderate
<i>Deronectes depresicollis</i>	3	2	1	0	0	0	6	Moderate
<i>Hydrochus nooreinus</i>	3	2	1	0	0	0	6	Moderate
<i>Hydraena servilia</i>	3	2	1	0	0	0	6	Moderate
<i>Ochthebius tudmirensis</i>	3	2	0	0	0	0	5	Moderate

^a Symbols: GD, General distribution; E, Endemicity; R, Rarity; P, Persistence; HR, Habitat rarity; HL, Habitat loss; VS: Vulnerability score.

For the variable Habitat Loss (HL), streams and springs were considered as less vulnerable habitats in both national and global contexts. Consequently, species that occurred in them were scored 0 at both levels. However, species located in saline streams were scored 3 at both national and global levels because saline streams are heavily impacted habitats in the Iberian Peninsula and in the Mediterranean region (Gagneur, 1987; Vidal-Abarca *et al.*, 2000). Similarly, species found in endorreic lagoons were scored 2 in Habitat Loss at national and global levels because this habitat type is also impacted at both levels (Green and Anstey, 1992; Millán *et al.*, 2001 a and b).

Table 9. Scores of the variables^a used in the vulnerability analysis at global level for the species restricted to the southeast of the Iberian Peninsula found in the study area.

Taxon	GD	E	R	P	HR	HL	VS	Category
<i>Ochthebius irenae</i>	3	3	2	0	3	2	13	High
<i>Ochthebius glaber</i>	3	2	1	0	3	3	12	High
<i>Ochthebius montesi</i>	3	2	1	0	3	3	12	High
<i>Ochthebius albaceticus</i>	3	2	2	2	0	0	9	High
<i>Hydraena mecai</i>	3	3	3	0	0	0	9	High
<i>Limnebius millani</i>	3	3	2	0	0	0	8	Moderate
<i>Ochthebius bellieri</i>	3	2	2	1	0	0	8	Moderate
<i>Hydraena manfredjaechi</i>	3	2	2	1	0	0	8	Moderate
<i>Limnebius hispanicus</i>	3	2	2	0	0	0	7	Moderate
<i>Hydraena bolivari</i>	3	2	1	1	0	0	7	Moderate
<i>Ochthebius semotus</i>	3	2	1	0	0	0	6	Moderate
<i>Deronectes depressicollis</i>	3	2	1	0	0	0	6	Moderate
<i>Hydrochus nooreinus</i>	3	2	1	0	0	0	6	Moderate
<i>Hydraena servilia</i>	3	2	1	0	0	0	6	Moderate
<i>Ochthebius tudmirensis</i>	3	2	0	0	0	0	5	Moderate

^aSymbols: GD, General distribution; E, Endemicity; R, Rarity; P, Persistence; HR, Habitat rarity; HL, Habitat loss; VS: Vulnerability score.

At national level (Table 8), five species, all belonging to the family Hydraenidae, were included in the category of *high* vulnerability: *Ochthebius irenae*, *O. glaber*, *O. montesi*, *O. albaceticus* and *Hydraena mecai*. Similarly, at global level (Table 9), the same five species were included in the category of *high* vulnerability. The ten remaining species were assigned to the *moderate* vulnerability group at both national and global levels. The highest vulnerability scores were given to *O. irenae*, *O. glaber* and *O. montesi*, which should be considered as especially vulnerable, because of their habitat rarity, habitat loss and restricted distribution (southeast Iberian endemic species).

Among the high-priority species at the national and global levels, two groups of vulnerable species could be distinguished. A first group included those taxa that are known from several populations and which occur in habitats under immediate threat. This is the case of *O. glaber*, *O. irenae* and *O. montesi*. A second group included very rare taxa that are known from one or few localities (less than 5) which occur in habitats which are not under immediate threat. This is the case of *H. mecai* and *O. albaceticus*.

DISCUSSION

The system for ranking species developed herein is certainly arbitrary. However, at some point all criteria for assessing conservation priorities and for assigning scores to

these criteria are also arbitrary (e. g. Millsap *et al.*, 1990; Mace and Lande, 1991; Cofré and Marquet, 1999; IUCN, 2001). Although many variables have been proposed for assessing the conservation status of species (see Munton, 1987; Burgman *et al.*, 1993), restricted distribution, habitat specificity, demographic rarity, persistence, together with fragility and rarity of the habitat, may be a good indication of the threat to less conspicuous groups such as the water beetles. These variables were chosen because of our experience with this group of insects but also based on a review of methods designed by other authors (e.g. Millsap *et al.*, 1990; Mace and Lande, 1991; Cofré and Marquet, 1999; Andreone and Luiselli, 2000).

A potential problem with our type of approach has been the lack of independence between variables in some cases (especially between “local abundance” and “habitat specificity”), so that species with only one known population in the study area will necessarily have high habitat specificity. Similarly, few data on persistence (especially) and habitat rarity are available at national or global levels, and therefore, the corresponding results are not so valid as those referring to local level. Consequently, these results may be taken as a starting point for additional research.

Although the theoretical vulnerability scores range between 0 and 18, all seem to indicate that species with score close to 18 are not likely to be found. Thus, we did not find species of very high vulnerability (over 13) in the study area. On the other hand, scores of between 9 and 13 seem to be a more realistic threshold value for separating the most vulnerable species.

All high priority species at local level in Albacete province are rare on national and global scales. Thus, all ten species are endemic to the Iberian Peninsula and most are also restricted to the southeast. A great number of these species occurs in headwater streams and springs of moderate altitude, which are relatively unaltered habitats in this region. In contrast, in Murcia province, most of the high priority species are common species at the national level and some are widely distributed throughout the Iberian Peninsula (Ribera *et al.*, 1998) despite they are rare species locally. This is the case of the species of the Elmidae family (especially *Elmis aenea*) and other species, such as *Hydrochara flavipes*, *Helophorus alternans* or *H. brevipalpis*, which are common or very abundant in Iberian and which also have a high dispersal and colonisation potential. These results might be due to the rarity and vulnerability of their habitats in this province. Thus, these species usually occur in head water streams or unaltered sections of middle reach streams and rivers, which are the most vulnerable and scarce habitats in Murcia owing to the strong human pressure and the arid characteristics of this region. Therefore, the indicator potential of these species for habitat protection at local level should be given more importance than their doubtful inclusion in threatened species lists.

According to the assessment carried out at national and global levels, all high priority species once again belong to the Hydraenidae family. Five out of 15 species endemic to the southeast of the Iberian Peninsula may be considered endangered at the national and global levels: *O. irenae*, *O. glaber*, *O. albacetinus*, *H. mecai* and *O.*

montesi. These, therefore, are the species towards which conservation efforts should be directed most urgently. In Spain, this need for legal protection can only be realized if these species are included in the National Catalogue of Threatened Species, in the category of “sensitive to habitat alteration” and in the Appendix II of the Habitat Directive (Directive 92/43/CEE) “Animal and plant species of community interest whose conservation requires the designation of special areas of conservation”.

Among the species of high vulnerability, all but two (*H. mecai* and *O. albacetinus*) are strong candidates for inclusion in the IUCN red list. Although *H. mecai* is a scarce and, apparently very localized species, it has recently been discovered in one locality of the Sierra de Alcaraz, in Albacete province (Millán and Aguilera, 2000) but there is still insufficient information available about its distribution. On the other hand, *O. albacetinus* is known from few localities in the Sierra de Segura and Sierra de Alcaraz, in the provinces of Albacete and Jaén. Thus, the area of occupancy of this species is very small. However, *O. albacetinus* occurs in headwater streams, which is a common and relatively unaltered habitat in the distribution area of this specie.

O. glaber, *O. irenae*, and *O. montesi*, on the other hand, also have restricted ranges, but they principally colonize rare threatened ecosystems (hypersaline streams, endorreic lagoons, and hyposaline coastal streams, respectively) and, therefore, their inclusion on the IUCN red list seems fully justified. We propose its inclusion in the category “Vulnerable” under criterion B2 (area of occupancy estimated to be less than 2000 km²) and subcriteria a (severely fragmented or known to exist at no more than 10 locations) and b(iii) (continuing decline in area, extent and/or quality of habitat): VU B2ab(iii).

O. glaber is known from a few areas in the south and east of the Iberian Peninsula, where it is distributed among seven Spanish provinces: Albacete, Murcia, Córdoba, Alicante, Jaén, Valencia and Cádiz, occurring in hypersaline streams (generally associated with marl soils) with a salinity of up to 120 g/l, occasionally reaching 300 g/l. Many saline and hypersaline streams are disappearing through the over-exploitation of aquifers, non-point source pollution processes, and water sweetening (Gagneur, 1987; Martínez-Fernández *et al.*, 2000; Pulido-Bosch *et al.*, 2000; Vidal-Abarca *et al.*, 2000). The known area of occupancy of this species (sum of the 10 x 10 grid cells it occupies) is around 1100 km².

O. irenae is known from only two localities. The area of occupancy of this species is perhaps only 200 km² and restricted to Albacete province. The principal population (with several tens of individuals recorded) of this species was found in an endorreic lagoon with mesosaline waters (Salinas de Pinilla). We also found two exemplars in a karstic and freshwater lagoon (Laguna del Alboraj), but this record must be considered as representing a sporadic or unusual presence. The continuous loss of mesosaline lagoons in the province of Albacete (Millán *et al.*, 2001 a and b; 2002), and, in general, in the Iberian Peninsula (Cirujano, 1990; Green and Anstey, 1992) must be taken into account when evaluating the vulnerability of this species. For example, 60% of the

endorreic lagoons in Andalusia (South of Spain) have been drained this century (Green and Hughes, 1996).

O. montesi is known from a few areas in the South and South East of the Iberian Peninsula. These populations are distributed among four Spanish provinces: Murcia, Alicante, Málaga and Almería, where they mainly occur in saline streams (generally hyposaline and mesosaline waters near the coast). The area of occupancy of this species is around 700 km². Furthermore, their habitat is threatened in the same way as the habitat of *O. glaber*.

On the other hand, among the species of moderate vulnerability, *Limnebius millani*, *Ochthebius bellieri* and *Hydraena manfredjaechi* some are good examples of potentially vulnerable species with restricted distributions.

As Ribera (2000) pointed out, the inclusion of long lists of inconspicuous species in red lists is questionable, since these species are rarely suitable for special action. Thus, best option would be measures directed towards the conservation of the habitat (e.g. through the Nature 2000 Network). Thus, based on the habitat types in which vulnerable species occur, it emerges that urgent priority should be given to effectively protecting prominent habitats for several species. Crucial target habitats for protection in the south east of the Iberian Peninsula are: (i) freshwater streams at medium altitudes, (ii) saline streams and (iii) endorreic lagoons. Conservation actions for priority species should focus on these habitats. Furthermore, effective protection at local scale (Murcia province) of *Ochthebius* and *Hydraena* genera or even Hydraenidae family could reduce the problem of their small size, lack of public appeal and reduced morphological diversity, and may be regarded as a good complement to habitat protection.

Because the natural world is extremely dynamic and our knowledge of the distribution, abundance, and basic biology of species and ecological communities is imperfect, but continually improving, biodiversity status rankings must be viewed as working hypotheses based on the best available information. Ranks are continually reevaluated as new populations are discovered, known populations are exterminated, or new or better information on overall status, trends or threats becomes available. This is especially true in the case of insects, for which any increase in knowledge concerning particular taxa could result in a change in conservation category. In this regard, the analysis here performed for aquatic beetles from the southeast of the Iberian Peninsula should be considered as a first step in a process that should be iterated in the light of new data.

Although the vulnerability analysis proposed still requires some decisions based on the expertise of the authors, it certainly represents a significant step towards a quantitative and objective method for prioritising species and populations for conservation, especially in the case of insects. In addition, our analysis provides some interesting insights into the threats and conservation priorities of several taxa restricted to the Iberian Peninsula.

REFERENCES

- Andreone F., Luiselli L. 2000. The Italian batrachofauna and its conservation status: a statistical assessment. *Biological Conservation*, **96**, 197–208.
- Balfour–Browne F. 1978. Studies on the Hydraenidae (Coleoptera) of the Iberian Peninsula. *Ciências Biológicas*, **4**, 53–107.
- Berge Henegouwen A.L., Sainz–Cantero C.E. 1992. *Hydrochus nooreinus*, a new species from Spain (Coleoptera, Hydrochidae). *Storkia*, **1**, 26–28.
- Burgman M.A., Ferson A., Akçakaya H.R. 1993. Risk assessment in conservation biology. Chapman and Hall, London.
- Castro A. 1997. Coleópteros acuáticos del sur de Córdoba (España) (Haliplidae, Gyrinidae, Noteridae, Dytiscidae, Hydraenidae, Hydrochidae, Helophoridae, Hydrophilidae, Dryopidae y Elmidae). *Zoologica Baetica*, **8**, 49–64.
- Castro A. 1999. Nuevos datos faunísticos sobre Hydraenidae Mulsant, 1844 (Coleoptera) de Andalucía (Sur de España). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **23**, 334–336.
- Cirujano S. 1990. Flora y Vegetación de las lagunas y humedales de la provincia de Albacete. Instituto de Estudios Albacetenses. CSIC. Confederación Española de Estudios Locales. Albacete.
- Cofré H., Marquet P.A. 1998. Conservation status, rarity, and geographic priorities for conservation of Chilean mammals: an assessment. *Biological Conservation*, **88**, 1–16.
- Delgado J.A., Soler A.G. 1991. A new species of aquatic beetle of the genus *Hydraena* (Subgenus *Haenydra*) from the Iberian Peninsula (Coleoptera: Hydraenidae). *Aquatic Insects*, **13**, 217–222.
- Delgado J.A., Soler A.G. 1997. El género *Ochthebius* Leach, 1815 en la cuenca del río Segura (Coleoptera: Hydraenidae). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **21**, 73–87.
- Delgado J.A., Millán A., Soler A.G. 1992. El género *Hydraena* Kugelann, 1794 en la cuenca del río Segura. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **16**, 71–81.
- d'Orchymont A. 1936. Les *Hydraena* de la Péninsule Ibérique. *Bullettin du Musée Royal d'Histoire Naturelle Belgique* 2^a sec. Fasc. **6**, 1–22.

d'Orchymont A. 1941. Palpicornia (Coleoptera). Notes diverses et espèces nouvelles I. *Bullettin du Musée Royal d'Histoire Naturelle Belgique XVII*, **1**, 1–23.

Fery H., Brancucci M. 1997. A taxonomic revision of *Deronectes* Sharp 1882 (Insecta: Coleoptera: Dytiscidae) (part I). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien (B)*, **99**, 217–302.

Ferro G. 1984. Su alcuni *Ochthebius* della fauna spagnola (Coleoptera Hydraenidae) 13. Contributo allo studio degli Hydraenidae. *Bulletin et Annales de la Société Royale Belge d'Entomologie*, **120**, 111–115.

Gagneur J. 1987. Sur la vulnérabilité des écosystèmes aquatiques en Algérie. *T.S.M.–l'Eau*, **82**, 209–212.

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

Gaston K.J., Pressey R.L., Margules C.R. 2002. Persistence and vulnerability: retaining biodiversity in the landscape and in protected areas. *Journal of Biosciences*, **27**, 361–384.

Green A.J., Anstey S. 1992. The status of the White-headed Duck *Oxyura leucocephala*. *Bird Conservation International*, **2**, 185–200.

Green A.J., Hughes B. (Compilers) 1996. Action Plan for the White-headed Duck *Oxyura leucocephala* in Europe. In: *Globally threatened birds in Europe. Action plans* (eds. Heredia B., Rose L., Painter M.), pp. 119–145. Council of Europe Publishing, Strasbourg.

IUCN 2001. *IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1*. IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Jäch M.A. 1990. Revision of the Palearctic species of the genus *Ochthebius* Leach V. The subgenus *Asiobates* (Coleoptera: Hydraenidae). *Koleopterologische Rundschau*, **60**, 37–105.

Jäch M.A. 1997. Revision of the Palearctic species of the genus *Ochthebius* Leach XIV. Additional notes on the *O. punctatus* group, with description of two new species (Coleoptera: Hydraenidae). *Koleopterologische Rundschau*, **67**, 177–180.

Jäch M.A. 2001. Revision of the Palearctic species of the genus *Ochthebius* XVIII. The European species of the *O. semisericeus* complex (Coleoptera: Hydraenidae). *Entomological problems*, **32**, 45–53.

Lagar A., Fresneda J. 1990. Notas faunísticas y taxonómicas sobre Hydraenidae (Coleo Palpicornia) de la Península Ibérica: descripción de nuevas Hydraena ibéricas. *Bulletin de l'Institut des Sciences Naturelles de Belgique*, **60**, 149–160.

Mace G.M., Lande R. 1991. Assessing extinction threats: toward a reevaluation of IUCN threatened species categories. *Conservation Biology*, **5**, 148–157.

Martínez–Fernández J., Esteve–Selma M.A., Calvo–Sendín J.F. 2000. Environmental and socio–economic interaction in the evolution of traditional irrigate lands. A dynamic system model. *Human Ecology*, **28**, 279–299.

Médail F., Quézel P. 1997. Hot–spots analysis for conservation of plant biodiversity in the Mediterranean basin. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **84**, 112–127.

Mittermeier R.A., Myers N., Thomsen J.B., da Fonseca G.A.B., Olivieri S. 1998. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: Approaches to setting conservation priorities. *Conservation Biology*, **12**, 516–520.

Millán A., Aguilera P. 2000. A new species of *Hydraena* Kugelann from the spring of Fuenfría (Segura basin, SE Spain), a site of special conservation interest (Coleoptera: Hydraenidae). *Koleopterologische Rundschau*, **70**, 61–64.

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2001a. Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos de las lagunas de Albacete (Alboraj, Los Patos, Ojos de Villaverde, Ontalafia y Pétrola). *Sabuco*, **1**, 43–94.

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2001b. Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos de las lagunas y humedales de Albacete (Lagunas de Ruidera, Salinas de Pinilla, Laguna del Saladar, Laguna del Salobralejo, Lagunas de Corral Rubio, Fuente de Isso y Fuente de Agua Ramos). *Sabuco*, **2**, 167–214.

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2002. *Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos y semiacuáticos de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses. Albacete.

Millán A., Velasco J., Vidal–Abarca M.R., Suárez M.L., Ramírez–Díaz L. 1996. Distribución espacial de los Adepaga acuáticos (Coleoptera) en la cuenca del río Segura (SE de la Península Ibérica). *Limnetica*, **12**, 13–30.

Millsap B.A., Gore J.A., Runde D.E., Cerulean S.I. 1990. Setting priorities for the conservation of fish and wildlife species in Florida. *Wildlife Monographs*, **111**, 1–57.

Montes C., Soler A.G. 1986. *Lista faunística y bibliográfica de los Coleópteros acuáticos Dryopoidea (Dryopidae y Elmidae) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Asociación Española de Limnología, Listas de la Flora y Fauna de las Aguas Continentales de la Península Ibérica N° 3, Madrid.

Montes C., Soler A.G. 1988. A new species of the Genus *Ochthebius* (Subgenus *Calobius*) (Coleoptera: Hydraenidae) from Iberian hypersaline waters. *Aquatic Insects*, **10**, 43–47.

Moreno J.L., Millán A., Suárez M.L., Vidal–Abarca M.R., Velasco J. 1997. Aquatic Coleoptera and Heteroptera assemblages in waterbodies from ephemeral coastal streams ("ramblas") of south–eastern Spain. *Archiv fur Hydrobiologie*, **141**, 93–107.

Moreno J.L., Suárez M.L., Vidal–Abarca M.R. 1996. Valor ecológico de las ramblas como ecosistemas acuáticos singulares. Tomo extraordinario. 125 aniversario de la Real Sociedad Española de Historia Natural, 411–416. Madrid.

Munton P. 1987. Concepts of threat of the survival of species used in red data books and similar compilations. In: *The road to extinction: Problems with categorizing the status of taxa threatened with extinction* (eds. Fitter R., Fitter M.), pp. 71–111. IUCN. Gland, Suiza.

Myer N., Mittermeier R.A., Mittermeier C.G., Da Fonseca G.A.B., Kent J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853–858.

Pulido–Bosch A., Pulido–Leboeuf P., Molina–Sánchez L., Vallejos A., Martín–Rosales W. 2000. Intensive agriculture, wetlands, quarries and water management. A case study (Campo de Dalías, SE Spain). *Environmental Geology*, **40**, 163–168.

Rabinowitz D., Cairns S., Dillon T. 1986. Seven forms of rarity and their frequency in the flora of the British Isles. In: *Conservation biology. The science of scarcity and diversity* (ed. Soulé M.), pp. 182–204. Sinauer, Mass.

Ribera I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, **92**, 131–150.

Ribera I., Hernando C. 1998. Description of *Limnebius millani* sp.n. (Insecta: Coleoptera: Hydraenidae) from the Sierra de Alcaraz (Southeast Spain). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien Serie B Botanik und Zoologie*, **100**, 199–202.

Ribera I, Hernando C., Aguilera P. 1998. An annotated checklist of the Iberian water beetles (Coleoptera). *Zapateri*, **8**, 43–111.

Ribera I, Hernando C., Aguilera P. 1999. *Hydrochus tariqi* sp.n. from south Spain (Coleoptera: Hydrochydae). *Koleopterologische Rundschau*, **69**, 99–102.

Ribera I., Hernando C., Aguilera P., Millán A. 1997. Especies poco conocidas o nuevas para la fauna ibérica de coleópteros acuáticos (Coleoptera: Dytiscidae, Hydrophilidae, Hydraenidae, Dryopidae). *Zapateri*, **7**, 83–90.

Ribera, I., Millán, A., 1999. Description of *Ochthebius (Asiobates) irenae* sp. n. (Coleoptera: Hydraenidae) from the Iberian Peninsula, with notes on its ecology. *Aquatic Insects* 21(2): 147–152.

Rico E., Pérez L.C., Montes C. 1990. *Lista faunística y bibliográfica de los Hydradephaga (Coleoptera: Haliplidae, Hygrobiidae, Gyrinidae, Noteridae, Dytiscidae) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Asociación Española de Limnología, Listas de la Flora y Fauna de las Aguas Continentales de la Península Ibérica N° 7, Madrid.

Rico E. 1997. Distribución de los Elmidae (Coleoptera: Dryopoidea) en la Península Ibérica e islas Baleares. *Graellsia*, **52**, 115-147.

Sáinz-Cantero C.E. 1997. Nuevas citas de Hydraenidae Mulsant, 1844 (Coleoptera) en Andalucía (Sur de España). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **21**, 279–280.

Sainz-Cantero C.E., Aceituno-Castro E. 1997. Coleopterofauna acuática de las sierras de Tejeda y Almijara (Sur de España). II Polyphaga (Coleoptera, Dryopidae, Elmidae, Hydraenidae, Hydrochidae, Hydrophilidae)(1). *Nouvelle Revue d'Entomologie*, **14**, 115–133.

Sainz-Cantero C.E., Alba-Tercedor J., 1991. Los Polyphaga acuáticos de Sierra Nevada (Granada, España). (Coleoptera: Hydraenidae, Hydrophilidae, Elmidae, Dryopidae). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **15**, 171–198.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Velasco J., Millán A. 2003. *Los coleópteros acuáticos de la región de Murcia. Catálogo faunístico y áreas prioritarias de conservación*. Monografías SEA, vol. 10.

Sutherland W.J. 2000. *The conservation Handbook*. Research, management and policy. Blackwell Science. Cambridge.

Valladares L.F., Montes C. 1991. *Lista Faunística y Bibliográfica de los Hydraenidae (Coleoptera) de la Península Ibérica*. Asociación Española de Limnología, Listas de la Flora y Fauna de las Aguas Continentales de la Península Ibérica n° 10, Madrid.

Valladares L.F., Ribera I. 1999. *Lista faunística y bibliográfica de los Hydrophiloidea acuáticos (Coleoptera) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Listas de la Flora y Fauna de las Aguas Continentales de la Península Ibérica n° 15, Madrid.

Vidal-Abarca M.R., Suárez M.L., Ramírez-Díaz L. 2000. Tipo funcional de humedal: ramblas/wadis. In: *Management of Mediterranean Wetlands, Tomo III* (eds. Monillo C., González J.L.), pp. 17–38. Madrid.

Chapter 2

Conservation of freshwater biodiversity: a comparison of different area selection methods

Abstract

The biodiversity of freshwater systems is endangered, especially in Mediterranean semiarid areas such as the south east of the Iberian Peninsula, whose rich and endemic biota is threatened by the development of surrounding land-crop irrigation. For this reason, the prioritization of areas for biodiversity conservation is an urgent target. In this study we used data records of water beetles from a province of the southeast of Spain for assessing priority areas for freshwater biodiversity conservation. We compare the performance of various area-selection methods, ranging from scoring procedures to complementarity-based algorithms, which are based on different criteria such as richness, rarity and vulnerability. The complementarity approaches were more efficient than methods using scoring or richness and rarity hotspots for representing conservation targets in a given number of areas and for identifying the minimum set of areas containing all species at least once. Within these, the richness-based algorithm was more efficient than rarity-based algorithm. Crucial target habitats for aquatic biodiversity conservation in the area studied are streams at medium altitude, hypersaline streams, and endorreic and karstic complexes.

INTRODUCTION

Many authors believe that biodiversity is at greater risk in freshwater systems than in other ecosystems (e.g. Allan and Flecker, 1993; Master *et al.*, 1998; Ricciardi and Rasmussen, 1999). This is particularly important in the Mediterranean Basin, which is considered as one of Earth's hotspot areas for biodiversity (Myers, 1988; Quézel, 1995; Mittermeier *et al.*, 1998; Myers *et al.*, 2000). Of particular interest in this context is the southeast of the Iberian peninsula, the most arid region of Europe, which has a rich and endemic biota (Médail and Quézel, 1997) and in which anthropogenic threats to biodiversity are increasing. Because the scarcity of surface water is a distinguishing feature of the region, aquatic ecosystems are especially important and some of them are particularly rich in rare or endemic species. Furthermore, most of these habitats are of significance on a European scale and some, such as hypersaline streams, are unique to this region.

As many authors have pointed out (e.g. Vane-Wright *et al.*, 1991; Myers *et al.*, 2000; Margules and Pressey, 2000), the recourses available for biodiversity conservation are limited and priorities must therefore be established. One of the central tasks of conservation biology is to prioritize places on the basis of their biodiversity value, selecting those that have the highest priority. For this objective, the biodiversity values of sites have to be assessed. However, because the concept of biodiversity encompasses the entire biological hierarchy from genes to ecosystem, is impossible to measure biodiversity in its entirety.

A common approach to resolving this problem has been to use indicator taxa as test organisms: groups of organisms with a sound taxonomy that have been well surveyed in the region. It is then assumed that patterns of species richness, endemism, rarity or vulnerability in these taxa are indicative of similar patterns in unsurveyed taxa in the region (Pearson and Cassola, 1992; Reyers and Jaarsveld, 2000; Ricketts *et al.*, 2002). Although most studies using indicator taxa have relied on vertebrates (e.g. Williams *et al.*, 1996; Garson *et al.*, 2002), insects are particularly suitable for this since they are small and abundant in both species and numbers of individuals. Furthermore, in contrast to vertebrates, they tend to be relatively short-lived and have high rates of population increase, short generation times and comparatively high habitat specificity.

Freshwater invertebrates (mostly identified at family level) have been used extensively as indicators to monitor the status of freshwater habitats as regards potential pollutants or nutrient enrichment (e.g. Hellowell, 1978; Alba-Tercedor and Sánchez-Ortega, 1988; Rosenberg and Resh, 1992). However, little attention has been paid to the development of indicator taxa for the assessment of freshwater biodiversity. Nevertheless, several aquatic macroinvertebrate groups, such as Odonata and Coleoptera (Davis *et al.*, 1987; Foster *et al.*, 1990; Foster and Eyre, 1992), have been suggested as indicator taxa.

The group of water beetles is a potentially ideal indicator of aquatic ecosystem biodiversity and meets most of the criteria proposed in the literature for such purposes

(Noss, 1990; Pearson and Cassola, 1992; Pearson, 1994). Their taxonomy is well known and they have a worldwide distribution. Beetles occupy the complete range of aquatic habitats, inhabiting virtually every kind of fresh and brackish water body from headwaters to salt-marshes and coastal rock pools, from the smallest puddles up to large lakes and swamps, and from streams to irrigation ditches and reservoirs. Furthermore, show individual species specialization within habitats. They are present all the year round, sometimes in large numbers. Most species have ecological demands that are limited enough either to allow useful predictions to be made about changes in quality and land use history or simply for characterizing the community and the habitat (Foster, 1987; Ribera and Foster, 1993; Foster, 1996). In the Iberian Peninsula, water beetles are a well known group (e.g. Ribera *et al.*, 1999; Ribera, 2000) with a high species richness. They also are one of the best studied group of aquatic insects in the southeast of Iberian Peninsula (e.g. Gil *et al.*, 1990; Delgado *et al.*, 1992; Millán *et al.*, 1996; Delgado and Soler, 1997; Millán *et al.*, 2001a, b; Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003).

A variety of methods has been suggested for the selection of priority areas using species data. The two major methodological approaches to systematic reserve design are based on (1) a scoring procedure and (2) the concept of complementarity. Scoring procedures rank sites in order of value or priority according to one or several criteria (such as species richness, rarity or vulnerability) and have been traditionally used in area selection (see Margules and Usher, 1981 for a review). On the other hand, methods based on the complementarity principle (Vane-Wright *et al.*, 1991) are more recent and have received growing interest in conservation literature (e.g. Margules *et al.*, 1988; Pressey *et al.*, 1993; Williams *et al.*, 1996; Sarkar *et al.*, 2002).

Our main objective was to use twenty years of water beetle records from a Spanish province to identify priority areas at local scale for aquatic biodiversity conservation and to evaluate the effectiveness of various area-selection methods (from ranking systems to complementarity-based algorithms) which are based on different criteria, such as richness, rarity and vulnerability. Thus, the following questions were addressed by this study: (1) what area-selection procedure provides the smallest number of sites containing all beetle species at least once? and (2) for a given area of protection, what procedure provides the greatest accumulation of conservation targets in protected areas?

MATERIALS AND METHODS

Study area and data set

The area considered in this analysis is the Spanish province of Albacete, located in the southeast of the Iberian Peninsula and encompassing an area of 14,858 km² (Figure 1). This area has a continental Mediterranean climate and the altitude ranges from 200 to 1800 metres a.s.l. Temperatures are characterized by a noticeable annual amplitude (almost 20°C in some sites), while rainfall shows an annual average of around 360 mm.

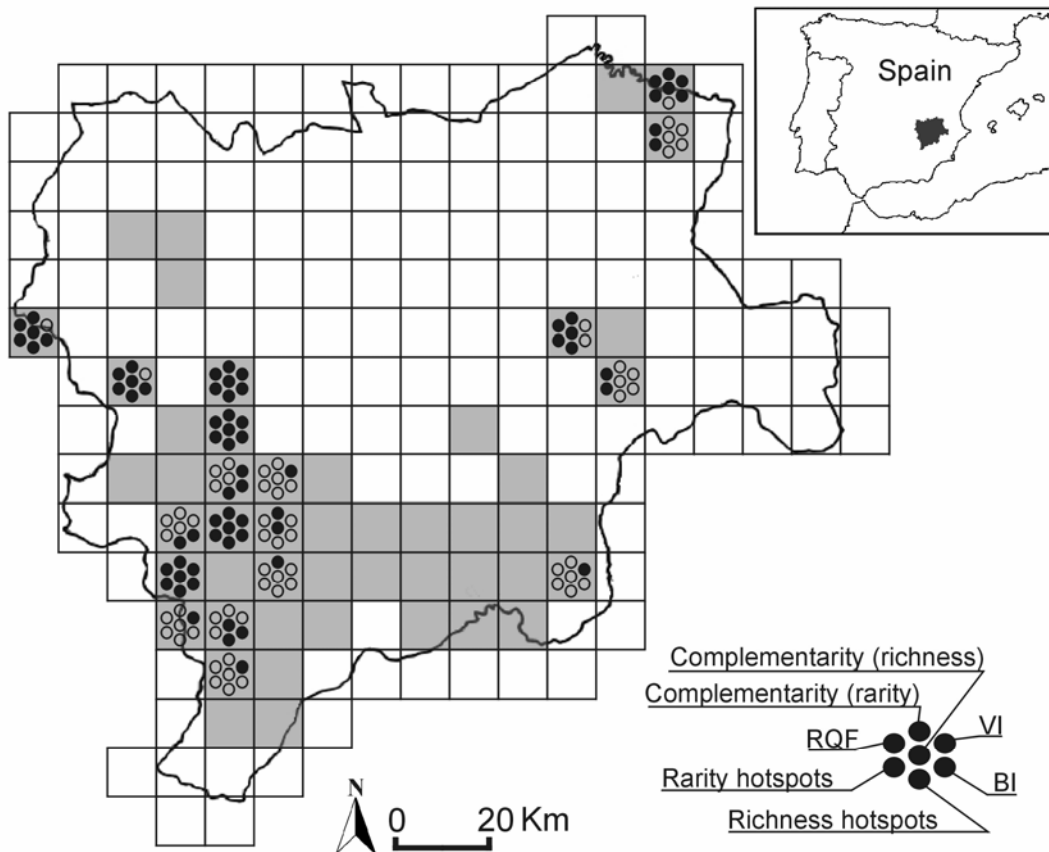


Figure 1. Map of the study area showing the 10 x 10 km grid cells (defined by UTM coordinates) used for the comparison of area selection methods (shaded cells) and the distribution of the top ten priority areas chosen by the seven methods. Grid cells selected by a certain method are marked with a black solid dot. (RQF: Rarity Quality Factor, VI: Vulnerability Index; BI: Biodiversity Index).

The families of Coleoptera in which a substantial proportion of species is linked with water in any developmental stage were included. Well-established subspecies were also considered. In order to minimize uncertainty, species of the families Sphaeriusidae, Chrysomelidae, Curculionidae, Georissidae, Scirtidae, Limnichidae and Heteroceridae were not included, owing to insufficient knowledge of their distribution and/or taxonomy. A total of 209 species were included in the analysis.

Data on species were obtained from literature records and our own fieldwork. As far as possible, all published and unpublished data presently known to us were included. Based on the literature records and the specimens examined, a database was constructed that included species identity, collecting location, collecting date, collector, and number of specimens. Over 3,500 available records (species/site/date records) of aquatic beetles were used in the analysis, representing the total diversity of

freshwater ecosystems in the study area. The surface of the study area was divided into 10 x 10 km grid cells (defined by UTM coordinates), and the occurrence of species was recorded as presence/absence at each of the 150 UTM 10 x 10 km grid cells. A total of 51 grid cells showed water beetles data.

Area-selection procedures

Seven area-selection methods were contrasted, five using different site scoring indices (methods 1 to 5), ranking sites for one or various criteria such as species richness, rarity and vulnerability, and the last two (methods 6 and 7) applying complementarity-based algorithms. Complementarity refers to the degree to which an area, or set of areas, contributes otherwise unrepresented attributes (e.g. species) to a set of areas (Vane-Wright *et al.*, 1991). We used complementarity to maximize the number of species represented within a given number of areas and to choose the minimum set of areas containing all species at least once.

Although the term *hotspots* was originally used by Myers (1988) for world-wide areas with exceptional concentration of species richness, narrow endemics and that face exceptional degree of threat, this term has subsequently been applied more generally to areas with high scores on any scale (e.g. Prendergast *et al.*, 1993; Williams *et al.*, 1996; Araujo, 1999). In this paper, we use *hotspots* refer to areas with high values of species richness or rarity.

Method 1: Richness hotspots

The 10 x 10 UTM grid cells containing beetles were ranked by species richness (it is measured simply as the total count of species within each grid cell).

Method 2: Rarity hotspots

We use rarity solely in reference to species of restricted range (measured as area of occupancy in number of grid cells) with no reference to abundance. It was calculated for all species in a grid cell by summing the inverse of all species' ranges and divided by the species richness of this grid cell (Crisp *et al.*, 2001; Rey-Benayas and e la Montaña, 2003):

$$\text{Rarity score} = \sum_{i=1}^S (1/c_i) / S$$

where c_i is the number of grid cells occupied by species i and S is the species richness of the grid cell.

Method 3: Rarity Quality Factor (RQF)

Foster (1987) describes a point scoring system for evaluating and ranking wetland sites, which was subsequently validated by Eyre and Rushton (1989). This system is based on the rarity status of the water beetle species present. Each species recorded

in 1, 2-3, 4-7, 8-15, 16-31, and 32 and more grid cells was assigned a score within a geometric progression successively doubling from 1 (commonest species) to 32 (rarest). From the sum of these species scores, a species rarity total (SRT) was calculated. An additional rarity association value for each site was calculated using species that scored 2 or more on the geometric scale. To eliminate bias caused by the presence of one very rare species in a list, where one score is far greater than the others, the highest score was reduced to that of the nearest other score. This score was then added to the SRT, and the final value was divided by the number of species in the list, thus providing the Rarity Quality Factor (RQF).

Method 4: Vulnerability Index

The Vulnerability Index (VI) was calculated using the conservation status of the species recorded in each grid cell. Each species was assigned a score based on the vulnerability categorization of Abellán *et al.* (2005) for water beetles from Albacete province. The species was scored from 0 to 12 (from *low vulnerability* to *very high vulnerability*). A grid cell score was the sum of the vulnerability scores for each species present in a grid cell and divided by the species richness of this grid cell (Nores and García Álvarez, 2000; Rey-Benayas and De la Montaña, 2003).

$$\text{Vulnerability Index} = \sum_{i=1}^S (1/v_i) / S$$

where v_i is the vulnerability score of species i and S is the species richness of the grid cell.

Method 5: Biodiversity Index

We used a modification of the biodiversity index applied by Rey-Benayas and De la Montaña (2003) which combine richness, rarity and vulnerability criteria, and defined as:

$$\text{Biodiversity Index (BI)} = \sum_{i=1}^S (1/c_i) v_i$$

where c_i is the number of grid cells occupied by species i and v_i is the vulnerability score of species i (defined as in method 4). Species richness is implicit in Σ .

Method 6: Complementarity (richness)

We used a richness-based heuristic algorithm to find complementary areas. The algorithm applied is a modified version of that proposed by Kirkpatrick (1983), a form of so-called "greedy algorithm". The algorithm first selected the grid cell with the greatest number of species; all species found in that grid cell were excluded for further consideration while the algorithm searched for the grid cell with the greatest number of species that were not already selected. Ties for number of species were broken by assignment of top rank to the grid cell with the greatest number of rare species (species that occur in only one grid cell). And if there is still a tie, the richness grid cell

was chosen. This iterative process continued until (1) all species were represented and (2) the maximum allowed area (a given number of grid cells) was reached.

Method 7: Complementarity (rarity)

The algorithm used is also a heuristic technique and is a variation of one originally proposed by Margules *et al.* (1988) which chooses sites in order of the rarity of species they contain. First, species are ordered inversely by frequency of their appearance in the data set (number of grid cells occupied) and then sites are ordered according to whether they contain the rarest species, the next rarest species, and so on, iteratively. To break ties between cells with equally rare species, we use complementarity (which selects the cell that contains the most species not already represented among the cells that have already been chosen). Final ties are broken randomly (by lexical order). This process was continued iteratively until (1) all species were represented and (2) the maximum allowed area (a given number of grid cells) was reached. The analysis was performed using the ResNet software package (Aggarwal *et al.*, 2000; see also Sarkar *et al.*, 2002). Similar procedures have also been implemented elsewhere (Vane-Wright *et al.*, 1991; Rebelo and Siegfried, 1992; Margules *et al.*, 1998).

Evaluation of methods performance

Two common ways of defining the reserve selection problem are (1) to choose the minimum set of areas containing all features (*e.g.* species) at least once, known as the set covering problem (*e.g.* Underhill 1994), and (2), to maximize the number of features represented when there is a limit on the cost or area, known as the maximal coverage location problem (*e.g.* Church *et al.*, 1996). We then evaluated the effectiveness of the various methods used to identify areas of high-value conservation from these two perspectives.

First, we evaluated the area required to represent all the species of water beetle at least once with each method. Thus, selection methods established the order in which sites were ranked and performance was evaluated from species-area accumulation curves.

In a second comparison, we evaluated the effectiveness of the methods used to identify priority areas representing the maximum number of (1) water beetle species, (2) rare species, (3) vulnerable species, and (4) Iberian endemic species within ten 10 x 10 km grid cells. This number (10 grid cells) is arbitrary but convenient for comparing the results of the seven area selection methods. The area represented by 10 cells is about 6% of the total area of Albacete province and about 19% of the area surveyed. Thus, richness hotspots were identified as the top 10 grid cells ranked by species richness, while rarity hotspots were identified as the top 10 grid cells ranked by rarity score. Similarly, priority sets for RQF, VI and BI were identified as the top 10 grid cells ranked by these indices.

For our purposes, vulnerable species were considered to be those belonging to the *high vulnerability* and *very high vulnerability* categories according to the vulnerability categorization proposed by Abellán *et al.* (2005) for water beetles from Albacete province. Furthermore, we use rarity solely in reference to species of restricted range (measured as area of occupancy in number of grid cells) with no reference to abundance. We used a threshold criterion of one UTM 10 x 10 km grid cell occupied within the study area to define locally rare species. Iberian endemics were considered following Ribera *et al.* (1998).

Furthermore, we also include an additional assessment of the efficiency of the seven methods in terms of the number of representations for each species (number of grid cells occupied by each species within the prioritized 10 grid cells). Thus, the average number of representations per species was calculated (see Williams *et al.*, 1996). Similarly, the percentage of restricted species (species with five or fewer grid cell records in the data set) all of whose grid cell-records fall within the priority set and the percentage of widespread species (species with more than five grid cell records in the data set) with multiple representations (five or more) in each priority set were estimated.

Finally, Pearson correlation analysis, calculated on the scores of all grid cells, was used to identify relationships between ranking procedures (richness and rarity hotspots, RQF, VI and BI). Statistical analysis were performed using Statistica for Windows (Release 4.5).

RESULTS

Minimum sets of areas containing all beetle species

Not surprisingly, the results of the analysis carried out to seek the minimum sets of areas needed to represent all 209 water beetles species at least once reveal a clear distinction between the two complementarity-based methods and the remaining scoring approaches (Figure 2). The complementarity areas (based on either richness or rarity) represented all of the species at least once within just 18 grid cells. However, the scoring procedures needed from 31 grid cells (Rarity Quality Factor) to 36 grid cells (Vulnerability Index) to represent all species. The rarity-hotspots method, richness-hotspots method and Biodiversity Index required 32, 33 and 35 grid cells, respectively. Among the scoring approaches, the richness-hotspots method displayed the highest initial species inclusion. In general, the number of species included increased rapidly with the number of cells, with more than 50% of the species occurring when less than four of the 51 sites were selected. However, once 80% of the species were included by any method, further increases in protected diversity required a substantial increase in the number of sites because of scattered rarities.

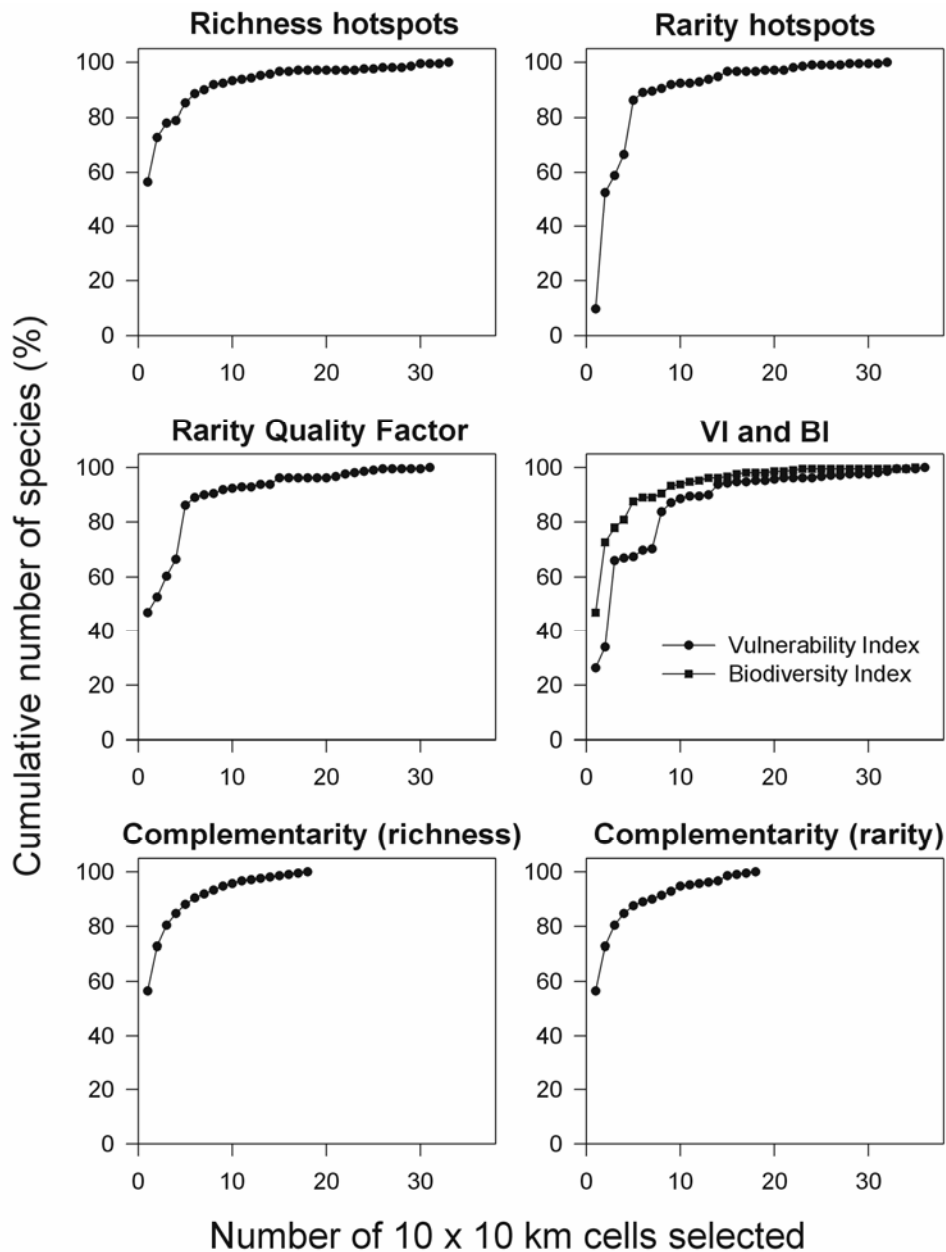


Figure 2. Species-site accumulation curves for the seven area selection procedures representing all water beetles species at least once.

Representation of conservation targets in the priority sets

Figure 1 shows the spatial distribution of the priority sets identified according to the seven methods of area selection applied (the top 10 grid cells ranked by each method). Grid cells with the highest values were located mainly in the southwest, northeast and central axis of the province. The richness hotspots were located almost exclusively in the west of the province. On the contrary, the areas rich in rare species (identified as rarity hotspots and by index RQF) had a more dispersed distribution. The grid cells

chosen by the two complementarity-based algorithms and the indices VI and BI were evenly dispersed across the study area, with some grid cells being chosen in all zones, although mainly in the southwest. Furthermore, there was a clear agreement in the distribution of high values for the different methods and, in general, there was a high degree of coincidence between priority sets (more than 50%). Thus, some grid cells were selected by all the methods and others were selected by several of them. Coincidence between priority sets based on the rarity-hotspots method and Rarity Quality Factor was total. The coincidence between priority areas for freshwater biodiversity based on the richness-hotspots method and the Biodiversity Index was very high (90%), as it was between the two complementarity-based algorithms. The coincidence between the priority sets identified by the remaining methods was usually 70 or 80%. The exception was the priority set based on the Vulnerability Index, which showed the lowest degree of coincidence with the remaining priority sets (50-60%).

Table 1 shows the number and percentage of total species, rare species, vulnerable species, and Iberian endemics included in the priority sets (10 grid cells) identified according to each one of the seven methods applied. Based on the percentage of species included, the richness-based algorithm was the most effective method. The rarity-based algorithm captured the largest number of rare species (species restricted to one grid cell). Based on the proportion of vulnerable species included, the Biodiversity Index (BI) and the richness-based algorithm were the most effective methods (both with 90%). Furthermore, the rarity hotspots and the Rarity Quality Factor (RQF), together with the richness-based algorithm, were the most effective methods representing the largest proportion of Iberian endemics species. On the other hand, the Vulnerability Index was the least effective method in representing conservation targets: species, rare species, vulnerable species and Iberian endemics.

Table 1. Numbers and percentages of total species, rare species, vulnerable species and Iberian endemics included in the priority sets (top 10 grid cells) identified according to the seven methods used in the analysis. Vulnerable species were defined according to Abellán *et al.* (2004) and rare species were defined using a threshold criterion of one 10 x 10 km grid cell occupied within the study area.

Methods	Representation achieved			
	Total species	Rare species	Vulnerable species	Iberian endemics
Richness hotspots	195 (93.3%)	23 (74.2%)	8 (80%)	30 (90.9%)
Rarity hotspots	193 (92.3%)	26 (83.9%)	8 (80%)	31 (93.9%)
Rarity Quality Factor	193 (92.3%)	26 (83.9%)	8 (80%)	31 (93.9%)
Vulnerability Index	185 (88.5%)	19 (61.3%)	6 (66.7%)	28 (84.8%)
Biodiversity Index	196 (93.8%)	23 (74.2%)	9 (90%)	30 (90.9%)
Complementarity (richness)	200 (95.7%)	26 (83.9%)	9 (90%)	31 (93.9%)
Complementarity (rarity)	198 (94.7%)	27 (87.1%)	8 (80%)	30 (90.9%)

Therefore, the richness-based algorithm was the most effective method for simultaneously representing the greatest number of species, vulnerable species and Iberian endemics. Consequently, the areas identified by this method included the greatest representation of total diversity. The priority set identified according to this method captured 95.7% of the aquatic beetles species, 83.9% of rare species, 90% of vulnerable species and 93.9% of Iberian endemics.

An assessment of the efficiency in terms of the number of representations per species is shown in Table 2. The richness-hotspots method captured the largest number of representations per species, followed closely by the Biodiversity Index. The Vulnerability Index and the rarity approaches (hotspots and RQF) captured the lowest number of representations per species. The two complementarity-based algorithms gave very similar results, though the “greedy algorithm” captured a larger number of representations per species than the rarity-based algorithm. However, all the methods, except the Vulnerability Index, included a very similar percentage of restricted species (i.e. species with five or less grid cell records in the data set) all of whose grid cell records fall within the priority sets (Table 2, column two). The high number of representations per species captured by the richness-hotspots method was due to the fact that most of these representations came from multiple representations of widespread species (Table 2, column three). On the contrary, the rarity-hotspots and the RQF methods included a lower number of representations for many species with a widespread distribution. Thus, in general, all seven methods are very similar as regards the number of representations of the more restricted species and any differences arose from the number of representations of species with a higher frequency of occurrence in the data set.

The correlation coefficients between the different scoring approaches used to identify priority areas were always positive and significant at $P < 0.05$ (Table 3). The rarity-hotspots method and the Rarity Quality Factor showed the highest correlation ($r = 0.97$), followed by the richness-hotspots method and the Biodiversity Index ($r = 0.89$). The lowest correlation coefficients were between Vulnerability Index and richness hotspots method ($r = 0.59$) and between the Vulnerability Index and the Biodiversity Index ($r = 0.60$). Thus, in general, a grid cell scoring high values with a given method also presented high values with the others methods. That is, the richest communities included the rarest and most vulnerable species.

Table 2. Efficiency of the seven methods applied in terms of number of representations for each species (number of grid cells occupied by each species within the prioritized 10 grid cells).

Methods	Number of representations ^a	Restricted species ^b	Widespread species ^c
Richness hotspots	3.76	45.9%	64%
Rarity hotspots	3.07	45%	48%
Rarity Quality Factor	3.07	45%	48%
Vulnerability Index	2.98	29.4%	37%
Biodiversity Index	3.59	44%	62%
Complementarity (richness)	3.33	45%	54%
Complementarity (rarity)	3.24	45.9%	53%

^a Average number of representations per species.

^b Percentage of species with five or fewer grid cell records in the data set all of whose grid cell records fall within the prioritized priority set.

^c Percentage of species with more than five grid-cell records in the data set and with five or more representations in the priority set.

Table 3. Correlation coefficients between some methods (scoring procedures) applied to selecting priority areas for conservation. All coefficients were significant at $p < 0.05$ ($n=51$).

	Richness hotspots	Rarity hotspots	Rarity Quality Factor	Vulnerability Index
Rarity hotspots	0.62			
Rarity Quality Factor	0.68	0.97		
Vulnerability Index	0.59	0.69	0.72	
Biodiversity Index	0.89	0.75	0.75	0.6

DISCUSSION

Biodiversity conservation requires a four-stage process (Sarkar and Margules 2002): (1) the selection of adequate features by which biodiversity may be estimated (*surrogacy problem*); (2) the use of these features to order places on the basis of their biodiversity content (*place prioritization problem*); (3) an assessment of the projected long-term future of entities of interest in them (*viability problem*); and (4) the framing of appropriate policies for the management of designated places (*feasibility problem*). In this paper, only the second stage of this process is approached. Our analyses are illustrative, not exhaustive. A similar approach can be taken elsewhere, using either different taxa or criteria.

In the first comparison (the minimum sets of areas needed to represent all water beetle species at least once) the complementarity-based methods for both richness and rarity out-performed all other methods, confirming patterns described for non-aquatic ecosystems and taxa (e.g. Kershaw *et al.*, 1994; Williams *et al.*, 1996; Beger *et al.*, 2003). They were more efficient than scoring procedures and represented all species at least once in almost half the grid cells (see Araujo 1998 for similar results). The scoring approaches required more than 60% of the surveyed surface to represent all the aquatic beetle species. Similarly, Pressey and Nicholls (1989) found that selecting areas downwards from the one ranked highest, based on a variety of different scores, required in most cases more than half of all areas if full representation was to be achieved.

Rarity-based algorithms are generally said to be more effective than greedy algorithms in finding the minimum number of sites to represent all species (see Margules *et al.*, 1988; Kershaw *et al.*, 1994; Williams *et al.*, 1996, Csuti *et al.*, 1997). In this study, both richness and rarity algorithms of complementarity gave very similar results. Nevertheless, the richness-based algorithm was more effective in the first stages of the process (Figure 2). This result agrees with those obtained by Kershaw *et al.* (1994) and Araujo (1998). The greater effectiveness of the richness-based algorithm over the rarity-based algorithm could be explained by the way in which both break the ties. In the rarity-based algorithm (applying the ResNet software), complementarity was used to try to break ties when more than one place containing the rarest under-represented surrogates (species in this case) was identified. And if there was still a tie, it was broken arbitrarily by selecting the first place on the list (lexical order). On the other hand, with the richness-based algorithm, ties for the number of species in the complementarity iterative process were broken by assigning top place to the grid cell with the greatest number of rare species (present in only one grid cell) and secondarily, the richness grid cell. Thus, this algorithm increases the number of multiple representations of the species included in the priority set.

From an evaluation of the performance of the 10 top-priority grid cells identified by the seven different methods, complementarity-based algorithms were again more efficient than the scoring procedures (including the hotspots approaches) to represent conservation targets (see Kiester *et al.*, 1996; Williams *et al.*, 1996; Araujo, 1999 for similar results). Within these, the richness-based algorithm was the most efficient method for finding the largest number of species that can be preserved when the number of sites allowed for protection is restricted. In absolute terms, the richness-based algorithm seems to perform well. The top 10 grid cells from this method represented most of the water beetle species from the study area (95.7%). Furthermore, these areas included all but five rare species, all but one vulnerable species and all but two Iberian endemics. The remaining “gaps” in species representation (9 species) were species under-represented in the database and most of these are trans-Iberian species (present in Europe north of the Pyrenees, the Iberian Peninsula, and north Africa) and can be ignored because they have a widespread distribution outside the study area. However, two southern species (species present in north Africa and in some areas of the Iberian Peninsula, but not extending north of the

Pyrenees) and two Iberian endemics remained unrepresented in the richness-based algorithm' top priority areas. One of them is locally vulnerable and restricted to the southeast of the Iberian Peninsula (*Hydraena bolivari*). Nevertheless, a few species were not included in the priority areas, irrespective of the method used to identify them. As some authors point out (e.g. Moore *et al.*, 2003) complete and efficient representation, especially of narrow-range species, will not be achieved through indicator groups alone. Therefore, priority setting procedures must remain flexible so that new important areas for other taxa could be incorporated as data become available.

The hotspots methods, which have proved successful at getting the biodiversity message across to a multitude of people, were less effective than complementary areas in finding the minimum set of areas that includes representatives of all taxa and in representing conservation targets within a given number of areas. This was also the case with the other scoring procedures used. Furthermore, scoring-based methods despite their advantages (they are simple to develop and adapt, do not rely on complicated computer software and the data needed to develop these systems at a broad scale are relatively easy to obtain), have important limitations. For example, they are highly subjective, lacking accountability and transparency and there is no theoretical basis for producing composite scoring systems; furthermore, they are highly affected by sampling bias and are often inefficient (Pressey and Nicholls, 1989).

Nevertheless, the richness-hotspots method and the Biodiversity Index captured the greatest number of representations per species, although this was due to the high species redundancy among in areas selected. Thus, many of the areas selected by these methods (whose water-bodies were mainly head water streams) were individually very rich in species but had a similar composition. Therefore, many species had multiple representations in the ten grid cells selected by these methods. Moreover, these species were usually widespread. On the contrary, the rarity hotspots included areas containing more restricted species due to the incorporation of habitats such as hypersaline streams in the priority set. For this reason, the number of representations per species was lower. The complementary areas captured a lower number of representations per species than the 10 top-priority areas selected by the richness-hotspots method and the Biodiversity Index, although the complementarity methods combined a good representation of each species with a more complete representation of different species within the priority set (see also Williams *et al.*, 1996).

The high degree of coincidence between the 10 top-priority areas identified by the seven methods applied may be due to the similarity between patterns of richness, rarity and vulnerability in the study area, and this was also evident from the high correlation coefficients between the different scoring approaches. Thus, in general, the richest communities included the rarest and most vulnerable species. The exception was the northeast of the province, whose main water-bodies are hypersaline streams. Despite containing high concentrations of restricted species, these areas were poor in species richness and they were not chosen by the richness hotspots method. Moreover, the coincidence between priority sets may also be due to the way in which the methods

were formulated. For example, the high coincidence between priority sets identified by the richness-hotspots method and the Biodiversity Index and the high correlation between them suggests that the BI was strongly influenced by the richness criterion. This was also the case with the rarity-hotspots method and the RQF index, whose priority sets were similar and which showed a high correlation coefficient. In this case, the rarity criterion (measured as the inverse range-size for all the species present in a given cell) offered similar result to the RQF, even though this index use thresholds of range to classify species according to rarity and an additional rarity-association value for each site. Thus, although the inclusion of an extra weighting for associations of rare species can lead to sites that are likely to have the highest conservation potential being more easily distinguished (Eyre and Rushton, 1989), it unnecessarily complicates a simple exercise and there is a strong correlation between it and the species rarity total.

Grid cells with the highest values were mainly located in three areas, irrespective of the method used: southwest, northeast and the central axis of the province. The southwest is a forested and mountainous area whose water-bodies are mainly streams, the upper stretches of rivers and springs. The central axis of the province, on the other hand, is a flat region dotted with medium-sized and small lagoons. Here, water-bodies are mainly endorreic and karstic complexes in which different lotic and lenitic habitats, and/or fresh and saline waters, occur together. Finally, the main water-bodies in the northeast are hypersaline streams and the middle stretches of rivers. Based on the aquatic systems included in the priority areas, three main types of habitat can be considered to have the highest conservation value: (1) freshwater streams of medium altitude, (2) endorreic and karstic complexes, and (3) hypersaline streams. The analysis suggested that medium altitude streams score highly in general. These habitats have a very rich fauna of aquatic beetles, in particular endemic species (Ribera, 2000). This is the case with streams in the Sierra de Alcaraz, some of which are particularly rich in species and endemisms, such as the Arroyo de la Fuenfría which contains 75 species of water beetle, of which 11 are Iberian endemics (Millán and Aguilera, 2000). On the other hand, hypersaline streams in southeastern Spain, although relatively poor in terms of species richness, are an exceptionally rich habitat in endemic species of water beetle (Sánchez-Fernández *et al.*, 2004). Finally, endorreic and karstic complexes combine a high environmental heterogeneity, which result in a high degree of species richness (Cellot *et al.*, 1994; Townsend *et al.*, 1997). Thus, urgent conservation priorities in the southeast of Spain include these three groups of aquatic systems.

Heuristic procedures such as those explored in this paper have great potential to maximize the efficiency of conservation actions (Csuti *et al.*, 1997). However, the effectiveness of these methods depends on a variety of factors such as: (1) the degree to which conservation priorities based on biodiversity surrogates (water beetles in this case) can be generalized to include elements of the diversity of other taxonomic groups; and (2) the presence of intrinsic and extrinsic factors appropriate to the persistence of each species in the areas selected.

One limitation of this study is that we assume that water beetle distribution is a good surrogate for the diversity of other groups. However, the extent to which water beetles represent the biodiversity content of freshwater ecosystems (*surrogacy problem*) was not assessed (this is also the problem with the vast majority of studies that rely on bioindicators, which have generally used charismatic taxa). Nevertheless, there are numerous reasons for supposing that water beetles are suitable surrogates for aquatic biodiversity (Jeffries, 1988; Ribera and Foster, 1993; Pearson, 1994; Fairchild *et al.*, 2000). On the other hand, the representation of a certain species in the priority set or network of reserves does not assure their persistence or long-term viability (*viability problem*) which depend on many factors, such as the representation goal set for those species, the reserve size, shape and connectedness of reserves, the viability of populations in terms of both size and demographic characteristics, etc. Thus, simple complementarity-based algorithms may fail to select areas where species have higher probabilities of persistence (Nicholls, 1998). Recent attempts to incorporate criteria for persistence into quantitative selection methods or reserve-network design have been described (e.g. Margules and Pressey, 2000; Possingham *et al.*, 2000; Araujo and Williams, 2000; Gaston *et al.*, 2002).

Conservationists, wetland managers, resource managers and developers would all benefit from the provision of a tool for identifying priority sites for biodiversity conservation in aquatic ecosystems. A number of schemes have been developed to identify important sites for biodiversity but few are tailored specifically for inland water habitats. In this sense, this study provides conservationists and managers with an efficient method for identifying priority areas for freshwater biodiversity conservation. In addition, our analysis provides some interesting insights for use in nature conservation policies in the southeast of the Iberian Peninsula and in other semi-arid regions of the Mediterranean Basin.

REFERENCES

- Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005. Assessing conservation priorities for insects: status of water beetles in southeast Spain. *Biological Conservation*, **121**, 79–90.
- Aggarwal A., Garson J., Margules C.R., Nicholls A.O., Sarkar S. 2000. *ResNet Ver 1.1 Manual, Repor.* Biodiversity and Biocultural Conservation Laboratory, University of Texas, Austin.
- Alba-Tercedor J., Sánchez-Ortega A. 1988. Un método rápido y simple para evaluar la calidad ecológica de las aguas corrientes basado en el de Hellawell (1978). *Limnética*, **4**, 51-56.
- Allan J.D., Flecker A.S. 1993. Biodiversity conservation in running waters: Identifying the major factors that threaten destruction of riverine species and ecosystems. *BioScience*, **43**, 32-43.

Araujo M.B. 1998. Avaliação da biodiversidade em conservação. *Silva Lusitana*, **6**(1), 19-40.

Araujo M.B. 1999. Distribution patterns of biodiversity and the design of a representative reserve network in Portugal. *Diversity and Distributions*, **5**, 151-163.

Araujo M.B., Williams P.H. 2000. Selecting areas for species persistence using occurrence data. *Biological Conservation*, **96**, 331-345.

Beger M., Jones G.P., Munday P.L. 2003. Conservation of coral reef biodiversity: a comparison of reserve selection procedures for coral and fishes. *Biological Conservation*, **111**, 53-62.

Cellot B., Dole-Olivier M.J., Bornette G., Pautou G. 1994. Temporal and spatial environmental variability in the Upper Rhône river and its floodplain. *Freshwater Biology*, **31**, 311-325.

Church R.L., Stoms D.M., Davis F.W. 1996. Reserve selection as a maximal covering location problem. *Biological Conservation*, **76**, 105-112.

Crisp M.D., Laffan S., Linder H.P., Monro A. 2001. Endemics in the Australian flora. *Journal of Biogeography*, **28** (2), 183-198.

Csuti B., Polasky S., Williams P.H., Pressey R.L., Camm J.D., Kershaw M., Kiester A.R., Downs B., Hamilton R., Huso M., Sahr K. 1997. A Comparison of Reserve Selection Algorithms Using Data on Terrestrial Vertebrates in Oregon. *Biological Conservation*, **80**, 83-97.

Davis J.A., Rolls S.W., Balla S.A. 1987. The role of the Odonata and aquatic Coleoptera as indicators of environmental quality in wetlands. In: *The Role of Invertebrates in Conservation and Biological Survey* (ed. Mayer J.D.), pp. 31-42. Western Australian Department of Conservation and Land Management: Australia.

Delgado J.A., Soler A.G. 1997. El género *Ochthebius* Leach, 1815 en la cuenca del río Segura (Coleoptera: Hydraenidae). *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **21** (1-2), 73-87.

Delgado J.A., Millán A., Soler A.G. 1992. El género *Hydraena* Kugelann, 1794 en la cuenca del río Segura. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **16**, 71-81.

Eyre M.D., Rushton S.P. 1989. Quantification of conservation criteria using invertebrates. *Journal of Applied Ecology*, **26**, 159-71.

Fairchild G.W., Faulds, A.M., Matta J.F. 2000. Beetle assemblages in ponds: effects of habitat and site age. *Freshwater Biology*, **44** (3), 523-534.

Foster G.N. 1987. The use of Coleoptera records in assessing the conservation status of wetlands. In: *The use of invertebrate community data in environmental assessment* (ed. Luff M.), pp. 8-18. University of Newcastle, Newcastle upon Tyne.

Foster G.N. 1996. Beetles as indicators of wetland conservation quality. In: *Environmental Monitoring, Surveillance and Conservation Using invertebrates* (ed. Eyre M.D.), pp. 33-35. EMS Publications. Newcastle Upon Tyne.

Foster G.N., Eyre M.D. 1992. *Classification and ranking of water beetle communities*. UK Nature Conservation No 1. Joint Nature Conservation Committee: Peterborough.

Foster G.N., Foster A.P., Eyre M.D., Bilton D.T. 1990. Classification of water beetle assemblages in arable fenland and ranking of sites in relation to conservation value. *Freshwater Biology*, **22**, 343-354.

Gaston K.J., Pressey R.L., Margules C.R. 2002. Persistence and vulnerability: retaining biodiversity in the landscape and in protected areas. *Journal of Biosciences*, **27**, 361-384.

Gil E., Montes C., Millán A., Soler A.G. 1990. Los coleópteros acuáticos (Dryopidae & Elmidae) de la cuenca del río Segura. SE de la Península Ibérica. *Anales de Biología*, **16**(5), 23-31.

Hellawell J.M. 1978. Biological surveillance of rivers. Water Research Center, Stevenage.

Jeffries M. 1988. Do water beetle communities reflect the wider freshwater community? A trial run. *Newsletter Balfour-Browne Club*, **42**, 14-17.

Kershaw M., Williams P.H., Mace G.M. 1994. Conservation of tropical antelopes: consequences and efficiency of using different site selection methods and diversity criteria. *Biodiversity and Conservation*, **3**, 354-372.

Kiester A.R., Scott J.M., Csuti B., Noss R. Butterfield B., Sahr K., White D. 1996. Conservation prioritization using gap data. *Conservation Biology*, **10**, 1332-1342.

Kirkpatrick J.B. 1983. An iterative method for establishing priorities for the selection of nature reserves: an example from Tasmania. *Biological Conservation*, **25**, 127-134.

Margules C.R., Usher M.B. 1981. Criteria used in assessing wildlife conservation potential: a review. *Biological Conservation*, **21**, 79-109.

Margules C.R., Pressey R.L. 2000. Systematic conservation planning. *Nature*, **405**, 243-253.

Margules C.R., Nicholls A.O., Pressey R.L. 1988. Selecting networks of reserves to maximise biological diversity. *Biological Conservation*, **43**, 63-76.

Master L.L., Flack S.R., Stein B.A. 1998. *Rivers of Life: Critical Watersheds for Protecting Freshwater Biodiversity*. The Nature Conservancy, Arlington, Virginia.

Médail F., Quézel P. 1997. Hot-spots analysis for conservation of plant biodiversity in the Mediterranean basin. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **84**, 112-127.

Millán A., Moreno J. L., Velasco J. 2001a. Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos de las lagunas de Albacete (Alboraj, Los Patos, Ojos de Villaverde, Ontalafia y Pétrola). *Sabuco*, **1**, 43-94.

Millán A., Moreno J. L., Velasco J. 2001b. Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos de las lagunas y humedales de Albacete (Lagunas de Ruidera, Salinas de Pinilla, Laguna del Saladar, Laguna del Salobrelejo, Lagunas de Corral Rubio, Fuente de Isso y Fuente de Agua Ramos). *Sabuco*, **2**, 167-214.

Millán A., Moreno J. L., Velasco J. 2003. *Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos y semiacuáticos de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses, Albacete.

Millán A., Velasco J., Vidal-Abarca M.R., Suárez M.L., Ramírez-Díaz L. 1996. Distribución espacial de los Adepaga acuáticos (Coleoptera) en la cuenca del río Segura (SE de la Península Ibérica). *Limnetica*, **12** (2), 13-30.

Mittermeier R.A., Myers N., Thomsen J.B., da Fonseca G.A.B., Olivieri S., 1998. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: Approaches to setting conservation priorities. *Conservation Biology*, **12**, 516-520.

Moore J.L., Balmford A., Brooks T., Burgess N. D., Hansen L. A., Rahbek C., Williams P.H. 2003. Performance of Sub-Saharan Vertebrates as Indicator Groups for Identifying Priority Areas for Conservation. *Conservation Biology*, **17** (1), 207-218.

Myers N. 1988. Threatened biotas: 'hot-spots' in tropical forests. *The Environmentalist*, **8**, 187-208.

Myers N., Mittermeier R. A., Mittermeier C. G., Da Fonseca G. A. B., Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853-858.

Nicholls A.O. 1998. Integrating populations abundance, dynamics and distributions into broad-scale priority setting. In: *Conservation in a Changing World* (eds. Mace G.M. *et al.*), pp. 251-272. Cambridge University Press.

Nores C., García Alvarez E. 2000. Índice de valoración del territorio basado en la acumulación de especies amenazadas. *Naturalia Cantabrigiae*, **1**, 63-66.

Noos R.F. 1990. Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology*, **4**, 355-364.

Pearson D.L. 1994. Selecting indicator taxa for the quantitative assessment of biodiversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B*, **345**, 75-79.

Pearson D.L., Cassola F. 1992. World-wide Species Richness Patterns of Tiger Beetles (Coleoptera: Cicindelidae): Indicator Taxon for Biodiversity and Conservation Studies. *Conservation Biology*, **6** (3), 376-390.

Possingham H.P., Ball I., Andelman S. 2000. Mathematical methods identifying representative reserve networks. In: *Quantitative methods for conservation biology* (eds. Ferson S., Burgman M.), pp. 291-305. Springer-Verlag, New York.

Prendergast J.R., Quinn R.M., Lawton J.H., Eversham B.C., Gibbons D.W. 1993. Rare species, the coincidence of diversity hotspots and conservation strategies. *Nature*, **365**, 335-337.

Pressey R.L., Nicholls A.O. 1989. Efficiency in conservation evaluation: scoring versus iterative approach. *Biological conservation*, **50**, 199-218.

Pressey R. L., Humphries C. J., Margules C. R., Vane-Wright R. I., Williams P. H., 1993. Beyond opportunism: key principles for systematic reserve selection. *Trends in Ecology and Evolution*, **8**, 124-128.

Quézel P., 1995. La flore du bassin mediterranea en: origine, mise en place, endemisme. *Ecologia Mediterranea*, **21**, 19-39.

Rebelo A.G., Siegfried W.R. 1992. Where should nature reserves be located in the Cape Floristic Region, South Africa? Models for the spatial configuration of a reserve network aimed at maximising the protection of floral diversity. *Conservation Biology*, **6**, 243-252.

Rey-Benayas J.M., de la Montaña E. 2003. Identifying areas of high-value vertebrate diversity for strengthening conservation. *Biological Conservation*, **114** (3), 357-370.

Reyers B., Jaarsveld A.S. 2000. Assessment techniques for biodiversity surrogates. *South African Journal of Science*, **96**, 406-408.

Ribera I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, **92**, 131-150.

Ribera I, Hernando C., Aguilera P. 1999. An Annotated checklist of the Iberian water beetles (Coleoptera). *Zapateri*, **8**, 43-111.

Ribera I., Foster G. 1993. Uso de Coleópteros acuáticos como indicadores biológicos (Coleoptera). *Elytron*, **6**, 61-75.

Ricciardi A., Rasmussen J.B. 1999. Extinction rates in north American freshwater fauna. *Conservation Biology*, **13**, 1220-1222.

Ricketts T.H., Daily G.C., Ehrlich P.R. 2002. Does butterfly diversity predict moth diversity? Testing a popular indicator taxon at local scales. *Biological Conservation*, **103**, 361-370.

Rosenberg D.M., Resh V.H. 1992. *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Chapman and Hall, London.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Velasco J., Millán A. 2003. *Los coleópteros acuáticos de la región de Murcia. Catálogo faunístico y áreas prioritarias de conservación*. Monografías SEA, vol. 10, Zaragoza.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Barahona J., Velasco J., Millán A. 2004. El regadío amenaza a los mejores ecosistemas acuáticos de Murcia. *Quercus*, **215**, 68-69.

Sarkar S., Aggarwal A., Garson J., Margules C.R., Zeidler J. 2002. Place prioritization for biodiversity content. *Journal of Biosciences*, **27**, 339-346.

Sarkar S., Margules C.R. 2002. Operationalizing Biodiversity for Conservation Planning. *Journal of Biosciences*, **27**, 299 -308.

Townsend C.R., Doledec S., Scarsbrook M.R. 1997. Species traits in relation to temporal and spatial heterogeneity in streams: a test of habitat templet theory. *Freshwater Biology*, **37**, 367-387.

Underhill L.G. 1994. Optimal and suboptimal reserve selection algorithms. *Biological Conservation*, **70**, 85-87.

Vane-Wright R.I., Humphries C.J., Williams P.H. 1991. What to protect? Systematics and the Agony of Choice. *Biological Conservation*, **55**, 235-254.

Williams P., Gibbons D.W., Margules C.R., Rebelo A., Humphries C.J., Pressey R.L. 1996. A comparison of richness hotspots, rarity hotspots and complementary areas for conservation diversity of British birds. *Conservation Biology*, **10**, 155-174.

Chapter 3

Effectiveness of protected area networks in representing freshwater biodiversity: the case of a Mediterranean river basin (SE Spain)

Abstract

Biodiversity is probably at greater risk in freshwater systems than in other ecosystems. Although protected areas (PAs) play a vital role in the protection of biodiversity and are the mainstay of most conservation policies, the coverage of biodiversity by existing PA networks is often inadequate and few reserves are created taking into consideration freshwater biota. In this paper an attempt is made to address the performance of protected areas in the context of freshwater biodiversity conservation using data records for water beetles in a Mediterranean river basin. Although current protected area system in the study area cover a relatively high number of water beetle species, the distribution and extent of reserves is still inadequate or insufficient to protect freshwater biodiversity, especially species of conservation concern. Alternative area-selection methods (hotspots and complementary) were more efficient than PAs for representing water beetles. Within these, complementarity was the most efficient approach, and was able to represent all species in a significantly lower area than current PA network. On the other hand, the future Natura 2000 Network will result in a great increase in the total area of protected land as well as in the biodiversity represented. Unfortunately, the occurrence of a species within a protected area is not a guarantee of long-term survival because the extent of PAs is often insufficient and disturbances occur outside park boundaries. Thus, whole-catchment management and natural-flow maintenance are indispensable strategies for freshwater biodiversity conservation.

INTRODUCTION

Biodiversity is at greater risk in freshwater systems than in other ecosystems (Allan and Flecker, 1993; Master *et al.*, 1998; Ricciardi and Rasmussen, 1999; Saunders *et al.*, 2002). For example, of more than 200 freshwater, wetland and water margin vertebrate species, most species were found to be in decline (WCMC, 1998). This is particularly important in the Mediterranean Basin, which is considered as one of Earth's hotspot areas for biodiversity (Quézel, 1995; Mittermeier *et al.*, 1998; Myers *et al.*, 2000), and where landscapes have been subject to strong human influence for millenia (Naveh and Lieberman, 1984). The transformation of agricultural landscapes, moving from extensive to intensive farming, has accelerated during this century, leading to the progressive loss of island water habitats (Hollis, 1995; Stoate *et al.*, 2001). One example of this rapid transformation is the southeast of the Iberian Peninsula. Because the scarcity of surface water is a distinguishing feature of this region, aquatic ecosystems are especially important, some of them being particularly rich in rare or endemic species (Moreno *et al.*, 1997; Gómez *et al.*, 2005).

A common approach to prevent the loss of biodiversity is the establishment of protected area systems. Protected areas (PAs) play a vital role in the protection of biodiversity and are the mainstay of most conservation policies. However, socio-economic and aesthetic criteria usually predominate in the choice of PA locations and reserve selection has traditionally been opportunistic, depending on areas becoming available for conservation, political circumstances and local goodwill (Pressey, 1994) and this process is likely to be sub-optimal from the point of view of protecting as many species as possible (Prendergast *et al.*, 1999). In fact, a number of authors have noted that the coverage of biodiversity by existing protected areas is inadequate in several regions throughout the world and at different geographic scales (eg. Bruner *et al.*, 2000; Hopkinson *et al.*, 2000; Powell *et al.*, 2000; Scott *et al.* 2001; Rodrigues *et al.*, 2004). Nevertheless, very few assessments of protected area networks based specifically on their capacity to protect freshwater biodiversity has been carried out (e.g. Keith, 2000), despite the fact that species losses in freshwater habitats are alarmingly high.

Because there is a general paucity of inventory data for freshwater systems and complete inventories in many river basins cannot be expected within the near future, solutions are likely to lie in indirect approaches for evaluating the efficiency of the protected area networks in areas where these data are not available. A common approach to estimating biodiversity in data-poor situations is based on indicator taxa, which uses species distribution data of one or a small group of taxa to predict total biodiversity (Noss, 1990). This approach is based on the general idea of matching species richness patterns between different taxa.

In this paper, an attempt is made to address the performance of protected areas in the context of freshwater biodiversity conservation using data records for water beetles. The group of water beetles is a potentially ideal indicator of aquatic ecosystem biodiversity and meets most of the criteria proposed in the literature for such purposes

(Noss, 1990; Pearson, 1994). Their taxonomy is well known and they have a worldwide distribution. Beetles occupy the complete range of aquatic habitats, inhabiting virtually every kind of fresh and brackish water body from headwaters to salt-marshes and coastal rock pools, from the smallest puddles up to large lakes and swamps, and from streams to irrigation ditches and reservoirs. Furthermore, they show individual species specialisation within habitats. They are present all the year round, sometimes in large numbers. Most species have ecological demands that are sufficiently limited to allow useful predictions to be made about changes in quality and land use history or simply for characterising the community and the habitat (Foster, 1987; Ribera and Foster, 1993; Foster, 1996). In the Iberian Peninsula, water beetles are a well-known group (e.g. Ribera *et al.*, 1998; Ribera, 2000) with a high species richness. They also are one of the best studied group of aquatic insects in the southeast of Iberian Peninsula (e.g. Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003; Millán *et al.*, 2006) and they have already been used as biodiversity indicators for identifying priority areas in this area (Sánchez-Fernández *et al.*, 2004).

Here we investigate how well the protected areas in a Mediterranean river basin cover the distributions of water beetles, which are taken as freshwater biodiversity indicators. For this purpose, the efficiency of the current PA system and the future Natura 2000 Network in representing water beetles is assessed. Furthermore, we examine the performance of protected areas in representing freshwater biodiversity relative to the performance of hypothetical alternative networks selected using other approaches, and explore additional areas to complement the current PA system.

MATERIAL AND METHODS

Study area

The area considered in this analysis is the Segura River Basin, located in the southeast of the Iberian Peninsula and encompassing an area of 18815 km² (Figure 1). This area has a Mediterranean climate and rainfall shows an annual average of around 375 mm. The Segura basin is characterised by frequent and alternating prolonged droughts and major floods. The lithology and geology of the area are very complex, with a predominance of marls and chalk. There are a large number of temporary streams with an irregular flow, usually with highly mineralised water, many of them also eutrophic (Vidal-Abarca *et al.*, 1992). A very important feature of the area in recent times is the very large demand for water for irrigation purposes (Martínez-Fernández *et al.*, 2000), and the increasing load of organic pollution of many of the surface waters in the basin, especially in the lower reaches of the rivers and streams (Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003; Gómez *et al.*, 2005). All these factors combine to produce a situation of high environmental stress.

Water beetle data

All families of water beetles (*sensu* Jäch, 1998) present in the study area were included

in the study. Well-established subspecies were also considered. In order to minimise uncertainty, some species were not included owing to insufficient knowledge of their distribution and/or taxonomy (see Abellán *et al.*, 2005c). Data on species were obtained from the literature and from fieldwork. As far as possible, all published and unpublished data presently known were included. The database included over 5,800 available records (species/site/date records) for 209 aquatic beetle species. Because of the lack of complete and extensive inventory data for other aquatic taxa in the Segura river basin, the water beetle records used in the analysis represent the most comprehensible freshwater biodiversity data currently available for the study area.

Field data were collected between 1981 and 2004 at 423 sites (Figure 1). Most sites were sampled at least twice. The sites selected represent the total diversity of water body types present within the study area. Following Millán *et al.* (2002), these sampling sites were associated with habitat types according to environmental and ecological parameters. Eighteen main types of habitat were distinguished (Table 1).

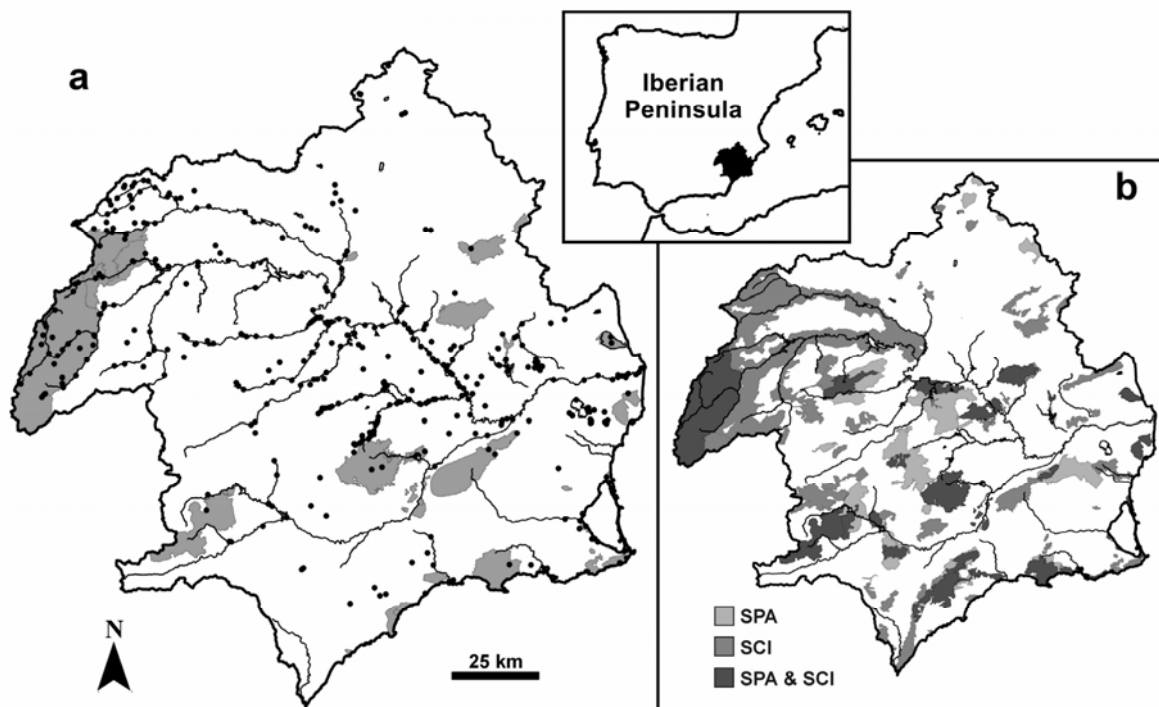


Figure 1. a) Map of the study area showing the main water courses. Location of sampling localities are indicated with a black solid dot and current PAs system is represented as shaded areas. b) Future Natura 2000 Network in the Segura river basin (SCI: proposed Sites of Community Importance; SPA: Special Protection Areas)

For our purposes, three groups of target species were distinguished (hereinafter called species of conservation concern): rare species, Iberian endemics and vulnerable species. A threshold criterion of one UTM 10x10 km grid cell occupied within the study area was used to define locally rare species. A total of 33 Iberian endemics were considered following Ribera *et al.* (1998). To identify vulnerable species, the 209 species recorded in the study area were ranked according to their conservation priority at the regional level under the vulnerability categorisation proposed by Abellán *et al.* (2005b) for water beetles, which take into consideration a set of six variables (general distribution, endemism, rarity, persistence, habitat rarity and habitat loss). Thus, seven species were considered to be “vulnerable” (those belonging to the high vulnerability and very high vulnerability categories; see Abellán *et al.*, 2005b).

Protected area data

The protected areas considered were: (1) current PAs (protected areas classified under the legislation of the different Spanish autonomous regions) and (2) future Natura 2000 Network within the Segura River Basin.

In Spain, many of the nature conservation responsibilities belong to autonomous governments. However, regional laws differ in the types of designation for protected areas which result in different degrees of protection. Because the Segura basin involves, at least partially, four autonomous regions of Spain, different figures of protected areas designated under the different regional laws fall within the study area. In the present paper, all of them were considered as “protected areas”. Thus, several GIS data layers, supplied by regional conservation agencies, were edited and combined to produce a single layer of current protected areas.

On the other hand, the Natura 2000 Network forms the core of measures to protect biodiversity in Europe. Under the EU “Habitats Directive” (EU Council Directive 92/43/EEC), Member States are required to prepare and propose to the European Commission (EC) a national list of sites of community importance (pSCIs). These will eventually be designated by the Member States as special areas of conservation (SACs) (Article 4.4). These SACs, together with Special Protection Areas (SPAs) designed under the Birds Directive (79/409/EEC), will collectively form the future Natura 2000 Network (Article 3.1 of the Habitats Directive).

Effectiveness assessment

We examined the performance of the current PA system and the future Natura 2000 Network in terms of capturing freshwater biodiversity, as represented by the 209 water beetle species, by spatial overlay of the species-location records and the protected area data layers in the GIS software Arcview 3.1 (ESRI inc.). The effectiveness of each network of protected areas in the representation of water beetle species (all species, rare species, Iberian endemics and vulnerable species) was evaluated using two

different measures. First, a species was considered as protected when at least one of its capture records fell within the boundaries of a protected area. This is the most traditional measure of effectiveness (Rodrigues *et al.*, 1999), but may be misleading if the species are only represented at sites that are inadequate to ensure their persistence (Gaston *et al.*, 2001). As a second measure of effectiveness, we took viability considerations into account and determined the number of species with two or more capture records (site/date) in the protected area system. The underlying assumption is that the repeated occurrence of a species in different sampling dates within a given protected area and/or the occurrence of a species in at least two protected areas of the network provides a better measure of the effectiveness in retaining species over time. For this, species with only one capture record in the data set (eleven species) were removed from the analysis.

Furthermore, the performance of protected area systems was compared with hypothetical networks selected by alternative methods. First, a number of UTM 5x5 km grid cells representing an equivalent area (i.e. 74 cells for the current PA system and 216 cells for the Natura 2000 Network) were chosen at random. This network of random areas was taken as a guide to the maximum number of species that might be expected to be represented by chance and was achieved through Monte Carlo randomisations (1000 times) with EstimateS software (Colwell, 2005). Furthermore, 20 of the 213 5x5 km grid-cells where species have been recorded were selected by different area-selection methods: hotspots and complementary areas. This number (20 grid cells) is arbitrary but convenient for comparing the results of the area selection methods with the PA system. The area represented by 20 cells is about 3% of the total area of Segura Basin and about 10% of the area surveyed.

Hotspots were calculated for richness (sum of species occurrence records in each grid cell) and range-size rarity hotspots (see Abellán *et al.*, 2005c for details). Complementarity refers to the degree to which an area contributes otherwise unrepresented attributes (e.g. species) to a set of areas (Vane-Wright *et al.* 1991) and it is used to seek sets of areas that, in combination, show the highest representation of diversity. Complementarity was used to maximise the number of species represented within a given number of areas (20 grid cells in this case). The complementarity analysis was performed using the ResNet software package (Aggarwal *et al.*, 2000; see also Sarkar *et al.*, 2002), which uses a heuristic technique and is a variation of one originally proposed by Margules *et al.* (1988) (see Abellán *et al.*, 2005c for details).

In addition, the complementarity approach was used to investigate the minimum set of cells that represent all species, and to identify the priority areas for eliminating gaps in the representation of freshwater biodiversity. For this last purpose, the cells with protection (i.e. those cells whose sampling localities fall within the boundaries of protected areas) were preselected and the species they contain removed from the analysis. Thus, we explored additional areas to complement the current PA system.

Table 1. Representation of habitat types in sampling localities included within the protected area system, the Natura 2000 Network and area sets identified according to alternative selection methods in the study area.

Habitat type	No. localities	PAs system	Natura 2000	Representation				
				Richness hotspots	Rarity hotspots	Complementary areas	Complementary areas (full representation)	
Headwater streams	64	19 (29.7%)	51 (79.7%)	24 (37.5%)	10 (15.6%)	10 (15.6%)	15 (23.4%)	
Middle reach streams	75	16 (21.3%)	51 (68%)	16 (21.3%)	4 (5.3%)	7 (9.3%)	10 (13.3%)	
Middle course of rivers	23	3 (13%)	16 (69.6%)	—	—	1 (4.3%)	1 (4.3%)	
Rivers influenced by dams	11	—	7 (63.6%)	1 (9.1%)	—	—	—	
Eutrophic streams	12	—	3 (25%)	—	—	—	—	
Saline streams	57	5 (8.8%)	14 (25%)	2 (3.5%)	2 (3.5%)	2 (3.5%)	3 (5.3%)	
Springs	25	6 (24%)	14 (56%)	1 (4%)	4 (16%)	4 (16%)	4 (16%)	
Irrigation channels	7	2 (28.6%)	2 (28.6%)	—	2 (28.6%)	2 (28.6%)	2 (28.6%)	
Reservoirs	12	2 (16.7%)	8 (66.7%)	2 (16.7%)	—	—	—	
Irrigation pools	44	1 (2.3%)	3 (6.8%)	—	3 (6.8%)	1 (2.3%)	2 (4.5%)	
Karstic lagoons	1	1 (100%)	1 (100%)	—	1 (100%)	1 (100%)	1 (100%)	
Endorreic lagoons	6	1 (16.7%)	4 (66.7%)	1 (16.7%)	3 (50%)	2 (33.3%)	2 (33.3%)	
Pools, ponds and other wetlands	44	16 (36.4%)	19 (43.2%)	2 (4.5%)	14 (31.8%)	14 (31.8%)	14 (31.8%)	
Continental salt-pans	6	2 (33.3.6%)	3 (42.9%)	—	—	1 (16.7%)	1 (16.7%)	
Channelled rivers	26	—	1 (3.8%)	—	1 (3.8%)	—	—	
Rice-fields	2	—	2 (100%)	—	—	—	—	
Coastal salt-pans	6	4 (66.7%)	5 (83.3%)	—	3 (50%)	3 (50%)	3 (50%)	
Rocks pools	2	1 (50%)	1 (50%)	—	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	

RESULTS

The current protected area network in the Segura Basin covers over 1850 km² or 9.7% of the total area through 26 reserves with different types of protection (Figure 1). Of these, only six should be considered as created specifically for the conservation of inland water biota. Another six PAs should be considered as “mixed reserves”, created to protect both freshwater and forest or both marine and inland water biodiversity at the same time. Forest reserves are the most abundant, and also cover the largest area. Similarly, coastal reserves are very abundant.

A total of 169 (80.9%) species were found within the current protected area system, of which 12 (50%) are rare, 27 (81.81%) are Iberian endemics and 5 (71.43%) are vulnerable (Table 2). However, when we took viability considerations into account (considering as covered those species with at least two capture records in the network), the number of species within the PA system decreased considerably (Table 3). In both cases, most of the under-represented taxa were mostly restricted-range species (i.e. species that occur in five or fewer 5x5 grid cells in the data set). Nevertheless, the PA network included a significantly greater number of species than the randomly chosen areas (Tables 2 and 3).

The most poorly represented habitats were saline streams (excluding some man-made habitats such as irrigation pools or rice-fields) and middle courses of rivers (Table 1). On the other hand, high and medium altitude water bodies (such as headwater streams and springs), coastal and continental salt-pans and wetlands were the best-represented habitat types. However, most of the under-represented species occur principally in headwater streams, indicating that the representation of this habitat within the PA system is still insufficient.

Tables 2 and 3 show the number and percentage of total species, rare species, Iberian endemics and vulnerable species included in the priority sets (20 grid cells) identified according to each one of the three methods applied. In both measures of effectiveness, alternative area-selection methods (hotspot and complementarity) were more efficient than PAs to represent overall species richness as well as to cover species of conservation concern. Although richness hotspots were more effective in covering overall species richness than rarity hotspots, these last generally took in a larger number of species of conservation concern. Nevertheless, the complementarity analysis was the most effective method for representing species. The species-richest areas are located almost exclusively in the north-west half of the basin, in many cases associated with headwater systems at medium-high altitudes (Table 1). On the contrary, the areas identified as rarity hotspots and complementary areas have a more dispersed distribution in the study area, also covering lowlands and coastal habitats (Figure 2 and Table 1).

Given the goal of representing all species, the complementary approach was able to define an alternative network for full representation (at least one capture record of each species) with only 25 5x5 km grid cells or 625 km² (Table 2 and Figure 2). This

represents a third of the area cover by the PA system. On the other hand, 37 grid cells (925 km²) were necessary to cover all species with at least two capture records using complementarity (Table 3), which represents half of the current PA system area.

Table 2. Numbers and percentages of total species, rare species, Iberian endemics and vulnerable species included in the protected areas (current PA system and future Natura 2000 Network) and area sets identified according to alternative selection methods. The area (and percentage) of the Segura river basin covered by the different area sets is also indicated.

	Area (km ²)	Representation achieved			
		Total Species (209)	Rare Species (24)	Iberian endemics (33)	Vulnerable species (7)
Current PAs	1850 (9.7%)	169 (80.9%)	12 (50%)	27 (81.81%)	5 (71.43%)
Natura 2000	5397 (28.4%)	207 (99%)	22 (91.7%)	33 (100%)	7 (100%)
Random areas ^a	1850 (9.7%)	114 (54.5%)	2 (8.3%)	14 (42.4%)	1 (14.3%)
Random areas ^b	5400 (28.4%)	163 (78%)	7 (29.2%)	23 (69.7%)	3 (42.9%)
Richness hotspots	500 (2.6%)	182 (87.08%)	14 (58.33%)	29 (87.88%)	4 (47.14%)
Rarity hotspots	500 (2.6%)	181 (86.6)	19 (79.2%)	30 (90.9%)	7 (100%)
Complementary areas	500 (2.6%)	201 (96.2%)	23 (95.8%)	33 (100%)	7(100%)
Complementary areas (full representation)	625 (3.2%)	209 (100%)	24 (100%)	33 (100%)	7 (100%)

^a Random set of 5x5 km grid cells representing an equivalent area to current PAs system (i.e 74 cells)

^b Random set of 5x5 km grid cells representing an equivalent area to Natura 2000 Network (i.e 216 cells)

Table 3. Numbers and percentages of total species, rare species, Iberian endemics and vulnerable species included in the protected areas (current PA system and future Natura 2000 Network) and area sets identified according to alternative selection methods taking viability consideration into account (see Methods). The area (and percentage) of the Segura river basin covered by the different area sets is also indicated.

	Area (km ²)	Representation achieved			
		Total Species (198)	Rare Species (13)	Iberian endemics (29)	Vulnerable species (4)
Current PAs	1850 (9.7%)	139 (70.2%)	7 (53.8%)	23 (79.3%)	3 (75%)
Natura 2000	5397 (28.4%)	187 (94.4%)	11 (84.6%)	29 (100%)	4 (100%)
Random areas ^a	1850 (9.7%)	113 (50.1%)	1 (7.7%)	14 (48.3%)	1 (25%)
Random areas ^b	5400 (28.6%)	161 (81.3 %)	4 (30.8%)	22 (75.9%)	3 (75 %)
Richness hotspots	500 (2.6%)	158 (79.8%)	6 (46.2%)	25 (86.2%)	2 (50%)
Rarity hotspots	500 (2.6%)	147 (74.2%)	9 (69.2%)	24 (82.8%)	3 (75%)
Complementary areas	500 (2.6%)	165 (83.3%)	10 (76.9%)	26 (89.7%)	4 (100%)
Complementary areas (full representation)	925 (4.9%)	198 (100%)	13 (100%)	29 (100%)	4 (100%)

^a Random set of 5x5 km grid cells representing an equivalent area to current PA system (i.e 74 cells)

^b Random set of 5x5 km grid cells representing an equivalent area to Natura 2000 Network (i.e 216 cells)

On the other hand, when the contribution of existing protected areas (by pre-selecting cells with protection) are considered, the extra number of 5x5 grid cells needed to represent all species are nine. Nevertheless, when we took viability considerations into account, 19 grid cells were necessary to cover all species with at least two capture records (Figure 3). These cells should be considered as priority areas for eliminating gaps in the representation of freshwater biodiversity in protected areas, which include some headwater streams of special biodiversity value not covered by the current PA system as well as habitats under-represented such as endorreic lagoons and saline streams.

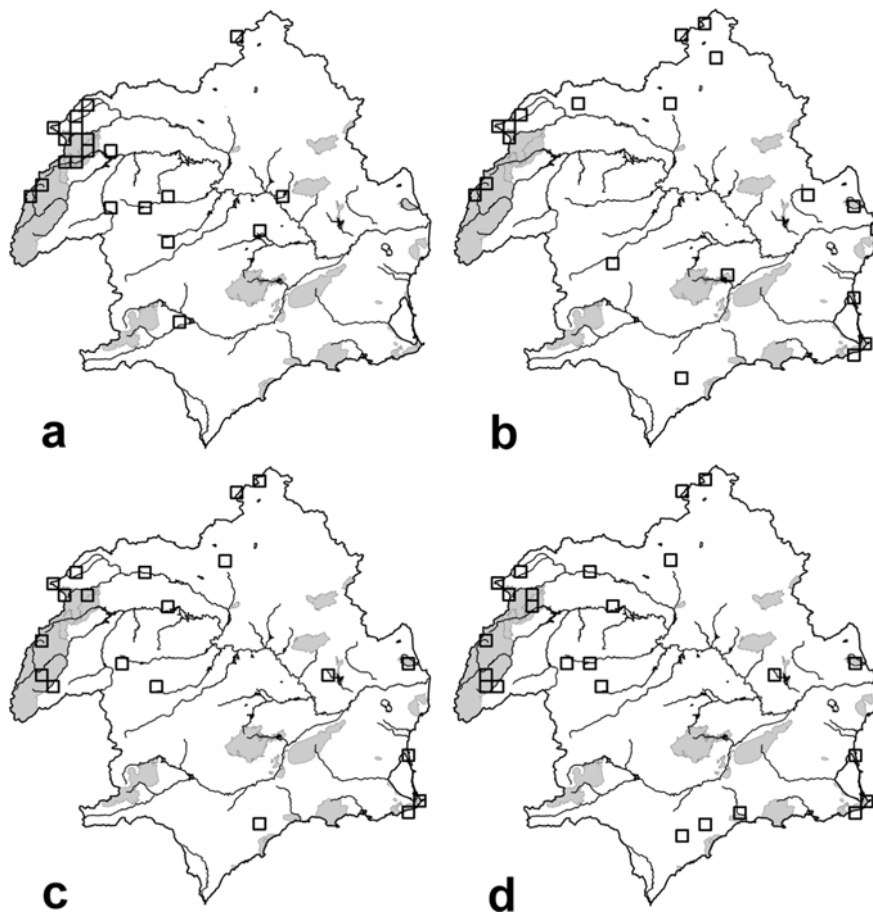


Figure 2. Distribution of the priority sets chosen by the alternative area-selection methods. In a, b and c are shown the 20 grid cells selected as richness hotspots, rarity hotspots and complementary areas, respectively. In d a complementary set of areas representing all species at least once is shown.

To date, the Natura 2000 Network in the study area (excluding marine environments) is composed of 67 proposed Sites of Community Importance (pSCIs) covering over 4600 km² (23% of the basin) and 22 Special Protection Areas (SPAs) covering over 2772 km² (14.6% of the territory). As sites belonging to different

categories (pSCIs or SPAs) may overlap totally or partially, the real extent of the whole network is around 5397 km² (Figure 1b). This represents about 28.4% of the Segura basin and an increase of about 192% of the protected land area. In terms of biodiversity representation, a high percentage of species fall within this reserve system, all Iberian endemics and vulnerable species being covered (Tables 2 and 3). These values are also significantly greater than those obtained for a number of grid cells representing an equivalent area and randomly chosen (Table 3). Nevertheless, this species representation can only be achieved through the pSCIs, and the incorporation of SPAs in the analysis, despite increasing the extent of the whole network, did not include more species. On the other hand, the Natura 2000 Network will include a more complete representation of habitat types than the current PA system, better covering habitats currently under-represented such as middle courses of rivers, endorreic lagoons and saline streams.

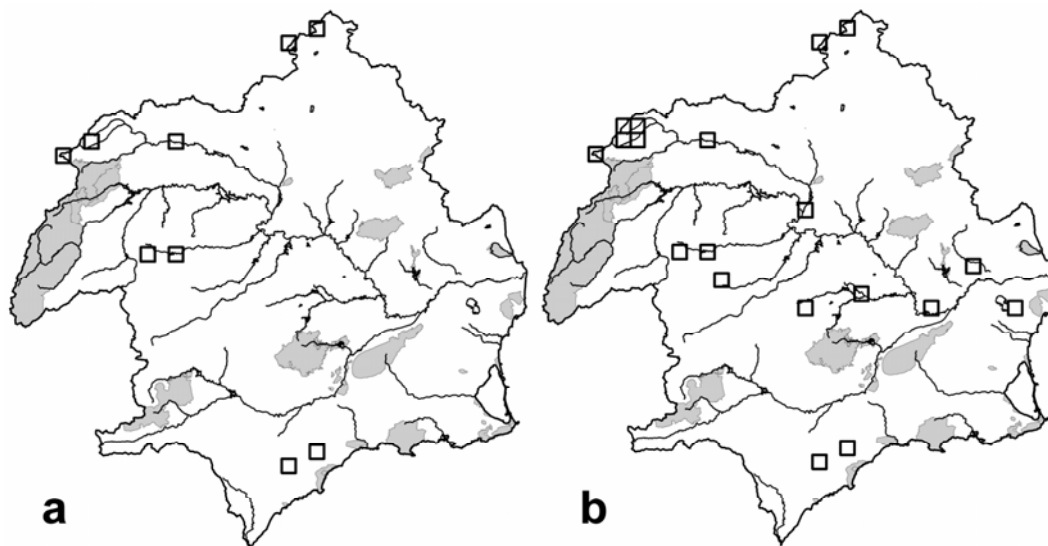


Figure 3. Complementary sets of areas for eliminating gaps in the representation of species in the current PA system. In a complementary areas needed to represent all species at least once (one capture record) are shown and in b complementary areas necessary to cover all species with at least two capture records.

DISCUSSION

Although the current PA network in the Segura river basin covers a relatively high number of water beetle species, the distribution and extent of reserves is still inadequate or insufficient to protect freshwater biodiversity, since many of the species of conservation concern (rare, endemic and vulnerable species) remain under-represented. This is underlined when viability considerations are taken into account to consider a species as represented in the PA system. Certainly, this lack of efficiency is related with the criteria used to designate reserves. The establishment of the first

protected areas in the study area was mainly carried out using criteria other than biodiversity (sublime landscapes, wildernesses, etc.) (Morillo & Gómez-Campo, 2000), though such reference sets may not be repositories of high biodiversity (Pressey, 1994). Over the past decade, as a response to the growing awareness of the need to conserve biodiversity, regional governments started to fill in gaps in the types of habitat that were covered, and issues such as high levels of endemism and the conservation of rare or threatened habitat and species have been given greater consideration. Nevertheless, PA designation has been biased towards particular groups of organisms, such as terrestrial vertebrates (specially charismatic or threatened birds and mammals) and higher plants.

Thus, efforts to conserve freshwater biodiversity (excepting waterbirds) have often been lacking or ineffective and protected areas have usually been created with little consideration for the needs of aquatic species (Saunders *et al.*, 2002). This is highlighted by the low number of PAs created specifically for the conservation of inland water biodiversity within the study area. Similarly, the higher representation of water bodies typical of forest systems (headwater streams and springs) with respect to other habitats such as saline streams or middle courses of rivers emphasise this polarisation towards terrestrial systems in the establishment of reserves. Similarly, the high representation of some coastal habitats is really a consequence of the efforts to conserve some waterbirds or marine habitats rather than the inland water systems included.

Not surprisingly, methods explicitly tailored to deal with representation problems (hotspots and complementary) were more efficient than PAs and Natura Network to represent the taxa in a smaller area. Within these, complementarity was the most efficient approach (see Kiester *et al.*, 1996; Williams *et al.*, 1996; Araujo, 1999; for similar results) and was able to represent all species in a significantly smaller area than the current PA system. In fact, complementarity approaches have been regarded as the most efficient methods to represent conservation targets using water beetle data (Abellán *et al.*, 2005c).

The effectiveness of the different area sets in representing biodiversity was related to the diversity and quality of the habitats. Certainly, PAs tend to include more different and pristine habitats than randomly chosen areas. Similarly, complementary areas and rarity hotspots encompassed a greater habitat diversity than richness hotspots, which included almost exclusively headwaters and middle reach streams (see Table 1). Thus, the incorporation of less species-rich systems such as saline streams, ponds or coastal habitats resulted in an increase of the species representation (see also Abellán *et al.*, 2005c). The fact of that Natura Network (which represented more species than PAs) included some human-made habitats that were lacking in the PAs system might suggest that an ideal area set to represent the greatest amount of species should encompass all kinds of human stress from none to heavily impacted. However, species inhabiting human-made habitats also occur in natural systems, which is corroborated with the fact that alternative area sets (such as

complementary areas) which did not include these anthropogenic environments were able to include all species (Table 1).

On the other hand, besides the efficiency of complementarity in species representation, the size of reserves may have a bearing on these results. It has been demonstrated that an atomisation of small reserves would contain more species than a single large reserve of equal area (Simberloff and Abele, 1982) and that the minimum percentage of total area needed to represent all species decreases with the decreasing size of the unit (Rodrigues and Gaston, 2001). However, in order to ensure that the reserve networks selected fulfil their role of maintaining biodiversity over time, the size of selection units must be one at which the populations of species are likely to persist, and these small areas, defined by 5x5 km grid cells, would be inadequate for the conservation of the freshwater biodiversity that they contain. Thus, caution should be exercised in the interpretation and implementation of the results obtained when selecting minimum complementary sets (Rodrigues and Gaston, 2001). Despite this, results obtained with the complementarity approach may be particularly useful when used to identify gaps in the PA systems and as post-hoc procedures to evaluate the efficiency of current selections (Araujo, 1999). In this sense, our analysis provides conservationists and managers with some interesting insights for freshwater biodiversity conservation in the study area.

The future Natura 2000 Network will result in a large increase in the amount of protected land as well as in the species represented. Since the species representation achieved does not only seem to be a consequence of the considerable increases in the extent of protected land (compared with random areas), these results may be related with designation criteria. Sites proposed as SACs have been selected on the basis of priority habitats and species listed in Annexes I (habitats) and II (species) of the "Habitats Directive" (EU Council Directive 92/43/EEC 1992). Thus, sites designation is based on a combination of habitat and species representation, rarity, conservation status, potential for restoration, and "ecological value" at the global scale.

Unfortunately, the role of the Natura 2000 Network in biodiversity conservation is still unclear, since protection measures for these reserves have not explicitly established. SAC designation requires member states to establish conservation measures which correspond to the ecological requirements of Annex I habitats and Annex II species present in the site (Article 6.1; Directive 92/43/EEC 1992), and to take appropriate steps to avoid deterioration of the natural habitats and habitats of species, as well as significant disturbance of species, for which the site is designated. Thus, only if these measures take into consideration freshwater biodiversity will the designation of SACs really be efficient at protecting this biodiversity. However, species considered for SACs designation are still mostly terrestrial vertebrates and few aquatic invertebrates have been listed in Annex II of Habitat Directive (Annex II; Directive 92/43/EEC).

In any case, the Natura 2000 Network offers a good opportunity to avoid the dramatic loss of freshwater biodiversity in the study area. At the same time, recent

regional initiatives are increasing efforts for freshwater biodiversity preservation. New conservation areas (such as Pétrola and Salobralejo lagoons) have been proposed to be designated as protected areas under the autonomous legislation in Castilla La-Mancha region, which could cover most of the species not represented within the current PA system.

Our results illustrate that the effectiveness of species representation for the different network schemes is very sensitive to the threshold defined for considering a species as covered. So, although the simple occurrence analysis might suggest a successful species representation, the second measure of effectiveness casts doubts on species viability in the protected areas and chosen sites. Some protected areas, especially if they are species-rich, can also have a high number of “tourist” species, but this does not mean that its protection will be of any use for the species in the area. Therefore, reserve planning should take viability considerations into account (e.g. Rodrigues *et al.*, 2000; Gaston *et al.*, 2001).

In this sense, it is important to note that the occurrence of a species within a protected area (even with multiple capture records) is not *per se* a guarantee of long-term survival. PAs often fail to address important aquatic concerns such as whole-catchment integrity, hydrology, and introduction of non-native species (Lake 1980; Skelton *et al.*, 1995; Moyle and Randall, 1998). Many activities can occur outside park boundaries and still have negative consequences for freshwater habitats within the park, such as dam building or diverting water for agriculture, land-use disturbances in the catchment area or the introduction of alien species (Saunders *et al.*, 2002).

These limitations can be seen in most of the current and future protected areas in the Segura River Basin designated to protect inland water habitats. The extent of the current freshwater protected areas often involves only the bed, banks and riverside space of reaches of rivers and streams (e.g. Sotos y bosque de ribera de Cañaverosa, Cañón de Amadenes and Rambla Salada), or the inundation space of lagoons and wetlands (e.g. El Hondo, La Mata and Laguna de Alboraj). This is also the case of some of the pSCIs within the study area (e.g. Río Quípar, Río Alharabe and Río Pliego). In fact, many of these PAs are currently altered by flow regulation, the introduction of non-native species and land-use disturbances taking place upstream or in the surrounding area (Sánchez-Fernández *et al.*, 2004). Therefore, occurrence in a protected area is not sufficient to consider a species safe. One example is *Ochthebius glaber*, a species that is globally threatened (Abellán *et al.*, 2005b), with a distribution restricted to hypersaline streams in the south of the Iberian Peninsula. Despite its occurrence in a protected area (Humedal de Ajauque y Rambla Salada), the populations of this species in this park have decreased drastically in the last decade owing to the land-use changes in the catchment area, which have produced non-point source pollution processes and water sweetening (Abellán *et al.* 2005a).

In the Segura river basin, as in other Mediterranean river basins, increase of sediment and nutrient load from agriculture and the alteration of hydrological regimes are the most important threats to inland waters species and habitats (Hollis, 1995;

Millán *et al.*, 2002; Gómez *et al.*, 2005). Therefore, whole-catchment management and natural-flow maintenance are indispensable strategies for freshwater biodiversity conservation and should be taken into consideration in reserve designation for the adequate protection of freshwater biodiversity.

REFERENCES

- Abellán P., Sánchez-Fernández D., Ribera I., Velasco J., Millán A. 2005a. *Ochthebius glaber* (Col: Hydraenidae), un coleóptero acuático endémico de la Península Ibérica con elevada especificidad de hábitat. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **36**, 9-14.
- Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005b. Assessing conservation priorities for insects: status of water beetles in southeast Spain. *Biological Conservation*, **121**, 79–90.
- Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005c. Conservation of freshwater biodiversity: a comparison of different area selection methods. *Biodiversity and Conservation*, **14**, 3457-3474.
- Aggarwal A., Garson J., Margules C.R., Nicholls A.O., Sarkar S. 2000. *ResNet Ver 1.1 Manual*, Biodiversity and Biocultural Conservation Laboratory, University of Texas, Austin.
- Allan J.D., Flecker A.S. 1993. Biodiversity conservation in running waters. *Bioscience*, **43**, 32–43.
- Araujo M.B. 1999. Distribution patterns of biodiversity and the design of a representative reserve network in Portugal. *Diversity and Distributions*, **5**, 151-163.
- Bruner A., Gullison R.E., Rice R.E., Fonseca G.A.B. 2000. Effectiveness of Parks in protecting tropical biodiversity. *Science*, **291**, 125 –128.
- Colwell R.K. 2005. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 7.5. Persistent URL <purl.oclc.org/estimates>
- Foster G.N. 1987. The use of Coleoptera records in assessing the conservation status of wetlands. In: *The use of invertebrate community data in environmental assessment* (ed. Luff M.), pp. 8-18. University of Newcastle, Newcastle upon Tyne.
- Foster G.N. 1996. Beetles as indicators of wetland conservation quality. In: *Environmental Monitoring, Surveillance and Conservation Using invertebrates* (ed. Eyre M.D.), pp. 33-35. EMS Publications. Newcastle Upon Tyne.

Gaston K.J., Rodrigues A.S.L., van Rensburg B.J., Koleff P., Chown S.L. 2001. Complementary representation and zones of ecological transition. *Ecology Letters*, **4**, 4-9.

Gómez R., Hurtado I., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R. 2005. Ramblas in south-east Spain: threatened and valuable ecosystems. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **15**, 387-402

Hollis G.E. 1995. Wetlands and river restoration in Europe and the Mediterranean. In: *Bases Ecológicas para la Restauración de Humedales en la Cuenca Mediterránea*, (eds. Montes C., Oliver G., Molina F., Cobos J.), pp.125–42. Junta de Andalucía, Sevilla.

Hopkinson .P, Travis J., Prendergast J., Evans J., Gregory R., Telfer M., Williams P. 2000. A preliminary assessment of the contribution of nature reserves to biodiversity conservation in Great Britain. *Animal Conservation*, **3**, 11–320.

Jäch M.A. 1998. Annotated check list of aquatic and riparian/littoral beetle families of the world (Coleoptera). In *Water Beetles of China, Vol. II*, Jäch MA, Ji L. (eds.). Zoologisch-Botanische Gesellschaft, Vienna; 25-42.

Keith P. 2000. The part played by protected areas in the conservation of threatened French freshwater fish. *Biological Conservation*, **92**, 265-273.

Kiester A.R., Scott J.M., Csuti B., Noss R., Butterfield B., Sahr K., White D. 1996. Conservation prioritization using gap data. *Conservation Biology*, **10**, 1332–1342.

Lake P.S. 1980. Conservation. In: *An Ecological Basis for Water Resource Management* (ed. Williams W.D.), pp. 163 – 173. ANU press: Canberra.

Margules C.R., Nicholls A.O., Pressey R.L. 1988. Selecting networks of reserves to maximise biological diversity. *Biological Conservation*, **43**, 63-76.

Martínez-Fernández J., Esteve-Selma M.A., Calvo-Sendín J.F. 2000. Environmental and socioeconomical interactions in the evolution of traditional irrigated lands: a dynamic system model. *Human Ecology*, **28**, 279–299.

Master L.L., Flack S.R., Stein BA. 1998. *Rivers of Life: Critical Watersheds for Protecting Freshwater Biodiversity*. The Nature Conservancy: Arlington, Virginia.

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2002. *Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos y semiacuáticos de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses: Albacete.

Millán A., Abellán P., Ribera I., Sánchez-Fernández D., Velasco J. 2006. The Hydradephaga (Coleoptera) of the Segura basin (SE Spain): twenty-five years studying water beetles. *Memorie della Società Entomologica Italiana*, **85**, 137-158.

Mittermeier R.A., Myers N., Thomsen J.B., da Fonseca G.A.B., Olivieri S. 1998. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: Approaches to setting conservation priorities. *Conservation Biology*, **12**, 516–520.

Moreno J.L., Millán A., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R., Velasco J. 1997. Aquatic Coleoptera and Heteroptera assemblages in waterbodies from ephemeral coastal streams ('ramblas') of south-eastern Spain. *Archiv fur Hydrobiologie* **141**, 93–107.

Morillo C., Gómez-Campo C. 2000. Conservation in Spain, 1980-2000. *Biological Conservation*, **95**, 165-174.

Moyle P.B., Randall P.J. 1998. Evaluating the biotic integrity of watersheds in the Sierra Nevada, California. *Conservation Biology*, **12**, 1318–1326.

Myers N., Mittermeier R.A., Mittermeier C.G., Da Fonseca G.A.B., Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853–858.

Naveh Z., Lieberman A. 1984. *Landscape Ecology: Theory and Applications*. Springer-Verlag, New York.

Noss R.F. 1990. Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology*, **4**, 355-364.

Pearson D.L. 1994. Selecting indicator taxa for the quantitative assessment of biodiversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B*, **345**, 75-79.

Powell G., Barborak J., Rodriguez M. 2000. Assessing representativeness of protected natural areas in Costa Rica for conservation biodiversity: a preliminary gap analysis. *Biological Conservation*, **93**, 41–53.

Prendergast J.R., Quinn R.M., Lawton J.H. 1999. The gaps between theory and practice in selecting nature reserves. *Conservation Biology*, **13**, 484–492.

Pressey R.L. 1994. Ad hoc reservations: forward or backward steps in developing representative reserve systems. *Conservation Biology*, **8**, 662–668.

Quézel P. 1995. La flore du basin mediterranea en: origine, mise en place, endemisme. *Ecologia Mediterranea*, **21**, 19-39.

Ribera I., Hernando C., Aguilera P. 1998. An Annotated checklist of the Iberian water beetles (Coleoptera). *Zapateri*, **8**, 43–111.

Ribera I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, **92**, 131–150.

Ribera I., Foster G. 1993. Uso de Coleópteros acuáticos como indicadores biológicos (Coleoptera). *Elytron*, **6**, 61–75.

Ricciardi A., Rasmussen J.B. 1999. Extinction rates in North American freshwater fauna. *Conservation Biology*, **13**, 1220–1222.

Rodrigues A.S.L., Andelman S.J., Bakar M.I., Boitani L., Brooks T.M., Cowling R.M. *et al.* 2004. Effectiveness of the global protected area network in representing species diversity. *Nature*, **428**, 640–643.

Rodrigues A.S.L., Gaston K.J., Gregory R. 2000. Using presence-absence data to establish reserve selection procedures which are robust to temporal species turnover. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **267**, 1-6.

Rodrigues A.S.L., Gaston K.J. 2001. How large do reserve networks need to be? *Ecology Letters*, **4**, 602-609.

Rodrigues A.S.L., Tratt R., Wheeler B.D., Gaston K.J. 1999. The performance of existing networks of conservation areas in representing biodiversity. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **266**, 1453-1460.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Barahona J., Velasco J., Millán A. 2004. El regadío amenaza a los mejores ecosistemas acuáticos de Murcia. *Quercus* **215**, 68-69.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Velasco J., Millán A. 2003. *Los coleópteros acuáticos de la región de Murcia. Catálogo faunístico y áreas prioritarias de conservación*. Monografías SEA, vol. 10, Zaragoza.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Velasco J., Millán A. 2004. Selecting areas to protect the biodiversity of aquatic ecosystems in a semiarid Mediterranean region. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **14**, 465-479.

Sarkar S., Margules C.R. 2002. Operationalizing Biodiversity for Conservation Planning. *Journal of Biosciences*, **27**, 299–308.

Saunders D., Meeuwig J, Vincent A.J. 2002. Freshwater protected areas: Strategies for conservation. *Conservation Biology*, **16**, 30–41.

Scott J.M., Davis F.W., McGhie R.G., Wright R.G., Groves C., Estes J. 2001. Nature reserves: do they capture the full range of America's biological diversity? *Ecological Applications*, **11**, 999–1007.

Simberloff D.S., Abele L.G. 1982. Refuge design and biogeographic theory: effects of fragmentation. *American Naturalist*, **120**, 41–50.

Skelton P.H., Cambray J.A., Lombard A.T., Benn G.A. 1995. Patterns of distribution and conservation status of freshwater fishes in South Africa. *South African Journal of Zoology*, **30**, 71–81.

Stoate C., Boatman N.D., Borralho R.J., Carvalho C.R., Snoo G.R., Eden P. 2001. Ecological impacts of arable intensification in Europe. *Journal of Environmental Management*, **29**, 337–365.

Vane-Wright R.I., Humphries C.J., Williams P.H. 1991. What to protect? Systematics and the Agony of Choice. *Biological Conservation*, **55**, 235–254.

Vidal-Abarca M.R., Suárez M.L., Ramírez-Díaz L. 1992. Ecology of Spanish semiarid streams. *Limnética*, **8**, 151–160.

Williams P., Gibbons D.W., Margules C.R., Rebelo A., Humphries C.J., Pressey R.L. 1996. A comparison of richness hotspots, rarity hotspots and complementary areas for conservation diversity of British birds. *Conservation Biology*, **10**, 155–174.

WCMC. 1998. *Freshwater Biodiversity: a preliminary global assessment*. World Conservation Press, Cambridge.

Chapter 4

Can taxonomic distinctness assess anthropogenic impacts in inland waters? A case study from a Mediterranean river basin

Abstract

It is increasingly recognised that adequate measures of biodiversity should include information on the 'relatedness' of species within ecological assemblages, or the phylogenetic levels at which diversity is expressed. Taxonomic distinctness measures provide a series of indices to achieve this, which are independent of sample size. Taxonomic distinctness has been employed widely in marine systems, where it has been suggested that this index can provide a reliable measure of anthropogenic impact. We tested the behaviour of three related taxonomic distinctiveness indices (Average Taxonomic Distinctness, Δ^+ ; Variation in Taxonomic Distinctness, Λ^+ ; and Total Taxonomic Distinctness, $s\Delta^+$) in relation to putative levels of anthropogenic impact in inland waters and their potential utility in environmental monitoring, using an extensive dataset for aquatic beetles from the southeast of the Iberian peninsula. Taxonomic distinctness measures were not able to identify human disturbance effects and there were no clear relationships between these new biodiversity measures and the disturbance level recorded at individual localities. Furthermore, the taxonomic distinctness measures used were apparently less sensitive to the effects of anthropogenic impact than other diversity metrics, such as species richness and rarity. We conclude that taxonomic distinctness indices may not always perform as well as other metrics in the assessment of environmental quality. In addition, taxonomic distinctness measures should be interpreted with caution, since their performance and ability to detect anthropogenic disturbance may depend on the phylogenetic structure of sampled taxa within a region, and their evolutionary and ecological history.

INTRODUCTION

It is increasingly recognised (e.g. Harper and Hawksworth, 1994; Anand and Orlóci, 1996) that adequate measures of biodiversity should go beyond measures of species richness and evenness, which capture only some aspects of the composition of ecological assemblages. Measures based on richness, abundance or evenness have traditionally been used for assessing the effects of environmental degradation on biodiversity, despite the fact that these can be highly influenced by sample size, sampling effort, habitat type or complexity, and typically do not show monotonic responses to human impact (Leonard *et al.*, 2006). In addition, the structure and the complexity of biotic assemblages are certainly important, and quantification of these aspects can provide valuable information about the status of ecosystems (Tilman *et al.*, 1997). This is the case with measures based on the phylogenetic structure of the assemblage, which differ from more conventional diversity indices by incorporating the degree to which species are evolutionarily related to each other. Under this framework, an assemblage comprising a group of closely related species must be regarded as less diverse than an assemblage of the same number of more distantly related species, for example all belonging to different phyla.

Measures of phylogenetic structure, based on analysis of cladograms of particular groups of organisms, have been advocated widely for the design of protected area networks, in order to conserve sets of species that include as much 'evolutionary history' as possible (e.g. Williams *et al.*, 1991; Faith, 1992; Nee and May, 1997). However, as some authors have pointed out (Clarke and Warwick, 1998; Barker, 2002) the applicability of such phylogenetic measures to a wide range of conservation and resource management issues has not been adequately demonstrated. As a consequence, phylogenetic and related taxonomic measures have seen limited use in environmental monitoring and assessment, where the emphasis is not on choosing species to conserve, but instead on monitoring environmental degradation or the benefits of remediation.

Warwick and Clarke (1995) introduced the concept of taxonomic distinctness, as a measure of the average degree to which individuals in an assemblage are related to each other. The use of taxonomic distances means that the approach can be applied to groups where we still lack robust phylogenies, and also recognises the important role taxonomy may play in community assembly. Clarke and Warwick (1998, 2001) have showed that taxonomic distinctness measures overcome most of the problems of traditional measures of diversity, and have a number of desirable properties as measures of biodiversity in the context of environmental impact assessment. These include their relative independence with sampling effort (which makes their use attractive in spatially extensive or long time-series studies where total sampling effort in different areas or at different times is rarely standardised) and a relatively simple statistical framework against which departures from expected values can be assessed, which enables a comparison to be made between an observed taxonomic distinctness measure and its expected range of variation.

The usefulness of taxonomic distinctness for marine biodiversity assessment has been reported in several studies in recent years (e.g. Piepenburg *et al.*, 1997; Warwick and Clarke, 1998; Hall and Greenstreet, 1998; Rogers *et al.*, 1999; Brown *et al.*, 2002; Warwick and Light, 2002), all suggesting that taxonomic distinctness of degraded locations is significantly reduced when compared with those of relatively pristine locations for different groups of organisms (e.g. benthic nematodes, coastal fishes, echinoderms) and in different regions throughout the world.

Despite this, taxonomic distinctness has seen limited use outside marine ecology, and, in addition, no studies to date have explicitly examined how these indices perform in comparison to other approaches in the detection of anthropogenic impact. Here we attempt this for inland waters in southeast Spain, using data from aquatic Coleoptera, one of the most diverse and best understood groups of freshwater animals in the region (Ribera *et al.*, 1998; Ribera, 2000). Inland waters are among the most endangered ecosystems, both in Europe and worldwide (Allan and Flecker, 1993; Master *et al.*, 1998; Ricciardi and Rasmussen, 1999; Saunders *et al.*, 2002), meaning that evaluation of these measures for assessing the effects of human activities on biological diversity is a crucial task. In addition, such an approach may be particularly useful in the context of the European Water Framework Directive (WFD), which establishes a framework for the protection of all inland and coastal waters and aims to achieve high quality status for all waters by 2015 (EC, 2000). The WFD highlights the importance of measures which can determine the biological effects of disturbance and distinguish different levels of ecological quality to classify surface waters.

In this paper our aim is to determine whether taxonomic distinctness and related indices are useful in environmental monitoring of inland waters, and specifically whether they provide complementary information to existing measures of biodiversity. For this purpose, we use an extensive dataset for water beetles from the southeast of the Iberian Peninsula to test whether these new taxonomic diversity indices reflect changes in species diversity at different habitats types. Water beetles have a number of advantages for environmental monitoring (Foster, 1991; Ribera and Foster, 1993; Bilton *et al.*, 2006; Sánchez-Fernández *et al.*, in press): their taxonomy is well known and they are easily sampled; they occur across the entire spectrum of inland waters, and include species with a wide range of ecological tolerances; they tend to be the dominant macroinvertebrates present in many small inland waters; and their biology and distribution are well understood. In fact, their importance as indicators of spatial and temporal changes in aquatic systems has been demonstrated on a number of occasions (e.g. Bournaud *et al.*, 1992; Richoux, 1994; Eyre *et al.*, 2006). In the Iberian Peninsula, water beetles are a well-known and relatively species-rich group (e.g. Ribera *et al.*, 1998; Ribera, 2000). They also are one of the best studied groups of aquatic insects in the southeast of Iberian Peninsula (e.g. Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003; Millán *et al.*, 2006).

METHODS

Study area and data set

This study was conducted in the Segura river basin, in the southeast of the Iberian Peninsula, encompassing an area of 18,815 km² (Figure 1). The region has a Mediterranean climate, with a mean annual rainfall of around 375 mm. The geology ranges from limestone in the upland headwaters, to salt-rich tertiary marls at intermediate altitudes and in the lowlands, and this shapes the environmental conditions of waterbodies in the area, allowing a wide range of aquatic ecosystems to be present. These include headwater streams, rivers, saline and hypersaline streams, reservoirs, natural wetlands, fresh and saline lagoons and salt-pans or rock-pools (Millán *et al.*, 1996; Gómez *et al.*, 2005).

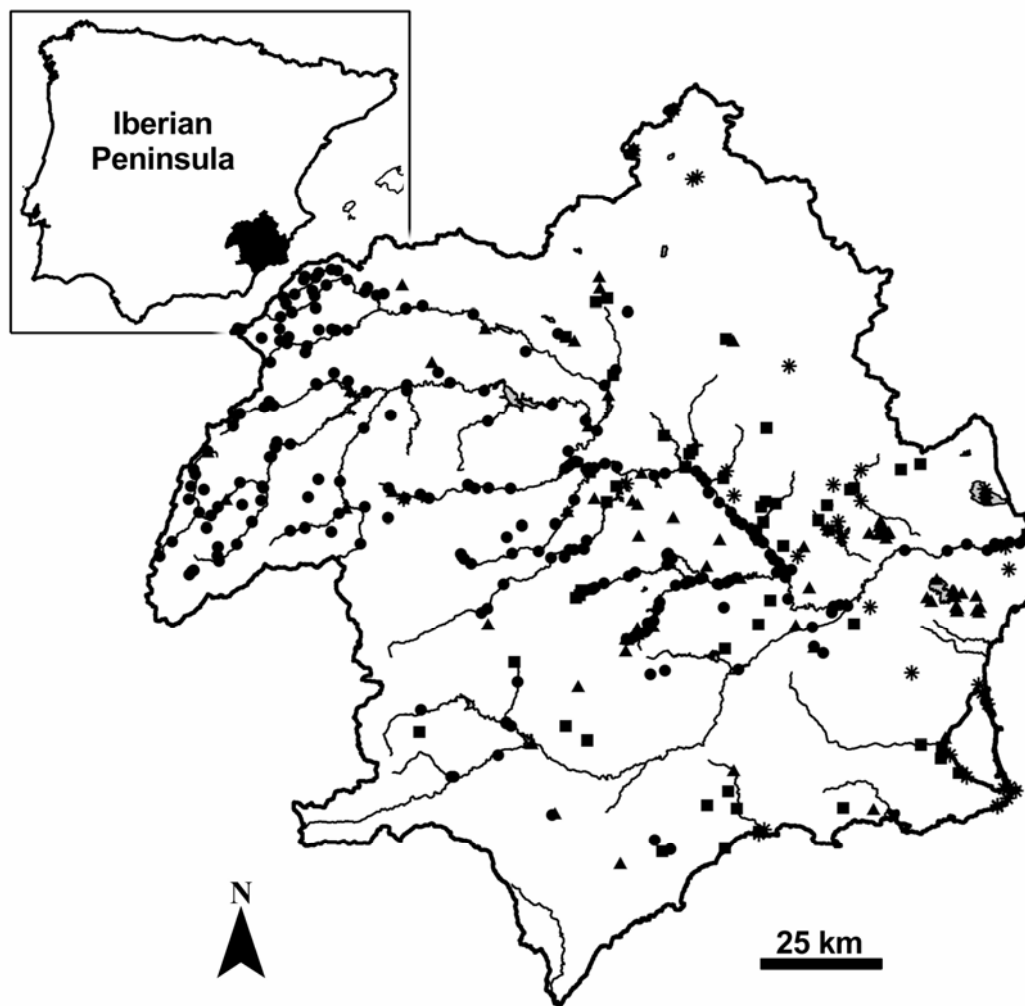


Figure 1. Location of the Segura River Basin and sampling localities. Symbols indicate the habitat type of the sites: circles, lotic freshwaters; squares, lotic saline-waters; triangles, lentic freshwaters; and stars, lentic saline-waters.

All families of Coleoptera in which a substantial proportion of species are linked to water in at least one developmental stage were included in the study. In order to minimise uncertainty, some species were excluded owing to insufficient knowledge of their distribution and/or taxonomy (see Abellán *et al.*, 2005b). Records were obtained from the literature and from fieldwork and, as far as possible, all published and unpublished data presently known were included. The resulting database included over 5,800 available records (species/site/date records) for 209 aquatic beetle species. Such extensive inventory data is not available for other aquatic taxa in the Segura river basin, and the water beetle records used in this analysis represent the most comprehensive freshwater biodiversity data currently available for the region.

Field data were collected between 1981 and 2004 from a total of 422 sites (Figure 1), most of which were sampled at least twice. The sites selected represent all major water body types present within the study area, which are grouped into four major habitat categories for the purpose of this investigation, which reflect the most fundamental ecological divisions present: lotic (n = 245) and lentic (n = 54) freshwaters and lotic (n = 82) and lentic (n = 41) saline-waters.

Taxonomic distinctness measures

We compiled a composite taxonomy based primarily on Ribera *et al.* (1998), with additional information for Dytiscidae and Hydrophiloidea from Nilsson (2001) and Hansen (1999), respectively. We included up to eight taxonomic levels where possible: species, genera, tribes, subfamilies, families, superfamilies, suborders and order). Three indices of taxonomic diversity (Average Taxonomic Distinctness, Δ^+ ; Variation in Taxonomic Distinctness, Λ^+ ; and Total Taxonomic Distinctness, $s\Delta^+$) defined by Clarke and Warwick (1998, 2001) for presence/absence data were then calculated using the Primer 5 software package (Clarke and Gorley, 2001):

$$\Delta^+ = [\sum_{i < j} \omega_{ij}] / [s(s - 1)/2] \quad (1)$$

$$\Lambda^+ = [\sum_{i \neq j} (\omega_{ij} - \bar{\omega})^2] / [s(s - 1)/2] \quad (2)$$

$$s\Delta^+ = \sum[(\sum_{i \neq j} \omega_{ij}) / (s - 1)] \quad (3)$$

where s is the number of species present and ω_{ij} is the “distinctness weight” given to the path length linking species i and j in the taxonomy. Following Warwick and Clarke (1995), the simplest form of path length weighting was adopted for the 8 taxonomic levels, such that $\omega = 1$ (for species i and j within the same subgenus), $\omega = 2$ (for species within different subgenera but the same genus), $\omega = 3$ (for species within different genera but the same tribe), etc. Although such a constant path length between each taxonomic level is somewhat arbitrary, alternatives weighted to reflect the reduced number of representatives at each taxonomic level result in values which are highly correlated with those produced using the approach adopted here (Rogers *et al.*, 1999). Average Taxonomic Distinctness, Eq. (1), takes into account the taxonomic

level at which any two species are related (*i.e.* their identity matters) and can be thought of as the average length between any two randomly chosen species present in the sample. The degree to which certain taxa are over- or under- represented in samples is another biodiversity attribute of ecological relevance and it is reflected by the Variation in Taxonomic Distinctness, Eq.(2). Finally, Total Taxonomic Distinctness, Eq. (3), was proposed by Clarke and Warwick as a useful measure of the total taxonomic breadth of an assemblage.

In addition, two more commonly used biodiversity metrics were also calculated for each site: species richness and rarity. Rarity simply equated to the number of rare species (*i.e.* those species occurring in no more than three 5x5 km grid cells within the study area) at each site.

Evaluation of sensitivity to human impact

In order to evaluate anthropogenic impacts on biodiversity, sampling localities were grouped into three categories according to their level of anthropogenic modification: (1) little or no modification (2) modified and (3) highly modified. This was achieved based on the number and magnitude of the different impacts types affecting the sampling site (see Abellán *et al.*, 2005a for details). This assessment of impacts was based on a review of the literature and fieldwork. *Highly modified* indicates very poor water quality as consequence of wastewater or industrial wastes plus the existence of severe physical modifications to the habitat and the shore (dredging and stream channelisation, drainage, urbanisation and other human developments); *Modified* indicates some impact from agricultural activity (non-point source pollution, clearing land for crops, water extraction for irrigation, etc.) or exotic species and *Little or no modification* indicates good or excellent water quality, good quality of riverine habitat without important man-made structures, and only some less severe impacts such as those from low-density agrotourism or grazing.

In addition, we also made an alternative assessment based on the percentage of intensive land use present within a 1-km radius of each sampling site. For this, we used land-use classes from the CORINE Land Cover database (EC, 1993). Site categorisation based on the two approaches was very similar, although land use-based assessment failed to recognise impacts such as the influence of dams upstream or alien species, both of which could be scored by fieldworkers.

Clarke and Warwick (1998) devised a randomisation test to compare the observed value of taxonomic distinctness against an 'expected' value derived from the master list of species from all samples (the species pool). The null expectation is that the species present at any one place behave like a random selection from the species pool (*i.e.* every species in the pool has an equal probability to exist at all locations). Random subsamples of different numbers of species allow the expected values to be plotted as a probability funnel (5% level), against which the observed taxonomic distinctness values from real samples may be plotted. Such an analysis allows one to determine whether a sample has 'lower than expected' taxonomic representation.

We conducted this test for both Average Taxonomic Distinctness and Variation in Taxonomic Distinctness using Primer 5 software package (Clarke and Gorley, 2001). According to Clarke and Warwick (1998), values of taxonomic distinctness from unperturbed sites should fall within the confidence limits of the distribution, and impacted locations fall outside (below) them. This would mean that a common reference condition could be established for a particular group of organisms from the range of habitats in which they occur, and anthropogenic impacts on biodiversity could be assessed against this standard. The biodiversity of any designated location needs to be evaluated against a reference condition. Because each habitat type has a distinctive coleopteran fauna, since some families are represented only in some habitats, separate reference conditions would need to be established for each habitat. Accordingly, separate species lists were used for analyses in the four different habitat categories.

The significance of differences between samples from different habitat types, and between samples from different levels of human modification within each habitat category, was tested using one-way ANOVA and Tukey's HSD test for multiple comparisons of means. Statistical analyses were performed using Statistica for Windows (Release 4.5; StatSoft, Tulsa, Oklahoma, U.S.A.).

RESULTS

Natural variability

The different measures of water beetle biodiversity (species richness, rarity and taxonomic distinctness) showed different patterns across the four habitats types (Figure 2), with the exception of the Total Taxonomic Distinctness (not shown in Figure 2) and species richness, which were highly correlated (Spearman' correlation coefficient = 0.98). Total Taxonomic Distinctness is therefore very similar to species richness, and fails to provide significant additional information about an assemblage.

There were no significant differences between the mean values of taxonomic distinctness (based on both Δ^+ and Λ^+) across the different habitats (one-way ANOVA, $p = 0.485$ and $p = 0.277$, respectively; Figure 2). Rarity did not show significant differences ($p = 0.195$). In contrast, species richness was significantly different across the different habitats ($p < 0.001$). Thus, species richness was significantly higher in lotic freshwaters than in lentic habitats (both fresh and saline; Tukey's HSD test, $p < 0.001$ in both cases), and in lotic saline-waters than in lentic environments ($p < 0.05$ in both cases).

Figures 3 and 4 show departures from the theoretical mean taxonomic distinctness based on Δ^+ and Λ^+ , respectively. In both cases, there was no relationship between the total number of species in individual samples and their taxonomic distinctness. Although most Δ^+ sample values fell within the 95% confidence funnel for

the different habitats (with the exception of lotic freshwaters), most of them also had lower values of Δ^+ than the theoretical mean determined by random sampling from the entire water beetle fauna of each habitat. In lotic freshwaters, many values fell below the 95% confidence funnel. In the case of Variation in Taxonomic Distinctness, most sample values fell within the 95% confidence limit, although in this case most of them also had higher values than the theoretical mean.

The number of species belonging to each of the eleven families of water beetles in the dataset is shown in the Table 1. It may be helpful when interpreting the habitat differences in taxonomic distinctness to identify which beetle taxa have contributed most to the observed patterns. In the running-waters habitats, including saline but especially in running freshwaters, there were greater numbers of families than in lentic waters, and furthermore the number of species within each family was higher. In lentic freshwaters, which had the highest mean value of Δ^+ and the lowest value of Λ^+ , a small number of families occurred, and most species belonged to the Dytiscidae and Hydrophilidae, which are classified in different suborders. On the other hand, in the lentic saline-waters, which had the lowest values of Δ^+ , most species belonged to the families Dytiscidae, Hydrophilidae and Hydraenidae.

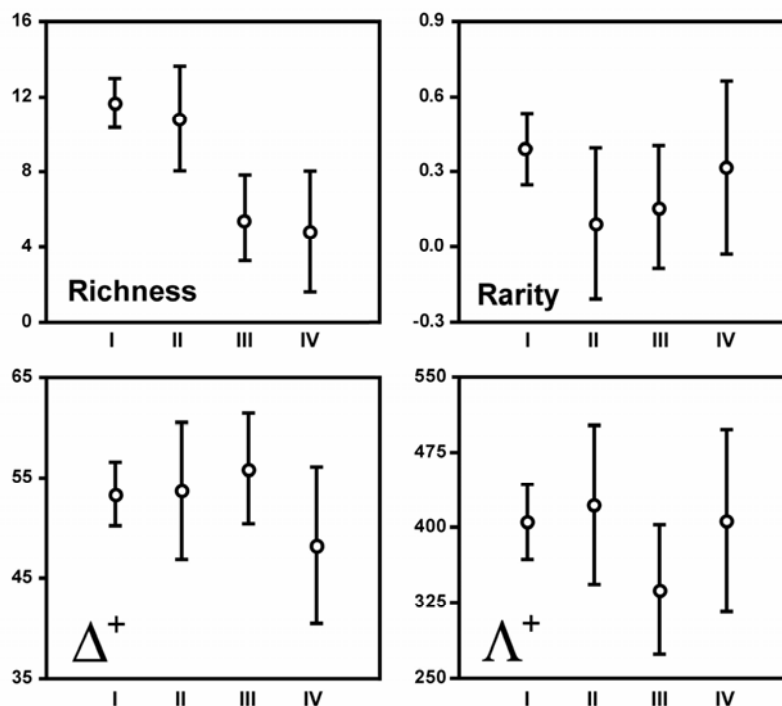


Figure 2. Means and 95% confidence intervals for the biodiversity measures calculated on water beetle communities for each habitat type (I, lotic freshwaters; II, lotic saline-waters; III, lentic freshwaters; and IV, lentic saline-waters): species richness, rarity, Average Taxonomic Distinctness (Δ^+) and Variation in Taxonomic Distinctness (Λ^+).

Table 1. The mean number of species of water beetles that belong to the same family, in each of the four habitats studied (Total) and across the three levels of anthropogenic modification (LM, low modification; M, modified; HM, highly modified).

Family	Lentic freshwaters			Lotic saline-waters			Lentic freshwaters			Lentic saline-waters					
	Total	LM	M	HM	Total	LM	M	HM	Total	LM	M	HM			
Gyrinidae	0.5	0.7	0.5	0.2	0.2	0.1	0.2	0.3	0	0	0	0.1	0	0	0
Halplidae	0.8	1.1	0.8	0.4	0.5	0.5	0.5	0.6	0.2	0.6	0.4	0.1	0	0	0
Noteridae	0.1	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0.4	0.1	0.2	0.1	0	0	0.1	0
Hygrobiidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0
Dytiscidae	3.7	5.2	3.4	2.1	3.5	4.4	3.1	2.7	3.1	6.2	3.6	2.5	1.6	2	1.5
Helophoridae	0.2	0.5	0.2	0	0.2	0.3	0	0.2	0.1	1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Hydrochidae	0.1	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0.2	0	0	0	0	0
Hydrophilidae	2.2	3	2	1.4	3.2	4.3	2.9	2.1	1.3	1.8	1.5	1.1	1.9	2	1.7
Hydraenidae	1.6	3.1	1.2	0.3	2.6	3.8	2.4	0.8	0.5	0.4	0.5	0.5	1.2	2.4	1
Elmidae	1.6	3.4	0.7	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0	0
Dryopidae	0.8	1.2	0.8	0.5	0.4	0.3	0.5	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0	0	0

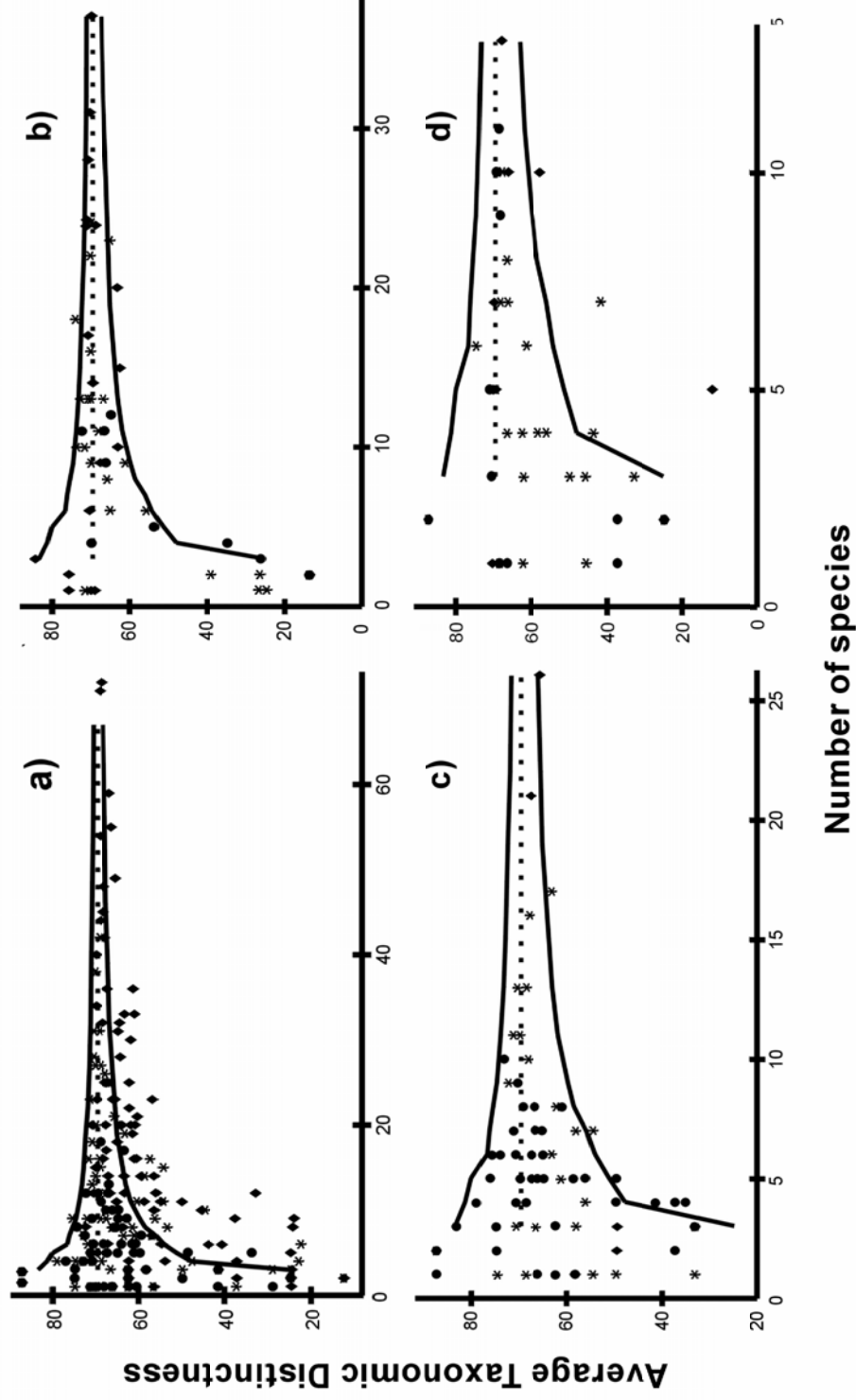


Figure 3. Average Taxonomic Distinctness versus number of species for water beetle data. Symbols indicate the modification level of sites: rhombuses, low modification; stars, modified; circles, highly modified. Separate plots are given for the four habitat types studied: a) lotic freshwaters, b) lotic saline-waters, c) lentic freshwaters and d) lentic saline-waters. Expected mean (dashed line) and 95% probability limits (continuous lines) are derived from the full species lists for these habitats.

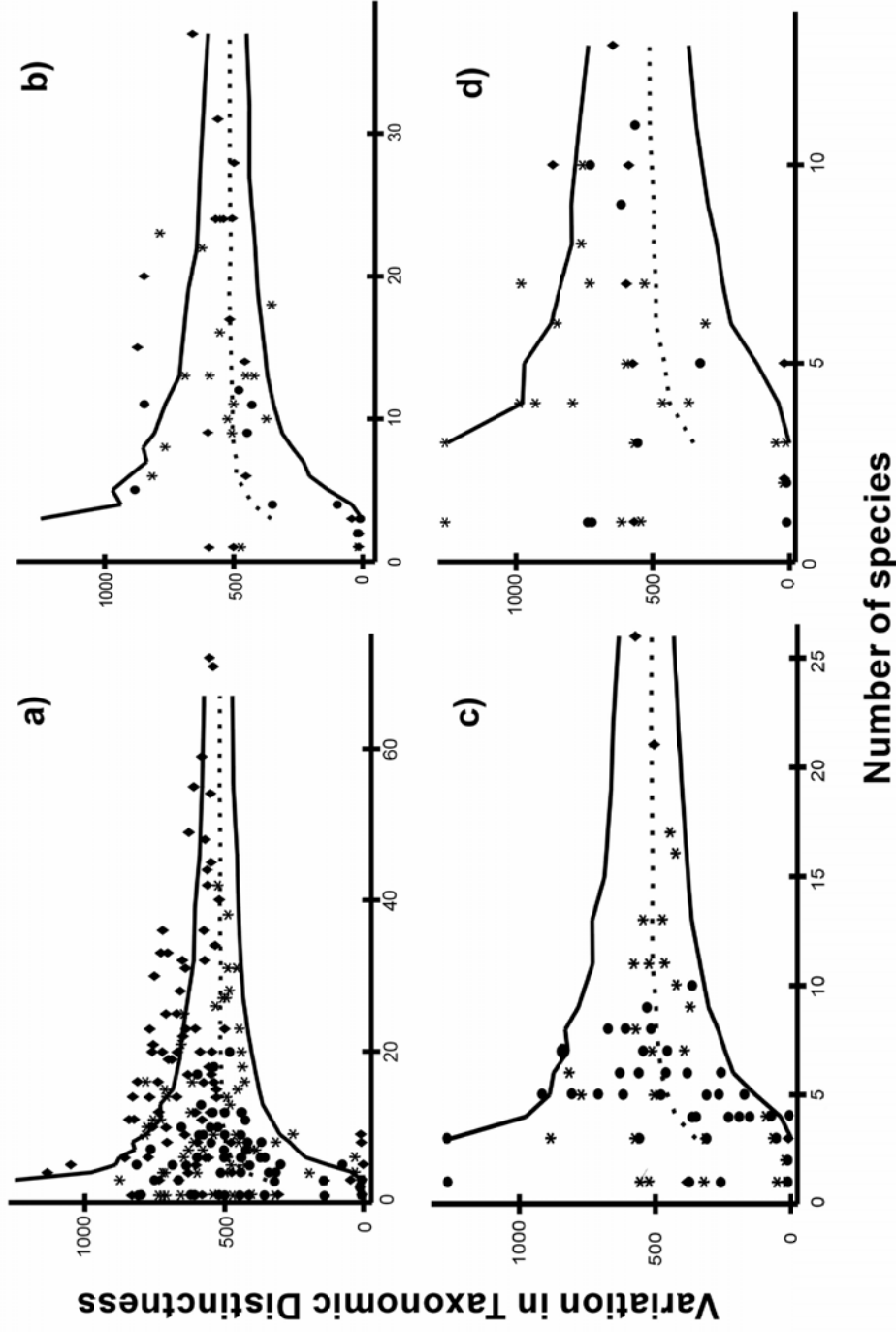


Figure 4. Variation in Taxonomic Distinctness against number of species for water beetle data. Symbols indicate the modification level of sites: rhombuses, low modification; stars, modified; circles, highly modified. Separate plots are given for the four habitat types studied: a) lotic freshwaters, b) lotic saline-waters, c) lentic freshwaters and d) lentic saline-waters. Expected mean (dashed line) and 95% probability limits (continuous lines) are derived from the full species lists for these habitats.

Sensitivity to anthropogenic changes

In general, there was no clear relationship between the taxonomic distinctness measures and the disturbance level. There were no significant differences in values of Average Taxonomic Distinctness across different level of putative human perturbation for all samples (one-way ANOVA, $p = 0.480$) and within the four habitat types. However, we found significant differences in Variation in Taxonomic Distinctness ($p < 0.001$) for all samples. Nevertheless, by habitat type these differences were only significant in lotic freshwaters, where values for sites with limited modification were significantly higher than the other two groups (Tukey's HSD test, $p < 0.001$ in both cases; Figure 5).

With regard to the other biodiversity measures, species richness and rarity showed a clear trend of reduction with increasing levels of perceived human impact (Figure 5) and there were significant differences in values of both measures across different level of human perturbation for all samples (one-way ANOVA, $p < 0.001$ in both cases). By habitat type, species richness was significantly different along the gradient of human impact in lotic freshwaters (Tukey's HSD test, $p < 0.001$ in all cases; Figure 5) and significantly lower in highly modified sites than in sites with limited modification ($p < 0.01$) in lentic freshwaters. Similarly, rarity showed significant differences between sites with high and low levels of modification from lotic freshwaters, lentic freshwaters and lentic saline-waters ($p < 0.01$ in both lotic and lentic freshwaters, and $p < 0.001$ in lentic saline-waters).

The randomisation test for both Average Taxonomic Distinctness and Variation in Taxonomic Distinctness was not able to discriminate clearly between the three levels of human perturbation in any habitat (Figures 3 and 4). In general, "modified" and "highly modified" sites fell within the probability funnel, and therefore samples from impacted localities did not have a lower than expected values. On the contrary, some "little or no modification" sites fall below the confidence limits, especially in lotic freshwaters in which many well-conserved localities had lower values than those which would be expectation from random selection. Furthermore, in lotic freshwaters, Average Taxonomic Distinctness and Variation in Taxonomic Distinctness show an inverse pattern. Most of the sites had Δ^+ values below the theoretical mean, and the majority of sites falling below the 95% confidence funnel were the least modified ones. Many of these "high quality" sites had high values of Λ^+ in this habitat, and most of the sites falling above the 95% limits were ones with low perceived levels of human impact.

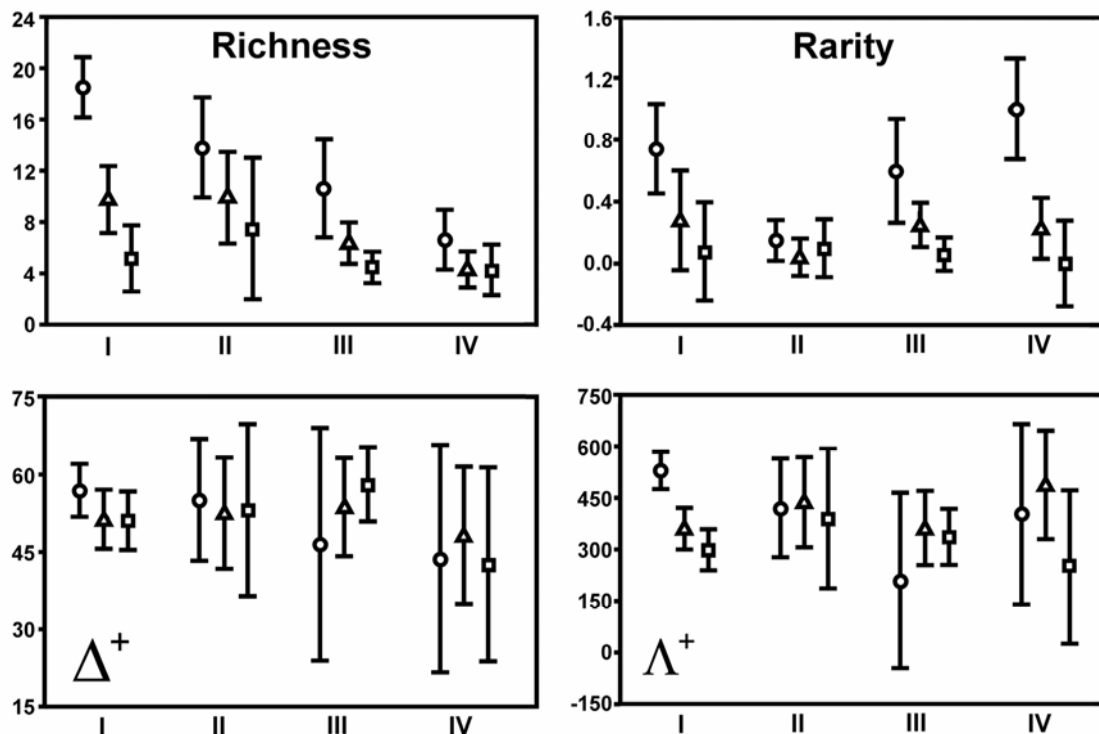


Figure 5. Means and 95% confidence intervals for the biodiversity measures calculated on water beetle communities for each habitat type (I, lotic freshwaters; II, lotic saline-waters; III, lentic freshwaters; and IV, lentic saline-waters) across the three recorded levels of anthropogenic modification: limited modification (circles), modified (triangles) and highly modified (squares). Biodiversity measures: species richness, rarity, Average Taxonomic Distinctness (Δ^+) and Variation in Taxonomic Distinctness (Λ^+).

Table 1 shows the number of species belonging to each of the eleven families of water beetle along the anthropogenic impact gradient in each of the four different habitat categories. Such information is potentially helpful in interpreting the differences in taxonomic distinctness in relation to modification level. In running freshwaters, there was a general reduction in the mean number of species representing each family with increasing environmental impact, especially in the Hydraenidae and Elmidae. In saline running waters, the effects of human perturbation on taxonomic structure were a reduction in the number of species belonging to some families such as Dytiscidae, Hydraenidae and Hydrophilidae, whereas other families actually increased their representation (Gyrinidae, Haliplidae and Noteridae). There was also a reduction in the number of species belonging to each family in lentic freshwaters, especially in the Dytiscidae. Finally, in lentic saline-waters the most important effect was a reduction in the number of species belonging to the Hydraenidae.

DISCUSSION

Under the framework proposed by Clarke and Warwick (1998, 2001; see also Leonard *et al.*, 2006), variability in taxonomic distinctness due to natural environmental factors generally falls within a predictable range, based on the expectation from random selection from a regional species pool. This could be seen as an advantage of taxonomic distinctness measures over more traditional biodiversity indices based on species richness, which are strongly affected by natural environmental variability. Furthermore, since anthropogenic influences may modify this pattern, such that values fall below the predicted range, taxonomic distinctness measures should be useful to discriminate between natural and impacted sites. However, our results generally fail to support these predictions.

Firstly, many of the less modified sites, especially in running freshwaters, fell outside the predicted range based on random expectations, *i.e.* the species in these samples were not as distantly related to each other as those from random samples of the local species pool. The main reason for this is that a few families are especially species-rich in some unperturbed environments, some of which contain radiations of recent endemics, which may themselves be of conservation concern (Ribera, 2000). For example, in small headwaters streams, the families Hydraenidae and Elmidae have a greater number of species than expected at random. In the case of the family Hydraenidae, most species belong to the genus *Hydraena*, many of which are Iberian, or indeed local, endemics. A similar situation is found in some pristine saline habitats, in which the family Hydraenidae is represented by a high number of species whereas the remaining families are poorly represented. This is especially true in extreme environments such as salt-pans or rock pools, among the lentic systems, and hypersaline streams, among the lotic waters, which are naturally species-poor, with most of species occurring in them belong to the single genus *Ochthebius*, which also contains a number of endemics.

In addition to the influence of anthropogenic changes there are ecological and evolutionary factors which may be behind the non-random distribution of species among habitats (or samples). In some communities, as in this study, this may relate to phylogeny or taxonomy. From an evolutionary perspective, this clumped phylogenetic distribution of taxa ("phylogenetic attraction") indicates that habitat-use is a conserved trait within the pool of species in a community, and that genotypic attraction dominates over repulsion (Webb *et al.*, 2002). Indeed, this is related to the fact that different clades have different potentials for diversification (Sanderson and Donoghue, 1996; Dodd *et al.*, 1999; Gardezi and da Silva, 1999) and some families such as Hydraenidae have been able to adapt to, and then diversify in, some environments better than other families of water beetles.

The second, and certainly important, characteristic attributed to the taxonomic distinctness, which was not supported by our results, is its capacity to detect anthropogenic changes. Clarke and Warwick (2001; see also Warwick and Clarke, 1995, 1998) hypothesise that, under anthropogenic disturbance, the species that

disappear first tend to be those representative of relatively species poor higher taxa, meaning that the remaining species are from a smaller number of groups, each of which tends to be relatively more species-rich. In other words, perturbed communities tend to have reduced taxonomic distinctness, being composed on average of more closely related species than unperturbed communities, which tend to have more taxonomically distant species resulting in greater taxonomic distinctness.

However, in contrast with some marine systems, water beetles, and indeed many freshwater assemblages more generally, are not characterised by the presence of a few, species-rich and closely related families (or genera) in response to perturbation. In Figure 6, cases 1 and 2 represent two alternative changes in an assemblage due to anthropogenic modification. In case 1, according to the hypothesis proposed by Warwick and Clarke (1998), the species that disappear are those representative of higher taxa which are species-poor. This effect is manifested both as a decrease in Average Taxonomic Distinctness and a decrease in Variation of Taxonomic Distinctness (i.e. the variability of pairwise relatedness of species in the taxonomic tree). In case 2, the species that disappear are those representative of lower taxa which are species-rich. In this case, this effect is manifested both as an increase in Average Taxonomic Distinctness and a decrease in Variation of Taxonomic Distinctness.

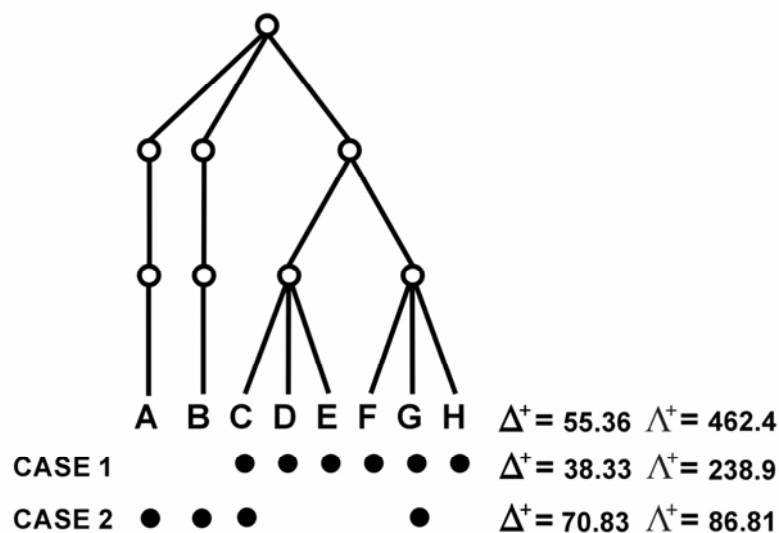


Figure 6. An illustration of Average Taxonomic Distinctness (Δ^+) and Variation in Taxonomic Distinctness (Λ^+) calculated for a simple 3-level taxonomic hierarchy in two different scenarios as result of human impact. A to B represent eight species in an unmodified site. Case 1 and 2 represent two possible effects of anthropogenic disturbance, with species remaining in the locality (indicated with a black solid dot) following this disturbance (see Discussion for details).

With the water beetle data reported here the number of species belonging to each family tends to decrease with disturbance, as in case 2, especially in the more species-rich families such as Hydraenidae. These families contain numerous restricted ranges (ecologically specialised species), which are the most sensitive to the anthropogenic changes, as a consequence. Other species-rich families such as Dytiscidae and Hydrophilidae, although containing some species that only occur in well-conserved inland waters, also contain a number of relatively opportunistic and widespread species, with a high dispersal ability and tolerance to pollution or other human disturbances. Therefore, the remaining species (or the new ones colonising) in a perturbed site are from a smaller number of families, each of which is represented by a reduced number of species. As a consequence, the effects of human perturbation are more commonly manifested as an increase or lack of change in Average Taxonomic Distinctness, and a decrease in the Variation of Taxonomic Distinctness (Figure 6, case 2). For example, in the case of the most highly modified systems, such as irrigation pools or very polluted streams, it is usual to find only two or three widespread mobile species, for example *Laccophilus hyalinus* (De Geer, 1774) and *Helochares lividus* (Forster, 1771), belonging to two different families in two different suborders (Dytiscidae and Hydrophilidae). In such a case, the value of Average Taxonomic Distinctness would be the highest in the dataset. Such a situation is not unique to aquatic beetle communities, and may explain in general terms why taxonomic distinctiveness indices do not always respond in a predictable manner to anthropogenic impact. This is in agreement with the results reported by Bhat and Marrugan (2006) for freshwater fish assemblages. These authors also found that highly perturbed sites did not display a reduction in taxonomic distinctness relative to random expectations.

In this study, Total Taxonomic Distinctness did not provide additional information over species richness, which makes it relatively redundant as an index. In fact, Warwick and Clarke (1998) did not recommend the general use of this measure, which tends to track species richness rather closely. They suggest that it is only useful for tightly controlled sampling programmes, in which sampling effort is identical for the samples being compared, or sampling is sufficiently exhaustive for the asymptote of the species-area curve to have been reached. This is backed up by our findings, and indeed the situations in which $s\Delta^+$ will add to species richness are limited, particularly in environmental monitoring, where such uniform sampling programmes are the exception rather than the rule.

In the Segura Basin at least, taxonomic distinctness measures (both Δ^+ and Λ^+) were less sensitive than other diversity measures, such as species richness and rarity, to anthropogenic changes in the different habitats studied. Thus, in spite of the fact that richness and rarity show different patterns across the four habitats (which suggests that the information provided by them are complementary), both show a clear tendency to decrease under perturbation. Similarly, Salas *et al.* (2006) found that taxonomic distinctness measures of marine benthic communities were less sensitive than other diversity measures to the effects of eutrophication in coastal lagoons. In addition, Somerfield, Olsford and Carr (1997) found no consistent pattern between decreasing Taxonomic Diversity of marine macrofaunal assemblages and increasing

environmental impact, and Hall and Greenstreet (1998), studying fish communities, found that taxonomic distinctness measures showed identical trends to conventional diversity indices.

Taxonomic distinctness values were highly variable within each habitat type regardless of the level of human perturbation (Figure 5). Much of the variation found may result from the effects of natural environmental gradients within each habitat, and this high variability may overshadow the response of these indices to human disturbances (see Bhat and Marrugan, 2006 for similar results). Assuming this limitation, our findings indicate that taxonomic distinctness measures are not independent of natural variability, as has been assumed in the past (Warwick and Clarke, 1998; Leonard et al., 2006). These authors suggested that the variability in taxonomic distinctness among very different habitats should allow one to distinguish, through the randomisation test (which creates a 95% probability funnel from the total species list), the unperturbed sites from the impacted locations, which should show biodiversity values below the expected range. In our study, even in lotic freshwaters, which show a relatively low variability for the values of taxonomic distinctness (i.e. it is a homogeneous group of sites) the randomisation test did not allow us to distinguish between unperturbed and perturbed sites (see Figures. 3, 4 and 5).

Certainly, taxonomic distinctness measures have important characteristics (such as the incorporation of a master list of taxa, which reflects what could be considered to represent reference conditions, and a statistical framework from which to measure the distance in relation to those reference conditions) that make their use in environmental assessment attractive; for example in the classification of ecological status following the European Water Framework Directive. However, our results do not support Warwick and Clarke's (1995) statement regarding the monotonic behaviour of these indices in response to environmental degradation. In conclusion, our analyses demonstrate that taxonomic diversity measures, as well other measures based on the 'relatedness' of species such as phylogenetic diversity, are not always useful tools for such approaches, and highlights that their widespread, and particularly sole, use as biodiversity indicators should be treated with caution.

REFERENCES

- Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005a. Assessing conservation priorities for insects: status of water beetles in southeast Spain. *Biological Conservation*, **121**, 79–90.
- Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005b. Conservation of freshwater biodiversity: a comparison of different area selection methods. *Biodiversity and Conservation*, **14**, 3457-3474.
- Allan J.D., Flecker A.S. 1993. Biodiversity conservation in running waters. *Bioscience*, **43**, 32–43.

Anand M., Orlóci L. 1996. Complexity in plant communities: the notion and quantification. *Journal of Theoretical Biology*, **179**, 179–186.

Barker G.M. 2002. Phylogenetic diversity: a quantitative framework for measurement of priority and achievement in biodiversity conservation. *Biological Journal of the Linnean Society*, **76**, 165-194.

Bhat A., Marrugan A.E. 2006. Taxonomic distinctness in a linear system: a test using a tropical freshwater fish assemblage. *Ecography*, **29**, 104-110.

Bilton D.T., McAbendroth L., Bedford A., Ramsay, P.M. 2006. How wide to cast the net? Cross-taxon congruence of species richness, community similarity and indicator taxa in ponds. *Freshwater Biology*, **51**, 578-590.

Bournaud M., Richoux P., Usseglio-Polaterra P. 1992. An approach to the synthesis of qualitative ecological information from aquatic coleoptera communities. *Regulated Rivers: Research and Management*, **7**, 165-180.

Brown B.E., Clarke K.R., Warwick R.M. 2002. Serial patterns of biodiversity change in corals across shallow reef flats in Ko Phuket, Thailand, due to the effects of local (sedimentation) and regional (climatic) perturbations. *Marine Biology*, **141**, 21-29.

Clarke K.R., Gorley R.N. 2001. *PRIMER v5: User Manual/Tutorial*. PRIMER-E, Plymouth UK.

Clarke K.R., Warwick R.M. 1998. A taxonomic distinctness index and its statistical properties. *Journal of Applied Ecology*, **35**, 523–531.

Clarke K.R., Warwick R.M. 2001. A further biodiversity index applicable to species lists: variation in taxonomic distinctness. *Marine Ecology Progress Series*, **216**, 265–278.

Dodd M., Silvertown J., Chase M. 1999. Phylogenetic analysis of trait evolution and species diversity variation among Angiosperm families. *Evolution*, **53**, 732–744.

E.C. 1993. *CORINE Land Cover: technical guide*. Report EUR 12585. European Commission, Luxembourg.

E.C. 2000. *Directive of the European Parliament and of the Council 2000/60/EC establishing a framework for community action in the field of water policy*. PE-CONS 3639/1/00, 72 p.

Eyre M.D., Foster G.N., Luff M.L., Rushton S.P. 2006. The definition of British water beetle species pools (Coleoptera) and their relationship to altitude, temperature, precipitation and land cover variables. *Hydrobiologia*, **560**, 121–131.

Faith D.P. 1992. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biological Conservation*, **61**, 1–10.

Foster G.N. 1991. Conserving insects of aquatic and wetland habitats, with special reference to beetles. In: *The conservation of insects and their habitats* (eds Collins N.M., Thomas J.A.), pp. 237–262. 15th Symposium of the Royal Entomological Society of London. Academic Press, London.

Gardezi T., da Silva J. 1999. Diversity in relation to body size in mammals: a comparative study. *American Naturalist*, **153**, 110–23.

Gómez R., Hurtado I., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R. 2005. Ramblas in south-east Spain: threatened and valuable ecosystems. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **15**, 387–402.

Hall S.J., Greenstreet S.P. 1998.. Taxonomic distinctness and diversity measures: responses in marine fish communities. *Marine Ecology Progress Series*, **166**, 227–229.

Hansen M. 1999. *Hydrophiloidea (Coleoptera)*. *World Catalogue of Insects*, 2. Apollo Book. Stenstrup.

Harper J.L., Hawksworth D.L. 1994. Biodiversity: measurement and estimation. *Philosophical Transactions of the Royal Society Series B*, **345**, 5– 12.

Leonard D.R.P., Clarke K.R., Somerfield P., Warwick R.M. 2006. The application of an indicator based on taxonomic distinctness for UK marine biodiversity assessments. *Journal of Environmental Management*, **78**, 52–62.

Master L.L., Flack S.R., Stein B.A. 1998. *Rivers of Life: Critical Watersheds for Protecting Freshwater Biodiversity*. The Nature Conservancy: Arlington, Virginia.

Millán A., Abellán P., Ribera I., Sánchez-Fernández D., Velasco J. 2006. The Hydradephaga (Coleoptera) of the Segura basin (SE Spain): twenty-five years studying water beetles. *Memorie della Società Entomologica Italiana*, **85**, 137–158

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2002. *Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos y semiacuáticos de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses, Albacete.

Millán A., Velasco J., Vidal-Abarca M.R., Suárez M.L., Ramírez-Díaz L. 1996. Distribución espacial de los Adepghaga acuáticos (Coleoptera) en la cuenca del río Segura (SE de la Península Ibérica). *Limnetica*, **12**, 13–30.

Nee S., May R.M. 1997. Extinction and the loss of evolutionary history. *Science*, **278**, 692–694.

Nilsson A.N. 2001. *Dytiscidae (Coleoptera)*. -*World Catalogue of Insects*, 3. Apollo Book. Stenstrup.

Piepenburg D., Voss J., Gutt J. 1997. Assemblages of sea stars (Echinodermata: Asterozoa) and brittle stars (Echinodermata: Ophiurozoa) in the Weddell Sea (Antarctica) and off Northeast Greenland (Arctic): a comparison of diversity and abundance. *Polar Biology*, **17**, 305–322.

Ribera I., Hernando C., Aguilera P. 1998. An Annotated checklist of the Iberian water beetles (Coleoptera). *Zapateri*, **8**, 43–111.

Ribera I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, **92**, 131–150.

Ribera I., Foster G. 1993. Uso de Coleópteros acuáticos como indicadores biológicos (Coleoptera). *Elytron*, **6**, 61–75.

Ricciardi A., Rasmussen J.B. 1999. Extinction rates in North American freshwater fauna. *Conservation Biology*, **13**, 1220–1222.

Richoux P. 1994. Theoretical habitat templates, species traits, and species richness: aquatic Coleoptera in the Upper Rhône River and its floodplain. *Freshwater Biology*, **31**, 377–395.

Rogers S.I., Clarke K.R., Reynolds J.D. 1999. The taxonomic distinctness of coastal bottom-dwelling fish communities of the North-east Atlantic. *Journal of Animal Ecology*, **68**, 769–782.

Salas F., Patrício J., Marcos C., Pardal M.A., Pérez-Ruzafa A., Marques J.C. 2006. Are taxonomic distinctness measures compliant to other ecological indicators in assessing ecological status? *Marine Pollution Bulletin*, **52**, 162–74.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Velasco J., Millán A. 2003. *Los coleópteros acuáticos de la región de Murcia. Catálogo faunístico y áreas prioritarias de conservación*. Monografías SEA, vol. 10: Zaragoza.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Mellado A., Velasco J., Millán A. (in press) Are water beetles good indicators of biodiversity in Mediterranean aquatic ecosystems? The case of the Segura river basin (SE Spain). *Biodiversity and Conservation*.

Sanderson M.J., Donoghue M.J. 1996. Reconstructing shifts in diversification rates on phylogenetic trees. *Trends in Ecology and Evolution*, **11**, 15–20.

Saunders D., Meeuwig J., Vincent A.J. 2002. Freshwater protected areas: Strategies for conservation. *Conservation Biology*, **16**, 30–41.

Somerfield P.J., Olsgard F., Carr M.R. 1997. A further examination of two new taxonomic distinctness measures. *Marine Ecology Progress Series*, **154**, 303–306.

Tilman D., Knops J.M.H., Wedin D.A., Reich P.B., Ritchie M.E., Siemann, E. 1997. The influence of functional diversity and composition on ecosystem processes. *Science*, **277**, 1300-1302.

Warwick R.M., Clarke K.R. 1995. New 'biodiversity' measures reveal a decrease in taxonomic distinctness with increasing stress. *Marine Ecology Progress Series*, **129**, 301–305.

Warwick R.M., Clarke K.R. 1998. Taxonomic distinctness and environmental assessment. *Journal of Applied Ecology*, **35**, 532–543.

Warwick R.M., Light, J. 2002. Death assemblages of molluscs on St Martin Flats, Isles of Scilly: a surrogate for regional biodiversity. *Biodiversity and Conservation*, **11**, 99 –112.

Webb C.O., Ackerly D.D., McPeck M.A., Donoghue M.J. 2002. Phylogenies and community ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **33**, 475–505.

Williams P.H., Humphries C.J., Vane-Wright R.I. 1991. Measuring biodiversity: taxonomic relatedness for conservation priorities. *Australian Systematic Botany*, **4**, 665–679.

Chapter 5

Conservation genetics in hypersaline inland waters: mitochondrial diversity and phylogeography of an endangered Iberian beetle

Abstract

Saline inland waters are globally threatened habitats harbouring many specialised endemic species, which often have restricted geographic ranges, and occur as highly isolated populations. We studied the genetic variation and phylogeography of *Ochthebius glaber* Montes and Soler, a rare and endangered water beetle endemic to hypersaline streams in the South and Southeast of the Iberian Peninsula. We used a 633 bp fragment of cytochrome oxidase subunit 1 gene to determine the genetic diversity and phylogeographic structure within this species, and interpret this in the light of the species' conservation requirements. Thirteen populations were sampled across the species' geographic range, and genetic diversity found to be very high, with 37 haplotypes across the 71 specimens examined (p-distance 0.2-7.3%, average 3.1 ± 0.4). Phylogeographic analyses revealed a surprisingly high degree of geographical structure, detectable among populations separated by relatively short geographical distances, with three main groups of haplotypes which have apparently been isolated for significant periods of time. Past fragmentation and contiguous range expansion events were inferred as the main causes of the detected geographical associations of haplotypes. The establishment of independent evolutionary lineages as conservation units is particularly important for species inhabiting saline habitats such as *O. glaber*, which is endangered by habitat loss across most of its distribution. However, given the natural instability of hypersaline environments, the conservation of a network of populations and potential habitats would be necessary to enable the preservation of the process generating and maintaining the diversity of the species.

INTRODUCTION

Saline inland waters are uncommon and, in many cases, threatened environments, which contain communities particularly rich in rare or endemic species (Williams 1999; Gómez *et al.*, 2005). Considering the dramatic loss of saline habitats as a consequence of the rapid changes in land uses taking place in some Mediterranean areas, moving from extensive to intensive agriculture (Martínez-Fernández *et al.*, 2000; Stoate *et al.*, 2001), the evaluation of genetic variation and phylogeographical patterns in inland saline water taxa is of immediate importance if appropriate conservation measures are to be undertaken.

Although our knowledge of the genetic diversity and phylogeography of freshwater invertebrates has increased significantly in the last decade (*e.g.*, Hughes *et al.*, 1996, 2003; King *et al.*, 1999; Baker *et al.*, 2003; Kauwe *et al.*, 2004), information concerning invertebrate populations in saline environments is scarce and limited to a few species (Diogo *et al.*, 1999; Gómez *et al.*, 2000, 2002), despite their widely acknowledged conservation value (Bamber *et al.*, 1992; Foster 2000; Gómez *et al.*, 2005). Among the saline aquatic habitats, hypersaline running waters are particularly interesting due to their rarity and the high number of endemic species they sustain, especially species of aquatic Coleoptera (Moreno *et al.*, 1997; Millán *et al.*, 2002; Sánchez-Fernández *et al.*, 2003). In the Mediterranean region, the hydraenid genus *Ochthebius* includes many species living exclusively in saline or hypersaline waters with very restricted ranges (Hansen, 1999), over twenty of them in the Iberian Peninsula alone (Ribera *et al.*, 1998; Ribera 2000).

This study focuses on the genetic structure of *Ochthebius glaber* Montes and Soler, a small (<3 mm) water beetle endemic to the south of the Iberian Peninsula and one of the most characteristic species of the macroinvertebrate community in hypersaline streams (Abellán *et al.*, 2005a). Although it may be locally abundant, the species is limited to only a few saline streams or “ramblas”, grouped mainly in three geographical areas, the basins of the rivers Guadalquivir, Segura and Júcar (in the last with a single known population).

The species shows high habitat specificity, occurring only in hypersaline running waters (generally associated with marl soils) with salinity ranging from 40 to over 300 gL⁻¹ (Montes and Soler 1988; Abellán *et al.*, 2005a). Many of these hypersaline environments are highly threatened (Sánchez-Fernández *et al.*, 2003; Gómez *et al.*, 2005), and some populations of *O. glaber* are known to have disappeared in recent decades (Abellán *et al.*, 2005a). The main threats to this species, as with many other saline species, are related to intensive agriculture practices, such as over-exploitation of aquifers, non-point source pollution and reductions in salinity due to the input of freshwater used for irrigation (Abellán *et al.*, 2005a). Despite the lack of formal recognition of its endangered status (no Iberian aquatic Coleoptera are as yet covered by any national or international protection legislation, Ribera 2000), *O. glaber* is a vulnerable species because of its restricted and fragmented distribution, high habitat specificity and continued habitat loss. It has been proposed for inclusion in the IUCN red list (Abellán *et al.*, 2005b) and is included in the Spanish red list (Verdú and Galante, 2005).

We used partial sequences of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit 1 (*cox1*) gene of *O. glaber* to determine the genetic diversity and phylogeographic structure of populations throughout its range. Data on the genetic diversity of these populations and their degree of geographical subdivision may help decision making in conservation management and the design of recovery strategies (Avice 2000; Crandall *et al.*, 2000) for this and other water insects adapted to saline environments.

MATERIALS AND METHODS

Sampling and DNA sequencing

Specimens were collected from 13 localities through the known range of *O. glaber* (south-southeast of the Iberian Peninsula) during 2003 and 2004 (Figure 1, Table 1). With the exception of some possible additional populations in Jaén (Guadalquivir basin), these are all the known populations of the species as determined by a recent survey in suitable habitats in southern Spain (Abellán *et al.*, 2005a). Each sampling site (*i.e.* individual stream) constitutes an isolated habitat patch for *O. glaber*, and we therefore consider each sample as a separate population.

Outgroups for the phylogenetic analyses included *O. notabilis* Rosenhauer, a closely related species according to morphology (Jäch, 1992), *O. montesi* Ferro and *O. quadrifossulatus* Wollaston, plus two other more distantly related species (*Catops fuliginosus* Erichson, family Leiodidae, and *Aleochara bilineata* Gyllenhal, family Staphylinidae), both in the same superfamily as Hydraenidae (Lawrence and Newton, 1995). The sequence of *A. bilineata* was obtained from Maus *et al.* (2001) (accession number AJ293086).

Samples were stored in absolute ethanol and DNA was extracted using the Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, Mannheim). The mtDNA fragment used in this study was a partial sequence of approximately 800 bp of the protein coding *cox1* gene that was PCR-amplified using the primers C1-J-2183 and L2-N-3014 (Simon *et al.*, 1994). Sequencing was done using the ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Foster City) following manufacturer's instructions, and sequenced products were electrophoresed on ABI 310 and 3700 automated sequencers (Applied Biosystems, Foster City).

Newly obtained sequences for this study were submitted to EMBL gene database (accession numbers AJ890027-AJ890079).

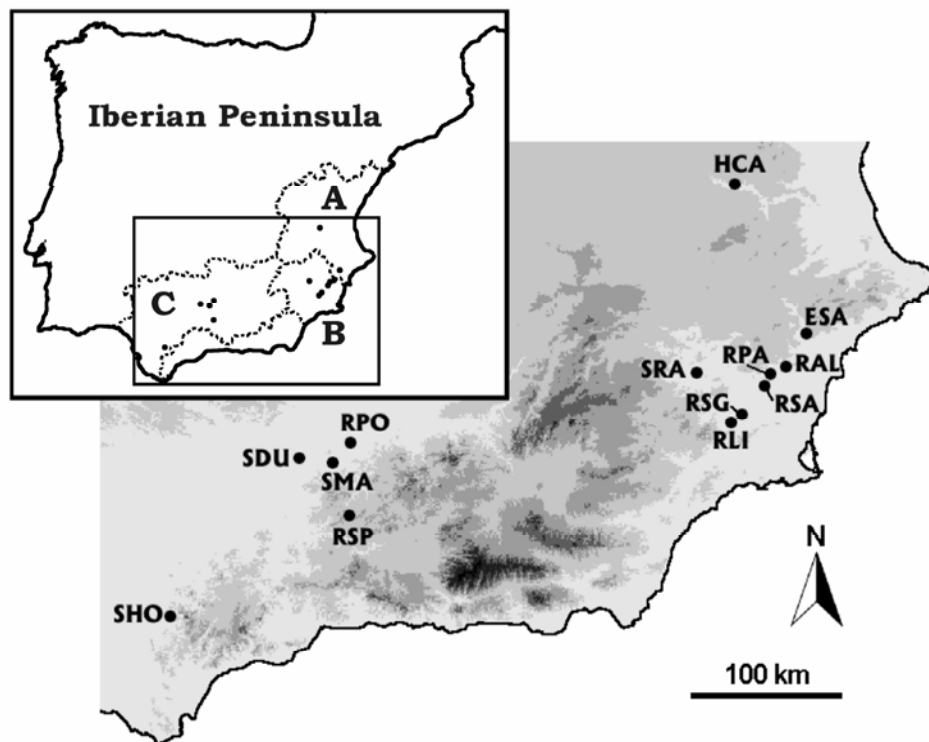


Figure 1. Sampling sites of *Ochthebius glaber* in the Iberian Peninsula. The grey shades represent 500 m isoclines. See Table 1 for the codes of the localities. The three river basins (Júcar, A; Segura, B; Guadalquivir, C) are indicated in the inset map.

Genetic variability and population structure

MtDNA sequences were edited and aligned by eye using the program BioEdit 7.0 (Hall 1999). Nei's (1987) nucleotide diversity (π) was calculated for different groups of haplotypes using DnaSP 3.53 (Rozas *et al.*, 1999) and the measures of genetic divergence within and between groups of haplotypes were obtained with Mega 2.2 (Kumar *et al.*, 1994). Mitochondrial genetic differentiation between populations was assessed by calculating pairwise F_{ST} values and testing their significance by 10,000 permutations using Arlequin 2.0 (Schneider *et al.*, 2000). The association between population pairwise geographical and genetic distances (F_{ST} values) was assessed by the nonparametric Mantel test implemented in Arlequin 2.0 using 1,000 permutations. Tajima's D statistic (Tajima, 1989), which can identify the effects of demographic changes under the assumption of neutrality, was calculated to test for evidence of population past expansions or contractions. The statistical significance of the observed D value was obtained by generating samples under the null hypothesis of selective neutrality and population at equilibrium, using a coalescent simulation algorithm in DnaSP 3.53 adapted from Hudson (1990). In this case, the simulations were run using the same number of segregating sites observed in the sample, and a sample size identical to that of each tested scenario.

To identify genetically distinct geographical groupings of populations we used a test implemented in SAMOVA 1.0 (Dupanloup *et al.*, 2002). The method is based on a simulated annealing procedure that aims to maximise the proportion of total genetic variance due to differences between groups of populations (F_{CT}). Unlike classical tests of population genetic structure (*e.g.*, AMOVA), this method does not require a priori definition of populations, but instead searches for emergent group structures based only on the genetic data. We defined the number of populations (K) and ran 100 simulated annealing processes for each possible K, ranging from K = 2 through K = 12, recording the progressive split of the populations according to their genetic variance.

Table 1. Locality data, number of individuals (N), number of haplotypes (h), nucleotide diversity (π) and haplotype frequencies (number of individuals with the same haplotype in parenthesis) of the studied populations of *Ochthebius glaber* and other *Ochthebius* outgroups. The main land-use classes in the surrounding area to sampling localities are also indicated.

Code	Locality ^a	N	h	π	Haplotypes	Land-uses ^b
<i>O. glaber</i>						
HCA	Rambla Hoces del Cabriel (V)	6	4	0.002	Ju1(1), Ju2(3), Ju3(1), Ju4(1)	A
ESA	Estrecho de la Salineta (A)	6	3	0.001	Se5(4), Se6(1), Se7(1)	A, C
RAL	Rambla de Albaterra (A)	6	2	0.002	Se8(4), Se9(2)	A
RPA	Rambla de la Parra (MU)	5	3	0.003	Se8(3), Se10(1), Se11(1)	C
RSA	Rambla Salada Fortuna (MU)	7	2	0.001	Se8(5), Se12(2)	C
SRA	Salinas de la Ramona (MU)	5	4	0.003	Se8(2), Se13(1), Se14(1), Se15(1)	A
RSG	Rambla de Sangonera (MU)	7	2	0.000	Se16(1), Se17(6)	C
RLI	Rambla de Librilla (MU)	6	3	0.005	Se8(2), Se17(3), Se18(1)	A
RPO	Rambla en Porcuna (J)	5	5	0.013	Gu19(1), Gu20(1), Gu21(1), Gu22(1), Gu23(1)	B
SMA	Salinas de la Maturra (CO)	5	5	0.011	Gu21(1), Gu22(1), Gu24(1), Gu25(1), Gu26(1)	B
SDU	Salinas de Duernas (CO)	4	4	0.012	Gu21(1), Gu27(1), Gu28(1), Gu29(1)	B
RSP	Río Salado de Priego (CO)	4	4	0.011	Gu30(1), Gu31(1), Gu32(1), Gu33(1)	B
SHO	Salinas de Hortales (CA)	5	4	0.009	Gu34(1), Gu35(2), Gu36(1), Gu37(1)	B
<i>O. notabilis</i>						
SHO	Salinas de Hortales (CA)	1	1	—	n1(1)	B
SDU	Salinas de Duernas(CO)	1	1	—	n2(1)	B
CVE	Ayo. salino Casa de Ves (AB)	6	2	0.002	n3(5), n4(1)	A
SAN	Salinas de Añana (AV)	4	3	0.002	n5(2), n6(1), n7(1)	A
<i>O. montesi</i>						
RAG	Rambla de Algüeda (A)	6	4	0.003	m1(2), m2(2), m3(1), m4(1)	B
<i>O. quadrifossulatus</i>						
	Oued Kenndek, Morocco	4	4	0.005	q1(1), q2(1), q3(1), q4(1)	—

^a Spanish province (in brackets): A Alicante; AB Albacete; AV Álava; CA Cádiz; CO Córdoba; J Jaén; MU Murcia; VValencia.

^b Land-uses in the surrounding area: A Forestry; B Extensive agriculture and ganaderie; C Intensive agriculture.

Phylogenetic analyses

Phylogenetic trees were constructed using Bayesian analyses with MrBayes 3.0b4 (Huelsenbeck and Ronquist, 2001). We used ModelTest 3.06 (Posada and Crandall, 1998) to choose the best fit model of molecular evolution for our data set. We ran four chains of 2,000,000 generations each and sampled the chain every 100 generations. After confirming that the estimated likelihood of the trees reached a plateau, we discarded the first 1,000 trees as the burn-in phase and used the remaining trees to estimate Bayesian posterior probabilities for each of the parameters of the model and the tree (including branch lengths). For comparison with the Bayesian-based results, we also conducted parsimony (as implemented in PAUP 4.0b, Swofford, 2002) and maximum likelihood analyses (ML) (with Phyl 2.4, Guindon and Gascuel, 2003), the latter using the same evolutionary model as in the Bayesian analyses. We used bootstrap values and Bayesian posterior probabilities to assess node support. Bootstrap values were calculated in PAUP and Phyl using 1,000 and 100 bootstrap pseudoreplicates respectively.

Nested Clade Analysis

We used nested clade analysis (NCA) on the mtDNA sequence data to disentangle the influence of historical events and ongoing population processes on the genetic structure of the populations of *O. glaber* (Templeton *et al.*, 1995; Templeton, 1998). NCA tests the null hypothesis of no association between sample locality and haplotype variation and provides an interpretation of statistically significant patterns (Templeton *et al.*, 1995). Homoplasmy free (with a 95% confidence interval) haplotype networks for NCA based on the most parsimonious connections of haplotypes were obtained using TCS 1.18 (Clement *et al.*, 2000), which incorporates the cladogram estimation algorithm described by Templeton *et al.* (1992). Independent networks were linked *a posteriori* considering only the most parsimonious connections between any two haplotypes by relaxing the probability of linking haplotypes in the samples (*i.e.*, increasing the number of possible mutational steps between haplotypes) in TCS 1.18. The data were then converted into a hierarchical nested series of grouped haplotypes (henceforth called “clades”) following the rules proposed by Templeton *et al.* (1995). These clades were analysed for significant associations with geography using Geodis 2.0 (Posada *et al.*, 2000). Demographic events were inferred according to the most recent inference key provided on the Geodis web page (14 Jul 2004; http://zoology.byu.edu/crandall_lab/geodis.htm), modified from Templeton (1998).

RESULTS

MtDNA diversity and population structure

We obtained *cox1* sequences from 71 specimens of *O. glaber*, harbouring 37 distinct haplotypes (Table 1). The sequences (after removing incomplete ends) had 633 bp, including 62 polymorphic sites, 57 (92%) at third, 4 (6%) at first, and only one (2%) at second codon positions. The only aminoacid changes were a Valine to Isoleucine in three of the four Júcar haplotypes, and a Tyrosine to Isoleucine in all the haplotypes from the Júcar and

Guadalquivir basins. Sequence divergence ranged from 0.2% to 7.3% (average: $3.1 \pm 0.4\%$) with an overall nucleotide diversity $\pi = 0.026$. Most haplotypes (33 out of the 37) were restricted to single localities, and only four (Se8, Se17, Gu21 and Gu22) were observed in two or more localities (Table 1). There were no shared haplotypes among the three main geographical areas considered in the study (Guadalquivir, Segura and Júcar basins).

Nucleotide diversity within *O. glaber* was an order of magnitude higher than its likely sister species, *O. notabilis* (0.026 and 0.004, respectively), despite the larger area occupied by the sampled populations of the latter (from the south and north of the Iberian Peninsula). On the contrary, nucleotide diversities within populations of *O. glaber* were very similar to those obtained for the other three *Ochthebius* species, with the only exception of the populations in the Guadalquivir basin, which were more diverse (Table 1). The number of haplotypes within the Guadalquivir basin samples (19) was higher than that corresponding to the Segura basin (14), despite the higher number of sampled individuals for the latter (Table 1). Similarly, the nucleotide diversity within the Guadalquivir populations was approximately an order of magnitude higher than that of the other populations, generally with as many haplotypes as individuals (Table 1).

Although population genetic approaches to evaluate population structure might not be appropriate for data showing high diversity and few individuals sampled per population, in the broader context of this study they may help us to understand our results. Thus, the comparison of the population pairwise F_{ST} was also indicative of high levels of differentiation. Most populations were significantly differentiated from all others except those within the same geographical area (Table 2). The highest values of differentiation were found between the population in the Júcar basin and the others, although all values between the main geographical areas were high (Table 2). F_{ST} values between populations within the same geographical areas were in general much lower, with a few exceptions: ESA and RSG within the Segura basin, and SHO within the Guadalquivir basin (Table 2). The level of pairwise population differentiation as measured by F_{ST} values was significantly correlated with geographical distance (Mantel test: $r = 0.63$; $P = 0.001$).

The values obtained with Tajima's D test were negative for the species overall (-0.008), and for the sequences from the Guadalquivir (-0.653) and the Segura basins (-1.142). However, none of the D-values showed statistically significant differences from the neutral coalescent model of Hudson (1990).

The SAMOVA algorithm (Dupanloup *et al.*, 2002) did not allow us to unambiguously identify the number K of groups of populations displaying the highest differentiation among groups (Table 3), as F_{CT} values increased progressively with K , while those of F_{SC} decreased. This was not unexpected given the relationship between both parameters (Dupanloup *et al.*, 2002). F_{CT} was clearly improved between $K = 2$ and $K = 3$, while all values for $K \geq 3$ were very similar, and all statistically significant, ranking from 0.81 ($K = 3$) to 0.85 ($K = 12$), possibly meaning that the information brought by the third group is more important than the information brought by the fourth and the following. The composition of groups for $K = 3$ corresponded to the geographical arrangement of localities according to river basin

(Figure 1). Progressively increasing K had the effect of adding new groups containing a single population, diluting the group structure.

Table 2. Population pair-wise F_{ST} values (in bold, values with a $P < 0.01$ as measured with 10,000 permutations).

Code	ESA	RAL	RPA	RSA	SRA	RSG	RLI	RPO	SMA	SDU	RSP	SHO
HCA	0.97	0.97	0.96	0.98	0.96	0.98	0.95	0.87	0.88	0.89	0.89	0.91
ESA		0.71	0.65	0.79	0.64	0.93	0.62	0.79	0.82	0.83	0.85	0.86
RAL			-0.11	0.20	0.15	0.87	0.33	0.80	0.81	0.83	0.85	0.86
RPA				0.08	0.01	0.81	0.18	0.77	0.79	0.80	0.82	0.84
RSA					0.16	0.91	0.37	0.82	0.84	0.85	0.87	0.88
SRA						0.81	0.23	0.76	0.77	0.78	0.81	0.83
RSG							0.37	0.84	0.85	0.87	0.89	0.91
RLI								0.76	0.77	0.77	0.81	0.83
RPO									-0.08	-0.15	0.02	0.31
SMA										-0.06	0.11	0.44
SDU											0.14	0.38
RSP												0.41

Phylogenetic relationships

The optimal nucleotide substitution model for the *cox1* matrix including the outgroups, as selected by Modeltest, was the general time-reversible model (GTR, Rodríguez *et al.*, 1990), with a proportion of invariable sites and heterogeneous rates following a gamma distribution (GTR+I+G). The result of the Bayesian analysis was very similar to those using other phylogenetic methods (Figure 2), with *O. glaber* sister to *O. notabilis*, and high support for the monophyly of the haplotypes found in the Segura and Júcar basins respectively (Figure 2). However, the basal nodes defining the relationships among haplotypes of the three main geographical areas had very low support, defining what is in fact a basal polytomy including several lineages within the Guadalquivir basin plus the populations from the Segura basin and the single population of the Júcar basin (Figure 2). The use of the ingroup only (with an estimated HKY85+I+G model of evolution, Hasegawa *et al.*, 1985) did not improve the resolution of the basal nodes within *O. glaber*. Within the Segura basin, three haplotypes of the same locality were sister to the rest (Se5, Se6 and Se7, Table 1), although with moderate support (Figure 2). Some other clades within the Segura and Guadalquivir basins were also strongly supported (Figure 2), defining a clear geographic structure (see below).

Table 3. Results of SAMOVA tests for increasing K (number of groups) values. With stars (*), values with $P < 0.05$ based on 100 simulations. See Table 1 for the codes of the localities.

K	F_{SC}	F_{ST}	F_{CT}	Group composition
2	0,76*	0,92*	0,68	(HCA) (ESA, RAL, RPA, RSA, SRA, RSG, RLI, RPO, SMA, SDU, RSP, SHO)
3	0,39*	0,88*	0,81*	(HCA) (ESA, RAL, RPA, RSA, SRA, RSG, RLI) (RPO, SMA, SDU, RSP, SHO)
4	0,33*	0,88*	0,82*	(HCA) (ESA, RAL, RPA, RSA, SRA, RSG, RLI) (RPO, SMA, SDU, RSP) (SHO)
5	0,22*	0,86*	0,82*	(HCA) (ESA, RAL, RPA, RSA, SRA, RLI) (RSG) (RPO, SMA, SDU, RSP) (SHO)
6	0,13*	0,85*	0,83*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA, RSA, SRA, RLI) (RSG) (RPO, SMA, SDU, RSP) (SHO)
7	0,06*	0,85*	0,84*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA, RSA, SRA, RLI) (RSG) (RPO, SMA, SDU) (RSP) (SHO)
8	0,04*	0,85*	0,84*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA, RSA, SRA, RLI) (RSG) (RPO, SMA) (SDU) (RSP) (SHO)
9	-0,00*	0,83*	0,83*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA, RSA) (SRA) (RSG) (RLI) (RPO, SMA, SDU) (RSP) (SHO)
10	-0,06*	0,83*	0,84*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA, RSA) (SRA) (RSG) (RLI) (RPO, SDU) (SMA) (RSP) (SHO)
11	-0,10*	0,83*	0,84*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA, RSA) (SRA) (RSG) (RLI) (RPO) (SMA) (SDU) (RSP) (SHO)
12	-0,16	0,82*	0,85*	(HCA) (ESA) (RAL, RPA) (RSA) (SRA) (RSG) (RLI) (RPO) (SMA) (SDU) (RSP) (SHO)

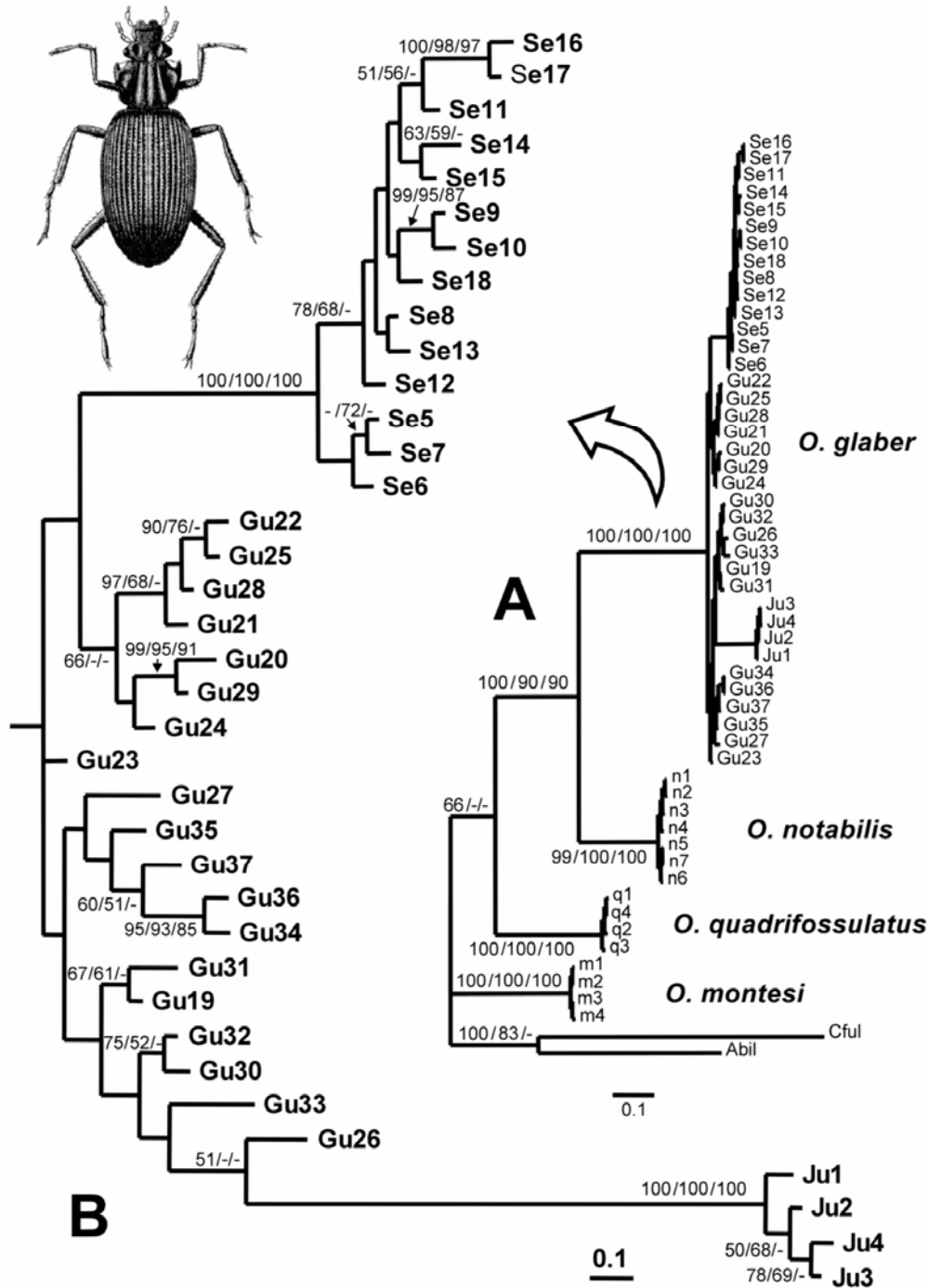


Figure 2. Phylogenetic reconstruction of the *cox1* haplotypes of *Ochthebius glaber*. A, Majority rule consensus tree of the Bayesian analysis including outgroups; B, analysis including only *O. glaber* haplotypes. Numbers above branches are (respectively) Bayesian posterior probabilities (x100) / ML bootstrap values / parsimony bootstrap values. For Bayesian and ML only support values greater than 50% are shown, for parsimony only values above 70% (under these criteria all supported nodes are congruent). Haplotypes are labelled as in Table 1, with the addition of Cful and Abil (*Catops fuliginosus* and *Aleochara bilineata* respectively).

Nested clade analysis

The statistical parsimony networks (Templeton *et al.*, 1992) connected *O. glaber cox1* haplotypes separated by ten or less non-homoplastic nucleotide substitutions with a 95% confidence probability. This threshold separated three independent networks, formed by the main three geographical areas: the basins of the Segura, Guadalquivir and Júcar rivers (Figure 3a), in agreement with the phylogenetic results (see above). The Segura basin network had a typical star-shape, with the most abundant and widespread haplotype occupying a central position, while that of the Guadalquivir basin had a more diffuse structure, with very few haplotypes found in more than one population (Figure 3a).

In an attempt to establish the best hypothesis for the geographical origin of the Segura and Júcar populations, a connection between the three haplotype networks was enforced by relaxing the 95% confidence threshold. The connection between Segura and Guadalquivir basin subnetworks required fourteen mutational steps, four steps beyond the confidence threshold for including homoplasious mutations (Templeton *et al.*, 1995), while the connection between the Júcar and Guadalquivir basins required 31 steps. The study of historical/demographic inferences using NCA requires that the network is rooted (Posada *et al.*, 2000), but in the absence of a robust hypothesis for the relationships among the three groups of haplotypes (see above), we rooted the *O. glaber* genealogy in the long branch connecting the haplotypes of the Júcar and Guadalquivir basins.

The connection between the Segura and Guadalquivir basins networks had a homoplastic loop, with two alternative equally parsimonious connections of the haplotype Se6 (Figure 3). We considered the two alternative connections in performing the nested clade analysis, although this ambiguity did only affect the nesting design of the networks at the three-step level, resulting in two contrasting possibilities (Figure 3). In one of them (Solution 1), clade 2-12 (involving the locality ESA) connected to clade 2-3 (including localities RPO and SHO), while in the other (Solution 2) clade 2-12 connected to clade 2-9 (SMA). Table 4 show the inferences of the nested clade analysis for the clades with significant geographical associations for the two alternative nesting solutions. In both cases, the main causes of the geographical associations, according to NCA, were restricted gene flow with isolation by distance, allopatric fragmentation and contiguous range expansion.

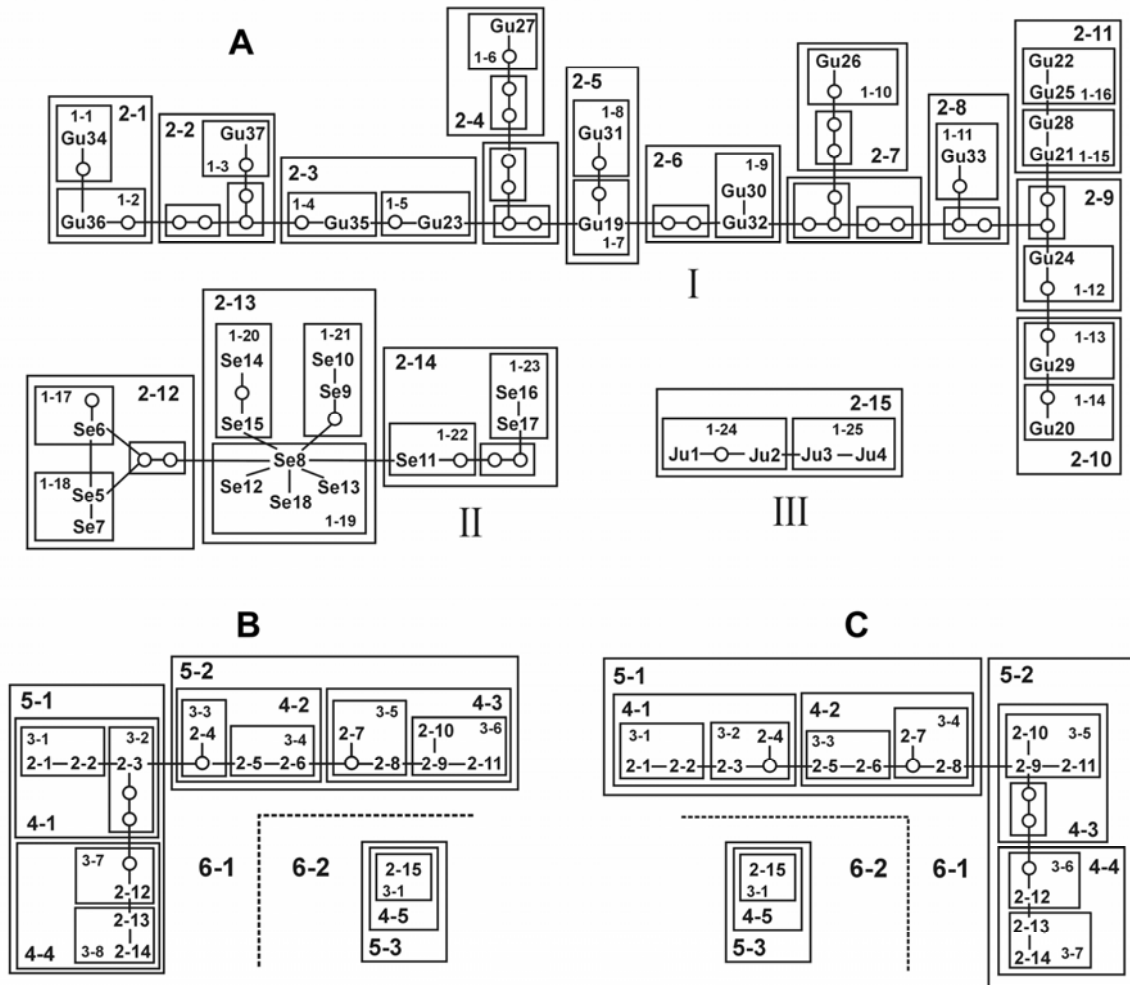


Figure 3. Statistical parsimony networks for the *cox1* haplotypes of *Ochthebius glaber*. Haplotype codes refer to Table 1. Solid lines connect haplotypes with a single mutation, boxes indicate nested clades of increasing steps; missing intermediates are indicated by an open circle. (A) The three independent networks obtained with a 95% probability of being linked without homoplasly (connections ≤ 10 mutational steps). For clarity, three- to six-step clades are represented in separate networks (B and C). Networks I, II and III grouped the haplotypes from the Guadalquivir, Segura and Júcar basins respectively. Fourteen mutational steps connect I and II, and 31 steps connect II and III. (B) and (C) Alternative designs connecting networks I and II (Solutions 1 and 2 respectively; see Results). In B clade 2-12 connects to clade 2-3 and in C clade 2-12 connects to 2-9.

Table 4. Inferences of the nested clade analysis for the clades with significant geographical associations for the two alternative nesting solutions (see main text and Figure 3).

Solution 1			Solution 2			Key chain and inferred process
Clade	χ^2	<i>P</i>	Clade	χ^2	<i>P</i>	
3-8	25.161	0.000	3-7	25.161	0.000	1-2-3-4-NO Restricted gene flow
4-4	42.000	0.000	4-4	42.000	0.000	1-19-NO Allopatric fragmentation
5-1	47.000	0.000	5-2	52.000	0.000	1-19-NO Allopatric fragmentation
5-2	6.163	n.s.	5-1	10.988	0.009	1-2-11-12-NO Contiguous range expansion
6-1	60.858	0.000	6-1	47.813	0.000	1-2-11-12-NO Contiguous range expansion
Total Cladogram	70.000	0.000	Total Cladogram	70.000	0.000	1-19-NO Allopatric fragmentation

DISCUSSION

Genetic diversity and population history of Ochthebius glaber

The most unexpected result of this study was the discovery of considerable genetic diversity of mitochondrial haplotypes within and between populations of *O. glaber*, especially within those from the Guadalquivir basin. These intraspecific genetic divergences are higher than those found among other morphologically well characterised Iberian endemic species of water beetles (Ribera and Vogler, 2004), whose geographic ranges are much wider than that of *O. glaber*. The genetic variation of *O. glaber* has also revealed a well defined geographical population structure, in contrast to our expectations based on the taxonomy and biology of the species. Little is known regarding the dispersal capability of *O. glaber*, but it is able to fly and its small size could facilitate passive dispersal by the wind. Other species within the genus *Ochthebius* in similar habitats show massive swarming flights under certain environmental conditions (unpublished observations), although this has never been observed with *O. glaber*.

Our results clearly demonstrate the existence of three main geographical groups of mitochondrial haplotypes but with unresolved phylogenetic relationships, which have remained genetically isolated from each other for significant periods of time. The higher genetic diversity observed within the Guadalquivir populations, which in the phylogenetic trees appear as basal and paraphyletic with respect to the Segura and Júcar populations, suggests that *O. glaber* could have originated in this Tertiary basin, from where the other areas would have been colonised. Supporting this view is the star-like signature of the haplotype tree in the Segura basin, typical of rapid population expansions from a reduced number of founders (Slatkin and Hudson, 1991; von Haeseler *et al.*, 1996; Forster *et al.*, 2001), with a high negative D-value (Aris-Brosou and Excoffier, 1996; Rogers *et al.*, 1996).

The earliest phylogeographic event inferred for *O. glaber* was a past fragmentation separating the population in the Júcar basin from the rest. Prominent genetic gaps define allopatric lineages, and these probably originated from long-term extrinsic barriers to gene exchange (Avice, 2000), concordant with the high genetic distinctiveness shown by the Júcar population. However, it should be noted that the distance between the Júcar population and the nearest population of *O. glaber* in the Segura basin is only 110 Km (Figure 1) and, although there are no suitable habitats for the species in between, there are also no prominent orographic barriers.

The history of the remaining populations in the Guadalquivir and Segura basins, as reconstructed by the NCA, seems to be one of range expansion and subsequent fragmentation originating the isolation of Segura haplotypes in SE Spain. Within this last group, a new allopatric fragmentation event and restricted gene flow seem to have played a main role in the geographical associations of haplotypes.

A potential explanation for the considerable mtDNA divergence and genealogical structuring found in populations separated by relatively small geographical distances is the scattered, discontinuous occurrence of suitable habitats. In the light of the results presented here it seems that the patchy distribution of hypersaline streams (Abellán *et al.*, 2005a) may be sufficient to restrict gene flow even among close populations within the same geographical area, this perhaps being reinforced in some cases by a rugged topography. An additional factor to be considered is the natural instability of hypersaline environments, resulting in likely frequent extinction/recolonisation events and large changes in effective population size due to the explosive population dynamics of *O. glaber*.

Implications for conservation

The recognition of conservation units below the species level is a crucial task if we are to avoid the loss of genetic diversity in species inhabiting threatened environments such as saline inland waters. One widely used framework to distinguish units for conservation purposes has been that of evolutionary significant units (ESU), originally proposed by Ryder (1986) but further developed by different authors (*e.g.*, Waples, 1991; Avice, 1994; Moritz, 1994b; Vogler and DeSalle, 1994; see Fraser and Bernatchez, 2001 for a review). Our results show the existence of three discrete genetic units within *O. glaber* at a relatively small geographical scale, which could be considered as ESUs.

We are aware of the potential effects of evolutionary stochasticity and of sampling limitations in defining ESUs based exclusively on mtDNA, which is also maternally inherited and therefore does not reflect male-mediated gene flow (Moritz, 1994a; Avice, 1995). Furthermore, some authors (*e.g.*, Bowen, 1999; Crandall *et al.*, 2000) have recently called for incorporation of ecological and/or genetic data of adaptive significance into the formulation of ESUs. To date, there is no evidence that the populations of *O. glaber* exhibit any adaptive divergence (morphological or ecological), and collection of corroborating ecological, behavioural or life history data is beyond the original aims of this study. Nevertheless, the sort of deep genetic structuring found in *O. glaber* may have promoted as yet undetected local adaptations and which may be important in maintaining the adaptive potential of the

species. At the very least, historical isolation represents an accumulation of novel mutations between populations even though these may not be readily distinguishable by obvious external “adaptive” differences (Fraser and Bernatchez, 2001).

Fraser and Bernatchez (2001) integrate the ESU in a more general and flexible concept, the Adaptive Evolutionary Conservation (AEC). In this theoretical framework, an ESU is a lineage demonstrating highly restricted gene flow from other such lineages within the higher organizational level of the species, and the authors suggest to use the best available biological information in exercising ESU definitions on a case-by-case basis. In general, any criteria providing evidence of lineage sorting through highly reduced gene flow are potentially useful for conservation initiatives under the ESU definition of AEC, provided it is rigorously applied. The mtDNA data presented here suggest significant geographical structuring of genetic variation across the range of *O. glaber*, and the phylogenetic and phylogeographic analyses point to long-term historical isolation among the three geographical areas where this species occurs, corresponding to the main river basins. Because of the existence of large areas of habitat discontinuity between these three regions, their genetic singularity and the inferred history of the group, it seems unlikely that genetic exchange occurs. Thus, our study supports the recognition of these three lineages as different evolutionary significant units under the adaptive evolutionary conservation concept.

We believe that a definition of ESUs within *O. glaber* corresponding to the main river basins is also in good correspondence with their different conservation status (see Green, 2005). Anthropogenic habitat transformations are not equally dramatic in the three areas where the populations of the species are found. Although inland saline habitats are in general socially under-valuated environments, land-use changes are particularly intense in the south-east of Spain, specially in the Segura basin (see Table 1), where the amount of land being irrigated has increased rapidly and saline streams are disappearing due to the irrigation of surrounding agricultural land (Martínez-Fernández *et al.*, 2000; Sánchez-Fernández *et al.*, 2004). In conservation terms, these Segura populations are most threatened, and therefore require more urgent attention than those within other less transformed areas such as the Guadalquivir and Júcar basins.

Given the natural instability of hypersaline environments, it seems likely that efforts to preserve individual populations that could be considered to be representative of the different ESUs are futile, as this will not warrant the preservation of the process generating and maintaining their diversity. It could be argued that the conservation of a whole network of populations and potential habitats is necessary for preserving the processes underlying the generation of the observed pattern (see *e.g.*, Ennos *et al.*, 2005), and the important factor would be to preserve the ability to generate and maintain high levels of haplotype diversity within and between populations, whatever the originating mechanisms.

REFERENCES

- Abellán P., Sánchez-Fernández D., Ribera I., Velasco J., Millán A. 2005a. *Ochthebius glaber* (Col: Hydraenidae), un coleóptero acuático endémico de la península ibérica con elevada especificidad de hábitat. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, **36**, 9-14.
- Abellán P., Sánchez-Fernández D., Velasco J., Millán A. 2005b. Assessing conservation priorities for insects: status of water beetles in southeast Spain. *Biological Conservation*, **121**, 79-90.
- Aris-Brosou S., Excoffier L. 1996. The impact of population expansion and mutation rate heterogeneity on DNA sequence polymorphism. *Molecular Biology and Evolution*, **13**, 494–504.
- Avise J.C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, New York.
- Avise J.C. 1995. Mitochondrial DNA polymorphism and a connection between genetics and demography of relevance to conservation. *Conservation Biology*, **9**, 686–690.
- Avise J.C. 2000. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, MA, USA.
- Baker A.M., Williams S.A., Hughes J.M. 2003. Patterns of spatial genetic structuring in a hydropsyhid caddisfly from southeastern Australia. *Molecular Ecology*, **12**, 3313–3324.
- Bamber R.N., Batten S.D., Shearer M., Bridgewater N.D. 1992. On the ecology of brackish water lagoons in Great Britain. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **2**, 65-94.
- Bowen B.W. 1999. Preserving genes, species, or ecosystems? Healing the fractured foundations of conservation policy. *Molecular Ecology*, **8**, 5–10.
- Clement M.D., Posada D., Crandall K.A. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, **9**, 1657–1659.
- Cracraft J. 1997. Species concepts in systematics and conservation biology -An ornithological viewpoint, In: *Species: The units of biodiversity* (eds. Claridge M.F., Dawah H. A., Wilson M.R.), pp. 325–339. Chapman and Hall, New York.
- Crandall K.A., Bininda-Emonds O.R.P., Mace G.M., Wayne R.K. 2000. Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution*, **17**, 390–395.

Diogo A.C., Vogler A.P., Jiménez A., Gallego D., Galián J. 1999. Conservation genetics of *Cicindela deserticoloides* an endangered tiger beetle endemic to southeastern Spain. *Journal of Insect Conservation*, **3**, 117–123.

Dupanloup I., Schneider S., Excoffier L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, **11**, 2571–2581.

Ennos R.A., French G.C., Hollingsworth P.M. 2005. Conserving taxonomic complexity. *Trends in Ecology and Evolution*, **20**, 164–168.

Forster P., Torroni A., Renfrew C., Röhl A. 2001. Phylogenetic star contraction applied to Asian and Papuan mtDNA evolution. *Molecular Biology and Evolution*, **18**, 1864–1881.

Foster G.N. 2000. The aquatic Coleoptera of British saltmarshes: extremes of generalism and specialism, In: *British Saltmarshes* (eds. Sherwood B.R., Gardiner B.G., Harris T.), pp. 223–233. Linnean Society, London.

Fraser D.J., Bernatchez L. 2001. Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Molecular Ecology*, **10**, 2741–2752.

Gómez A., Carvalho G.R., Lunt D.H. 2000. Phylogeography and regional endemism of a passively dispersing zooplankton: mitochondrial DNA variation in rotifer resting egg banks. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **267**, 2189–2197.

Gómez A., Serra M., Carvalho G.R., Lunt D.H. 2002. Speciation in ancient cryptic species complexes: Evidence from the molecular phylogeny of *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Evolution*, **56**, 1431–1444.

Gómez R., Hurtado I., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R. 2005. Ramblas in south-east Spain: threatened and valuable ecosystems. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **15**, 387–402.

Green D.M. 2005. Designatable units for status assessment of endangered species. *Conservation Biology*, **11**, 1813–1820.

Guindon S., Gascuel O. 2003. PHYML: A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, **52**, 696–704.

Hansen M. 1999. *Hydrophiloidea (Coleoptera)*. *World Catalogue of Insects*. Vol. 2. Apollo, Stenstrup.

von Haeseler A., Sajantila A., Pääbo S. 1996. The genetical archaeology of the human genome. *Nature Genetics*, **14**, 135–140.

Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**, 95–98.

Hasegawa M., Kishino K., Yano T. 1985. Dating the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, **22**, 160-174.

Huelsenbeck J.P., Ronquist F. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, **17**, 754–755.

Hudson R.R. 1990. Gene genealogies and the coalescent process. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology*, **7**, 1–44.

Hughes J.M., Bunn S.E., Hurwood D.A., Choy S., Pearson R.G. 1996. Genetic differentiation among populations of *Caridina zebra* (Decapoda: Atyidae) in tropical rainforest streams, northern Australia. *Freshwater Biology*, **36**, 289–296.

Hughes J.M., Mather P.B., Hillyer M.J., Cleary C., Peckarsky B. 2003. Genetic structure in a montane mayfly *Baetis bicaudatus* (Ephemeroptera: Baetidae), from the Rocky Mountains, Colorado. *Freshwater Biology*, **48**, 2149–2162.

Jäch M.A. 1992. Revision of the Palearctic species of the genus *Ochthebius* Leach, 1815. IX. The andraei and notabilis species groups (Coleoptera, Hydraenidae). *Nachrichtenbl. Nachrichtenblatt Bayerischer Entomologen*, **41**, 7-21.

Kauwe J.S.K., Shiozawa D.K., Evans R.P. 2004. Phylogeographic and nested clade analysis of the stonefly *Pteronarcys californica* (Plecoptera:Pteronarcyidae) in the western USA. *Journal of the North American Benthological Society*, **23**, 824–838.

King T.L., Eackles M.S., Gjetvaj B., Hoeh W.R. 1999. Intraspecific phylogeography of *Lasmigona subviridis* (Bivalvia: Unionidae): conservation implications of range discontinuity. *Molecular Ecology*, **8**, 65–78.

Kumar S., Tamura K., Nei M. 1994. MEGA: molecular evolutionary genetics analysis software for microcomputers. *Computer Applications in Biosciences*, **10**, 189–191.

Lawrence J.F., Newton Jr A.F. 1995. Families and subfamilies of Coleoptera (with selected genera, notes, references and data on family-group names). In: *Biology, phylogeny, and classification of Coleoptera*. Papers celebrating the 80th birthday of Roy A. Crowson (eds. Pakaluk J., Slipinski S.A.), pp. 779–1006. Crowson. Muzeum I Instytut Zoologii PAN, Warszawa.

Martínez–Fernández J., Esteve–Selma M.A., Calvo–Sendín J.F. 2000. Environmental and socio–economic interaction in the evolution of traditional irrigate lands. A dynamic system model. *Human Ecology*, **28**, 279–299.

Maus C., Peschke K., Dobler S. 2001. Phylogeny of the genus *Aleochara* inferred from mitochondrial cytochrome oxidase sequences (Coleoptera: Staphylinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **18**, 202-216.

Millán A., Moreno J.L., Velasco J. 2002. *Estudio faunístico y ecológico de los coleópteros y heterópteros acuáticos y semiacuáticos de la provincia de Albacete*. Instituto de Estudios Albacetenses, Albacete.

Montes C., Soler A.G. 1988. A new species of the Genus *Ochthebius* (Subgenus *Calobius*) (Coleoptera: Hydraenidae) from Iberian hypersaline waters. *Aquatic Insects*, **10**, 43–47.

Moreno J.L., Millán A., Suárez M.L., Vidal-Abarca M.R., Velasco J. 1997. Aquatic Coleoptera and Heteroptera assemblages in waterbodies from ephemeral coastal streams (“ramblas”) of south-eastern Spain. *Archiv fur Hydrobiologie*, **141**, 93-107.

Moritz C. 1994a. Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review. *Molecular Ecology*, **3**, 401–411.

Moritz C. 1994b. Defining “evolutionary significant units” for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, **9**, 373 –375.

Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.

Posada D., Crandall K.A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, **14**, 817–818.

Posada D., Crandall K.A., Templeton A.R. 2000. Geodis: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. *Molecular Ecology*, **9**, 487-488.

Ribera I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation*, **92**, 131-150.

Ribera I., Hernando C., Aguilera P. 1998. An Annotated checklist of the Iberian water beetles (Coleoptera). *Zapateri*, **8**, 43-111.

Ribera I., Vogler A.P. 2004. Speciation of Iberian diving beetles in Pleistocene refugia (Coleoptera, Dytiscidae). *Molecular Ecology*, **13**, 179-193.

Rodríguez F., Oliver J.F., Marín A., Medina J.R. 1990. The general stochastic model of nucleotide substitution. *Journal of Theoretical Biology*, **142**, 485-501.

Rogers A.R., Fraley A.E., Bamshad M.J., Watkins W.S., Jorde L.B. 1996. Mitochondrial mismatch analysis is insensitive to the mutational process. *Molecular Biology and Evolution*, **13**, 895-902

Rozas J., Sánchez-DelBarrio J.C., Messeguer X., Rozas R. 1999. Dnasp, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, **19**, 2496–2497.

Ryder, O.A. 1986. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*, **1**, 9–10.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Barahona J., Velasco J., Millán A. 2004. El regadío amenaza a los mejores ecosistemas acuáticos de Murcia. *Quercus*, **215**, 68-69.

Sánchez-Fernández D., Abellán P., Millán A., Velasco J. 2003. *Los coleópteros acuáticos de la Región de Murcia. Catálogo faunístico y áreas prioritarias de conservación*. Monografías SEA 10. Zaragoza.

Schneider S., Roessli D., Excoffier L. 2000. *Arlequin, version 2.000: A software for population genetic analysis*. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Geneva.

Simon C., Frati .F, Beckenbach A.T., Crespi B., Liu H., Flook P. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, **87**, 651–701.

Sites J.W., Marshall J.C. 2004. Operational criteria for delimiting species. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **35**, 199-22

Slatkin M., Hudson R.R. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, **129**, 555–562.

Stoate C., Boatman N.D., Borralho R.J., Carvalho C.R., de Snoo G.R., Eden P. 2001. Ecological impacts of arable intensification in Europe. *Journal of Environmental Management*, **63**, 337–365.

Swofford D.L. 2002. *PAUP*. Phylogenetic Analysis using Parsimony (* and other methods), Version 4.0b10*. Sinauer and Associates. Sunderland, Massachusetts.

Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, **123**, 585–595.

Templeton A.R. 1998. Nested clade analysis of phylogeographic data: testing hypothesis about gene flow and population history. *Molecular Ecology*, **7**, 381–397.

Templeton A.R., Crandall K.A., Sing C.F. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. III. Cladogram estimation. *Genetics*, **132**, 619–633.

Templeton A.R., Routman E., Phillips C.A. 1995. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographic distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics*, **140**, 767–782.

Verdú J.R., Galante E. 2005. *Libro Rojo de los Invertebrados de España*. Dirección General para la Biodiversidad, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.

Vogler A.P., DeSalle R. 1994. Diagnosing units of conservation management. *Conservation Biology*, **8**, 354-363.

Waples R.S. 1991. Pacific Salmon, *Oncorhynchus* spp. and the definition of “species” under the endangered species act. *Marine Fisheries Review*, **53**, 11–22.

Williams W.D. 1999. Conservation of wetlands in drylands: a key global issue. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **9**, 517–522.

General conclusions

Chapter 1

(1) *Ochthebius glaber*, *O. irenae*, *O. montesi*, *O. albacetinus* and *Hydraena mecai* were seen to be the most vulnerable beetle species, for which reason we propose they should be included in the national red list. Furthermore, *Ochthebius glaber*, *O. irenae* and *O. montesi* are proposed for inclusion in the IUCN red list as “Vulnerable”. These species are Iberian endemisms, with geographic ranges restricted to the southeast, and are threatened by habitat loss.

(2) Effective protection of these species requires measures directed at the conservation of their habitats. Crucial target habitats for protection in the southeast of the Iberian Peninsula include freshwater streams at medium altitudes, saline streams and endorreic lagoons.

Chapter 2

(3) The complementarity approaches were more efficient than methods using scoring or richness and rarity hotspots for representing conservation targets in a given number of areas and for identifying the minimum set of areas containing all species at least once. Within these, the richness-based algorithm was more efficient than rarity-based algorithm.

(4) Crucial target habitats for aquatic biodiversity conservation in the area studied are streams at medium altitude, hypersaline streams, and endorreic and karstic complexes.

Chapter 3

(5) Although current protected area system in the Segura Basin covers a relatively high number of water beetle species, the distribution and extent of reserves is still inadequate or insufficient to protect freshwater biodiversity, especially species of conservation concern.

(6) Alternative area-selection methods (hotspots and complementary) were more efficient than PAs for representing water beetles. Within these, complementarity was the most efficient approach, and was able to represent all species in a significantly lower area than current PA network.

(7) On the other hand, the future Natura 2000 Network will result in a great increase in the total area of protected land as well as in the biodiversity represented.

(8) Unfortunately, the occurrence of a species within a protected area is not a guarantee of long-term survival because the extent of PAs is often insufficient and disturbances occur outside park boundaries. Thus, whole-catchment management and natural-flow maintenance are indispensable strategies for freshwater biodiversity conservation.

Chapter 4

(9) Taxonomic distinctness measures were not able to identify human disturbance effects and there were no clear relationships between these new biodiversity measures and the disturbance level recorded at individual localities.

(10) Furthermore, the taxonomic distinctness measures used were apparently less sensitive to the effects of anthropogenic impact than other diversity metrics, such as species richness and rarity.

(11) Taxonomic distinctness indices may not always perform as well as other metrics in the assessment of environmental quality. In addition, taxonomic distinctness measures should be interpreted with caution, since their performance and ability to detect anthropogenic disturbance may depend on the phylogenetic structure of sampled taxa within a region, and their evolutionary and ecological history.

Chapter 5

(12) Phylogeographic analyses revealed a surprisingly high degree of geographical structure in *Ochthebius glaber*, detectable among populations separated by relatively short geographical distances, with three main groups of haplotypes which have apparently been isolated for significant periods of time.

(13) Past fragmentation and contiguous range expansion events were inferred as the main causes of the detected geographical associations of haplotypes.

(14) The establishment of independent evolutionary lineages as conservation units is particularly important for species inhabiting saline habitats such as *O. glaber*, which is endangered by habitat loss across most of its distribution. However, given the natural instability of hypersaline environments, the conservation of a network of populations and potential habitats would be necessary to enable the preservation of the process generating and maintaining the diversity of the species.

Apéndices / Appendixes

Apéndice 1. Vulnerabilidad de las especies de coleópteros acuáticos en la provincia de Albacete (*GD*, Distribución general; *E*, Endemicidad; *R*, Rareza; *P*, Persistencia; *HR*, Rareza del hábitat; *HL*, Pérdida de hábitat; *VS*, Puntuación de vulnerabilidad; *Categ.*, Categoría). Ver Capítulo 1.

Appendix 1. Vulnerability for water beetle species from Albacete province (*GD*, General distribution; *E*, Endemicity; *R*, Rarity; *P*, Persistence; *HR*, Habitat rarity; *HL*, Habitat loss; *VS*, Vulnerability score; *Categ.*, Category). See Chapter 1.

Nº	Taxon	GD	E	R	P	HR	HL	VS	Categ.
1	<i>Ochthebius irenae</i>	3	3	2	0	1	1	10	Alta / High
2	<i>Ochthebius albacetus</i>	3	2	3	2	0	0	10	Alta / High
3	<i>Ochthebius glaber</i>	3	2	2	0	1	2	10	Alta / High
4	<i>Hydraena affusa</i>	3	1	3	1	0	1	9	Alta / High
5	<i>Hydraena bolivari</i>	3	2	2	1	0	1	9	Alta / High
6	<i>Hydraena mecai</i>	3	3	3	0	0	0	9	Alta / High
7	<i>Limnebius hispanicus</i>	3	2	3	0	0	1	9	Alta / High
8	<i>Limnebius millani</i>	3	3	2	0	0	1	9	Alta / High
9	<i>Ochthebius bellieri</i>	3	2	2	1	0	1	9	Alta / High
10	<i>Ochthebius semotus</i>	3	2	3	0	0	1	9	Alta / High
11	<i>Gyrinus suffriani</i>	1	0	3	2	2	0	8	Media / Moderate
12	<i>Graptodytes castilianus</i>	3	1	3	0	0	1	8	Media / Moderate
13	<i>Hydaticus seminiger</i>	1	0	3	1	2	1	8	Media / Moderate
14	<i>Helophorus bameuli</i>	3	1	3	0	0	1	8	Media / Moderate
15	<i>Enochrus falcarius</i>	2	0	3	0	1	2	8	Media / Moderate
16	<i>Coelostoma orbiculare</i>	1	0	3	1	2	1	8	Media / Moderate
17	<i>Hydraena manfredjaechi</i>	3	2	1	1	0	1	8	Media / Moderate
18	<i>Ochthebius tacapasensis baeticus</i>	1	0	3	2	0	2	8	Media / Moderate
19	<i>Agabus guttatus</i>	1	0	3	2	0	1	7	Media / Moderate
20	<i>Graphoderus cinereus</i>	1	0	3	0	2	1	7	Media / Moderate
21	<i>Dytiscus semisulcatus</i>	0	0	3	1	2	1	7	Media / Moderate
22	<i>Hydraena unca</i>	3	1	3	0	0	0	7	Media / Moderate
23	<i>Hydraena atrata</i>	3	0	2	0	1	1	7	Media / Moderate
24	<i>Ochthebius maculatus</i>	1	0	3	0	1	2	7	Media / Moderate
25	<i>Ochthebius auropallens</i>	1	0	3	0	1	2	7	Media / Moderate
26	<i>Ochthebius corrugatus</i>	1	0	3	2	0	1	7	Media / Moderate
27	<i>Oulimnius tuberculatus</i>	3	0	0	3	0	1	7	Media / Moderate
28	<i>Deronectes depressicollis</i>	3	2	1	0	0	0	6	Media / Moderate

Apéndice 1 (continuación) / Appendix 1 (continuation)

Nº	Taxon	GD	E	R	P	HR	HL	VS	Categ.
29	<i>Nebrioporus bucheti cazorlensis</i>	3	1	1	0	0	1	6	Media / Moderate
30	<i>Dytiscus pisanus</i>	0	0	3	3	0	0	6	Media / Moderate
31	<i>Cybister lateralimarginalis</i>	0	0	3	0	1	2	6	Media / Moderate
32	<i>Hydrochus ibericus</i>	3	2	0	0	0	1	6	Media / Moderate
33	<i>Hydrochus nooreinus</i>	3	2	0	0	0	1	6	Media / Moderate
34	<i>Laccobius atratus</i>	1	0	3	0	2	0	6	Media / Moderate
35	<i>Hydraena exasperata</i>	3	1	1	0	0	1	6	Media / Moderate
36	<i>Hydraena quilisi</i>	3	0	1	1	0	1	6	Media / Moderate
37	<i>Hydraena servilia</i>	3	2	0	0	0	1	6	Media / Moderate
38	<i>Limnebius cordobanus</i>	3	1	1	0	0	1	6	Media / Moderate
39	<i>Aulacothebius exaratus</i>	0	0	2	1	2	1	6	Media / Moderate
40	<i>Ochthebius cuprescens</i>	1	0	1	3	0	1	6	Media / Moderate
41	<i>Haliphus andalusicus</i>	0	0	2	1	1	1	5	Media / Moderate
42	<i>Haliphus guttatus</i>	0	0	3	0	1	1	5	Media / Moderate
43	<i>Hydroporus decipiens</i>	3	1	1	0	0	0	5	Media / Moderate
44	<i>Hydroporus limbatus</i>	0	0	2	0	1	2	5	Media / Moderate
45	<i>Deronectes fairmairei</i>	0	0	3	1	0	1	5	Media / Moderate
46	<i>Stictotarsus duodecimpustulatus</i>	0	0	3	0	2	0	5	Media / Moderate
47	<i>Rhantus hispanicus</i>	0	0	3	1	0	1	5	Media / Moderate
48	<i>Colymbetes schildknechti</i>	1	0	3	0	0	1	5	Media / Moderate
49	<i>Helophorus fulgidicollis</i>	0	0	2	0	1	2	5	Media / Moderate
50	<i>Berosus signaticollis</i>	0	0	3	0	1	1	5	Media / Moderate
51	<i>Hydraena flavipes</i>	1	0	2	1	0	1	5	Media / Moderate
52	<i>Limnebius gerhardti</i>	3	1	1	0	0	0	5	Media / Moderate
53	<i>Ochthebius metallescens</i>	1	0	2	1	0	1	5	Media / Moderate
54	<i>Ochthebius tudmirensis</i>	3	2	0	0	0	0	5	Media / Moderate
55	<i>Gyrinus substriatus</i>	0	0	3	0	0	1	4	Baja / Low
56	<i>Bidessus coxalis</i>	0	0	3	0	0	1	4	Baja / Low
57	<i>Hydroporus nigrita</i>	1	0	1	0	1	1	4	Baja / Low
58	<i>Stictonectes epipleuricus</i>	3	0	0	0	0	1	4	Baja / Low
59	<i>Nebrioporus baeticus</i>	3	1	0	0	0	0	4	Baja / Low
60	<i>Agabus ramblae</i>	3	1	0	0	0	0	4	Baja / Low
61	<i>Ilybius chalconatus</i>	0	0	2	1	0	1	4	Baja / Low
62	<i>Ilybius montanus</i>	0	0	2	0	1	1	4	Baja / Low
63	<i>Meladema coriacea</i>	0	0	2	0	1	1	4	Baja / Low
64	<i>Dytiscus circumflexus</i>	0	0	1	0	1	2	4	Baja / Low
65	<i>Dytiscus marginalis</i>	0	0	2	0	1	1	4	Baja / Low
66	<i>Helophorus flavipes</i>	1	0	2	0	0	1	4	Baja / Low
67	<i>Helophorus seidlitzii</i>	3	1	0	0	0	0	4	Baja / Low
68	<i>Paracymus aeneus</i>	0	0	3	0	0	1	4	Baja / Low
69	<i>Paracymus phalacroides</i>	0	0	2	0	1	1	4	Baja / Low
70	<i>Laccobius atrocephalus</i>	1	0	0	1	0	2	4	Baja / Low
71	<i>Hydrobius convexus</i>	0	0	3	0	0	1	4	Baja / Low
72	<i>Limnoxenus niger</i>	1	0	1	0	1	1	4	Baja / Low
73	<i>Hydraena carbonaria</i>	3	0	0	0	0	1	4	Baja / Low
74	<i>Hydraena pygmaea</i>	1	0	2	0	0	1	4	Baja / Low
75	<i>Ochthebius delgadoi</i>	3	1	0	0	0	0	4	Baja / Low

Apéndice 1 (continuación) / Appendix 1 (continuation)

Nº	Especie	DG	E	RR	P	RH	PH	VR	Clase
76	<i>Ochthebius notabilis</i>	1	0	0	0	2	1	4	Baja / Low
77	<i>Dryops luridus</i>	0	0	2	1	0	1	4	Baja / Low
78	<i>Gyrinus distinctus</i>	0	0	2	0	0	1	3	Baja / Low
79	<i>Bidessus pumilus</i>	0	0	1	0	1	1	3	Baja / Low
80	<i>Hygrotus inaequalis</i>	0	0	1	0	1	1	3	Baja / Low
81	<i>Graptodytes aequalis</i>	1	0	1	0	0	1	3	Baja / Low
82	<i>Graptodytes fractus</i>	0	0	3	0	0	0	3	Baja / Low
83	<i>Chaetarthria seminulum seminulum</i>	0	0	1	1	0	1	3	Baja / Low
84	<i>Paracymus scutellaris</i>	0	0	1	1	0	1	3	Baja / Low
85	<i>Hydrochara flavipes</i>	0	0	1	0	1	1	3	Baja / Low
86	<i>Hydraena cordata</i>	0	0	1	1	0	1	3	Baja / Low
87	<i>Hydraena riparia</i>	1	0	2	0	0	0	3	Baja / Low
88	<i>Enicocerus exsculptus</i>	0	0	2	0	0	1	3	Baja / Low
89	<i>Ochthebius mediterraneus</i>	0	0	1	2	0	0	3	Baja / Low
90	<i>Ochthebius quadrioveolatus</i>	1	0	0	2	0	0	3	Baja / Low
91	<i>Potamophilus acuminatus</i>	0	0	1	0	0	2	3	Baja / Low
92	<i>Elmis rioloides</i>	1	0	0	0	0	2	3	Baja / Low
93	<i>Oulimnius rivularis</i>	0	0	1	0	1	1	3	Baja / Low
94	<i>Riolus subviolaceus</i>	1	0	0	1	0	1	3	Baja / Low
95	<i>Dryops lutulentus</i>	0	0	0	1	0	2	3	Baja / Low
96	<i>Laccophilus poecilus</i>	0	0	0	0	1	1	2	Baja / Low
97	<i>Hydroglyphus signatellus</i>	1	0	0	1	0	0	2	Baja / Low
98	<i>Hydroporus marginatus</i>	0	0	1	0	0	1	2	Baja / Low
99	<i>Agabus nitidus</i>	0	0	1	0	0	1	2	Baja / Low
100	<i>Hydaticus leander</i>	0	0	0	0	1	1	2	Baja / Low
101	<i>Helophorus asturiensis</i>	0	0	1	0	0	1	2	Baja / Low
102	<i>Hydrochus grandicollis</i>	1	0	0	0	0	1	2	Baja / Low
103	<i>Chaetarthria similis</i>	0	0	1	0	0	1	2	Baja / Low
104	<i>Anacaena globulus</i>	0	0	1	0	0	1	2	Baja / Low
105	<i>Enochrus salomonis</i>	2	0	0	0	0	0	2	Baja / Low
106	<i>Hydraena hernandoi</i>	1	0	0	0	0	1	2	Baja / Low
107	<i>Limnebius oblongus</i>	0	0	1	1	0	0	2	Baja / Low
108	<i>Ochthebius bonnairei</i>	1	0	0	0	0	1	2	Baja / Low
109	<i>Limnius opacus</i>	0	0	0	0	0	2	2	Baja / Low
110	<i>Riolus cupreus</i>	1	0	0	0	0	1	2	Baja / Low
111	<i>Haliphus obliquus</i>	0	0	1	0	0	0	1	Baja / Low
112	<i>Hygrobia hermanni</i>	0	0	0	0	0	1	1	Baja / Low
113	<i>Hygrotus impressopunctatus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
114	<i>Hygrotus lagari</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
115	<i>Herophydrus musicus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
116	<i>Hydroporus lucasi</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
117	<i>Hydroporus normandi</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
118	<i>Graptodytes flavipes</i>	0	0	0	0	0	1	1	Baja / Low
119	<i>Deronectes hispanicus</i>	0	0	0	0	0	1	1	Baja / Low
120	<i>Nebrioporus clarki</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
121	<i>Agabus paludosus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
122	<i>Colymbetes fuscus</i>	0	0	1	0	0	0	1	Baja / Low
123	<i>Helophorus nubilus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
124	<i>Helophorus brevipalpis</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low

Apéndice 1 (continuación) / Appendix 1 (continuation)

Nº	Especie	DG	E	RR	P	RH	PH	VR	Clase
125	<i>Hydrochus smaragdineus</i>	0	0	0	0	0	1	1	Baja / Low
126	<i>Berosus guttalis</i>	0	0	1	0	0	0	1	Baja / Low
127	<i>Anacaena limbata</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
128	<i>Laccobius gracilis intermittens</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
129	<i>Laccobius obscuratus</i>	0	0	0	0	0	1	1	Baja / Low
130	<i>Hydraena capta</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
131	<i>Hydraena rufipennis</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
132	<i>Limnebius maurus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
133	<i>Limnebius papposus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
134	<i>Ochthebius aeneus</i>	0	0	0	1	0	0	1	Baja / Low
135	<i>Ochthebius marinus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
136	<i>Elmis aenea</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
137	<i>Elmis maugetii maugetii</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
138	<i>Esolus parallelepipedus</i>	0	0	0	0	0	1	1	Baja / Low
139	<i>Oulimnius troglodytes</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
140	<i>Limnius volckmari</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
141	<i>Normandia nitens</i>	0	0	0	0	0	1	1	Baja / Low
142	<i>Normandia sodalis</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
143	<i>Riolus illiesi</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
144	<i>Dryops sulcipennis</i>	0	0	1	0	0	0	1	Baja / Low
145	<i>Gyrinus caspius</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
146	<i>Gyrinus dejeani</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
147	<i>Gyrinus urinator</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
148	<i>Aulonogyrus striatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
149	<i>Orectochilus villosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
150	<i>Peltodytes rotundatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
151	<i>Halipilus lineatocollis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
152	<i>Halipilus mucronatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
153	<i>Noterus laevis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
154	<i>Laccophilus hyalinus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
155	<i>Laccophilus minutus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
156	<i>Hyphydrus aubei</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
157	<i>Hydrovatus clypealis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
158	<i>Yola bicarinata</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
159	<i>Bidessus minutissimus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
160	<i>Hydroglyphus geminus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
161	<i>Hygrotus confluens</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
162	<i>Hygrotus pallidulus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
163	<i>Hydroporus discretus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
164	<i>Hydroporus planus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
165	<i>Hydroporus pubescens</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
166	<i>Hydroporus tessellatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
167	<i>Graptodytes ignotus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
168	<i>Graptodytes varius</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
169	<i>Metaporus meridionalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
170	<i>Stictonectes optatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
171	<i>Deronectes moestus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
172	<i>Agabus biguttatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
173	<i>Agabus bipustulatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low

Apéndice 1 (continuación) / Appendix 1 (continuation)

Nº	Especie	DG	E	RR	P	RH	PH	VR	Clase
174	<i>Agabus brunneus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
175	<i>Agabus conspersus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
176	<i>Agabus didymus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
177	<i>Agabus nebulosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
178	<i>Ilybius meridionalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
179	<i>Rhantus suturalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
180	<i>Helophorus alternans</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
181	<i>Helophorus maritimus gr.</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
182	<i>Helophorus longitarsis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
183	<i>Berosus affinis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
184	<i>Berosus hispanicus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
185	<i>Anacaena bipustulata</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
186	<i>Anacaena lutescens</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
187	<i>Laccobius bipunctatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
188	<i>Laccobius hispanicus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
189	<i>Laccobius moraguesi</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
190	<i>Laccobius neapolitanus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
191	<i>Laccobius sinuatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
192	<i>Laccobius ytenensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
193	<i>Helochares lividus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
194	<i>Enochrus bicolor</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
195	<i>Enochrus fuscipennis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
196	<i>Enochrus halophilus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
197	<i>Enochrus politus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
198	<i>Hydrobius fuscipes</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
199	<i>Hydrophilus pistaceus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
200	<i>Coelostoma hispanicum</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
201	<i>Limnebius furcatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
202	<i>Ochthebius dilatatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
203	<i>Ochthebius difficilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
204	<i>Ochthebius nanus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
205	<i>Ochthebius viridis 2</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
206	<i>Limnius intermedius</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
207	<i>Pomatinus substriatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
208	<i>Dryops algiricus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
209	<i>Dryops gracilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low

Apéndice 2. Vulnerabilidad de las especies de coleópteros acuáticos en la Región de Murcia (GD, Distribución general; E, Endemicidad; R, Rareza; P, Persistencia; HR, Rareza del hábitat; HL, Pérdida de hábitat; VS, Puntuación de vulnerabilidad; Categ., Categoría). Ver Capítulo 1.

Appendix 2. Vulnerability for water beetle species from Murcia province (GD, General distribution; E, Endemicity; R, Rarity; P, Persistence; HR, Habitat rarity; HL, Habitat loss; VS, Vulnerability score; Categ., Category). See Chapter 1.

Nº	Taxon	GD	E	R	P	HR	HL	VS	Categ.
1	<i>Oulimnius tuberculatus perezii</i>	3	0	3	3	1	3	13	Alta / High
2	<i>Hydraena exasperata</i>	3	1	3	3	0	2	12	Alta / High
3	<i>Nebrioporus bucheti cazorlensis</i>	3	1	3	3	1	0	11	Alta / High
4	<i>Ochthebius montesi</i>	3	2	1	2	0	2	10	Alta / High
5	<i>Hydrochus ibericus</i>	3	2	0	3	1	0	9	Alta / High
6	<i>Hydrochus nooreinus</i>	3	2	0	3	0	1	9	Alta / High
7	<i>Elmis aenea</i>	1	0	3	3	0	2	9	Alta / High
8	<i>Helophorus brevipalpis</i>	1	0	3	3	0	2	9	Alta / High
9	<i>Hydrochara flavipes</i>	0	0	3	3	2	1	9	Alta / High
10	<i>Helophorus alternans</i>	0	0	3	3	0	3	9	Alta / High
11	<i>Limnius opacus</i>	0	0	3	2	1	3	9	Alta / High
12	<i>Berosus guttalis</i>	0	0	2	3	0	3	8	Media / Moderate
13	<i>Ilybius meridionalis</i>	0	0	2	3	0	3	8	Media / Moderate
14	<i>Elmis rioloides</i>	1	0	3	2	0	2	8	Media / Moderate
15	<i>Ochthebius glaber</i>	3	2	0	0	0	2	7	Media / Moderate
16	<i>Helophorus seidlitzii</i>	3	1	0	2	0	1	7	Media / Moderate
17	<i>Cybister tripunctatus africanus</i>	1	0	2	3	1	0	7	Media / Moderate
18	<i>Ochthebius metallescens</i>	1	0	0	3	0	3	7	Media / Moderate
19	<i>Stenelmis canaliculata</i>	1	0	2	3	0	1	7	Media / Moderate
20	<i>Graptodytes varius</i>	0	0	3	3	1	0	7	Media / Moderate
21	<i>Hydroporus marginatus</i>	0	0	3	3	0	1	7	Media / Moderate
22	<i>Limnius intermedius</i>	0	0	3	1	0	3	7	Media / Moderate
23	<i>Stictonectes epipleuricus</i>	3	0	0	2	0	1	6	Media / Moderate
24	<i>Enochrus salomonis</i>	2	0	0	3	1	0	6	Media / Moderate
25	<i>Hydroporus normandi</i>	1	0	0	2	0	3	6	Media / Moderate
26	<i>Calobius quadricollis</i>	0	0	1	2	3	0	6	Media / Moderate
27	<i>Dytiscus circumflexus</i>	0	0	2	2	0	2	6	Media / Moderate
28	<i>Gyrinus distinctus</i>	0	0	2	3	1	0	6	Media / Moderate
29	<i>Laccophilus poecilus</i>	0	0	1	3	0	2	6	Media / Moderate
30	<i>Ochthebius tudmirensis</i>	3	2	0	0	0	0	5	Media / Moderate
31	<i>Agabus paludosus</i>	1	0	0	3	1	0	5	Media / Moderate
32	<i>Hydraena capta</i>	1	0	0	3	0	1	5	Media / Moderate
33	<i>Hydraena hernandoi</i>	1	0	0	3	1	0	5	Media / Moderate
36	<i>Chaetarthria seminulum seminulum</i>	0	0	0	3	0	2	5	Media / Moderate
37	<i>Esolus pygmaeus</i>	0	0	1	2	0	2	5	Media / Moderate
38	<i>Graptodytes ignotus</i>	0	0	0	3	0	2	5	Media / Moderate
39	<i>Gyrinus caspius</i>	0	0	0	3	0	2	5	Media / Moderate
40	<i>Helophorus fulgidicollis</i>	0	0	0	2	0	3	5	Media / Moderate
41	<i>Helophorus longitarsis</i>	0	0	0	2	0	3	5	Media / Moderate

Apéndice 2 (continuación) / Appendix 2 (continuation)

Nº	Taxon	GD	E	R	P	HR	HL	VS	Categ.
42	<i>Limnebius furcatus</i>	0	0	0	3	0	2	5	Media / Moderate
43	<i>Ochthebius subinteger</i>	0	0	1	2	1	1	5	Media / Moderate
44	<i>Orectochilus villosus</i>	0	0	2	0	0	3	5	Media / Moderate
45	<i>Potamophilus acuminatus</i>	0	0	0	3	1	1	5	Media / Moderate
46	<i>Stictotarsus griseostriatus</i>	0	0	2	2	1	0	5	Media / Moderate
47	<i>Agabus ramblae</i>	3	1	0	0	0	0	4	Baja / Low
48	<i>Nebrioporus baeticus</i>	3	1	0	0	0	0	4	Baja / Low
49	<i>Ochthebius delgadoi</i>	3	1	0	0	0	0	4	Baja / Low
50	<i>Hydroporus lucasi</i>	1	0	0	2	0	1	4	Baja / Low
51	<i>Laccobius atrocephalus</i>	1	0	0	2	1	0	4	Baja / Low
52	<i>Normandia sodalis</i>	1	0	3	0	0	0	4	Baja / Low
53	<i>Ochthebius notabilis</i>	1	0	0	1	0	2	4	Baja / Low
54	<i>Anacaena globulus</i>	0	0	0	3	0	1	4	Baja / Low
55	<i>Cybister lateralimarginalis</i>	0	0	0	2	0	2	4	Baja / Low
56	<i>Deronectes hispanicus</i>	0	0	0	3	0	1	4	Baja / Low
57	<i>Enochrus ater</i>	0	0	1	1	0	2	4	Baja / Low
58	<i>Hydrochus flavipennis</i>	0	0	1	2	0	1	4	Baja / Low
59	<i>Helophorus maritimus</i> gr.	0	0	0	3	1	0	4	Baja / Low
60	<i>Laccobius bipunctatus</i>	0	0	0	3	0	1	4	Baja / Low
61	<i>Laccobius neapolitanus</i>	0	0	0	2	0	2	4	Baja / Low
62	<i>Ochthebius mediterraneus</i>	0	0	2	0	0	2	4	Baja / Low
63	<i>Ochthebius nanus</i>	0	0	0	3	1	0	4	Baja / Low
64	<i>Enochrus falcarius</i>	2	0	0	0	0	1	3	Baja / Low
65	<i>Berosus fulvus</i>	1	0	0	1	0	1	3	Baja / Low
66	<i>Elmis maugetii maugetii</i>	1	0	0	1	0	1	3	Baja / Low
67	<i>Hydrochus grandicollis</i>	1	0	0	1	0	1	3	Baja / Low
68	<i>Hydraena claryi</i>	1	0	0	0	0	2	3	Baja / Low
69	<i>Normandia nitens</i>	1	0	0	0	0	2	3	Baja / Low
70	<i>Ochthebius bifoveolatus</i>	1	0	1	1	0	0	3	Baja / Low
71	<i>Ochthebius corrugatus</i>	1	0	0	0	0	2	3	Baja / Low
72	<i>Ochthebius grandipennis</i>	1	0	0	0	0	2	3	Baja / Low
73	<i>Ochthebius maculatus</i>	1	0	0	0	0	2	3	Baja / Low
74	<i>Colymbetes fuscus</i>	0	0	0	3	0	0	3	Baja / Low
75	<i>Deronectes moestus</i>	0	0	0	1	0	2	3	Baja / Low
76	<i>Enochrus segmentinotatus</i>	0	0	0	2	0	1	3	Baja / Low
77	<i>Hemisphaera guignoti</i>	0	0	0	2	1	0	3	Baja / Low
78	<i>Hydroporus limbatus</i>	0	0	0	1	0	2	3	Baja / Low
79	<i>Hydroporus tessellatus</i>	0	0	0	3	0	0	3	Baja / Low
80	<i>Laccobius obscuratus</i>	0	0	0	2	0	1	3	Baja / Low
81	<i>Limnebius oblongus</i>	0	0	1	0	0	2	3	Baja / Low
82	<i>Ochthebius dilatatus</i>	0	0	0	1	0	2	3	Baja / Low
83	<i>Ochthebius viridis</i> 2	0	0	0	1	0	2	3	Baja / Low
84	<i>Stictotarsus duodecimpustulatus</i>	0	0	0	2	0	1	3	Baja / Low
85	<i>Limnius volckmari</i>	1	0	0	1	0	0	2	Baja / Low
86	<i>Agabus brunneus</i>	0	0	0	2	0	0	2	Baja / Low
87	<i>Deronectes fairmairei</i>	0	0	0	0	0	2	2	Baja / Low
88	<i>Dryops sulcipennis</i>	0	0	0	0	0	2	2	Baja / Low
89	<i>Dytiscus pisanus</i>	0	0	0	1	0	1	2	Baja / Low
90	<i>Gyrinus dejeani</i>	0	0	0	0	0	2	2	Baja / Low
91	<i>Nebrioporus ceresyi</i>	0	0	0	0	0	2	2	Baja / Low
92	<i>Ochthebius difficilis</i>	0	0	0	1	0	1	2	Baja / Low

Apéndice 2 (continuación) / Appendix 2 (continuation)

Nº	Taxon	GD	E	R	P	HR	HL	VS	Categ.
93	<i>Paracymus aeneus</i>	0	0	0	0	0	2	2	Baja / Low
94	<i>Anacaena limbata</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
95	<i>Hydroglyphus signatellus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
96	<i>Laccobius hispanicus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
97	<i>Laccobius gracillis intermittens</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
98	<i>Limnebius maurus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
99	<i>Nebrioporus clarki</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
100	<i>Ochthebius auropallens</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
101	<i>Ochthebius cuprescens</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
102	<i>Ochthebius marinus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
103	<i>Ochthebius quadrioveolatus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
104	<i>Ochthebius tacapasensis baeticus</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
105	<i>Oulimnius troglodytes</i>	1	0	0	0	0	0	1	Baja / Low
106	<i>Eretes sticticus</i>	0	0	1	0	0	0	1	Baja / Low
107	<i>Hydrophilus pistaceus</i>	0	0	0	1	0	0	1	Baja / Low
108	<i>Hydaticus leander</i>	0	0	1	0	0	0	1	Baja / Low
109	<i>Hydroporus pubescens</i>	0	0	0	0	0	1	1	Baja / Low
110	<i>Hydrovatus cuspidatus</i>	0	0	1	0	0	0	1	Baja / Low
111	<i>Agabus biguttatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
112	<i>Agabus bipustulatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
113	<i>Agabus didymus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
114	<i>Agabus nebulosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
115	<i>Anacaena bipustulata</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
116	<i>Anacaena lutescens</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
117	<i>Aulonogyrus striatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
118	<i>Berosus affinis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
119	<i>Berosus hispanicus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
120	<i>Bidessus minutissimus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
121	<i>Coelostoma hispanicum</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
122	<i>Dryops gracilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
123	<i>Enochrus bicolor</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
124	<i>Enochrus politus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
125	<i>Graptodytes fractus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
126	<i>Gyrinus urinator</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
127	<i>Haliplus lineatocollis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
128	<i>Haliplus mucronatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
129	<i>Helochares lividus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
130	<i>Herophydrus musicus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
131	<i>Hydroporus discretus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
132	<i>Hydroglyphus geminus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
133	<i>Hyphydrus aubei</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
134	<i>Hygrotus confluens</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
135	<i>Laccobius moraguesi</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
136	<i>Laccobius sinuatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
137	<i>Laccophilus hyalinus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
138	<i>Laccophilus minutus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
139	<i>Meladema coriacea</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
140	<i>Noterus laevis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
141	<i>Peltodytes rotundatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
142	<i>Pomatinus substriatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
144	<i>Rhantus suturalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
144	<i>Stictonectes optatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low
145	<i>Yola bicarinata</i>	0	0	0	0	0	0	0	Baja / Low

Apéndice 3. Valores de los distintos índices calculados para las cuadrículas UTM 10 x 10 Km prospectadas en la provincia de Albacete (*RQF*, Rarity Quality Factor; *VI*, Índice de Vulnerabilidad; *BI*, Índice de Biodiversidad; *Nº R*, Número de especies raras; *Nº E*, Número de especies endémicas). Ver Capítulo 2.

Appendix 3. Values of the different indices calculated for the UTM 10 x 10 grid cells sampled in Albacete province (*RQF*, Rarity Quality Factor; *VI*, Vulnerability Index; *BI*, Biodiversity Index; *Nº R*, Number of rare species; *Nº E*, Number of endemic species). See Chapter 2.

Cuadrícula Grid cell	Riqueza Richness	Rareza Rarity	RQF	VI	BI	Nº R	Nº E
WH37	29	0.09	6.72	0.55	2.82	0	0
WH39	74	0.18	14.30	1.30	37.8	3	8
WH43	20	0.07	5.55	0.85	2.77	0	1
WH44	36	0.09	7.28	1.61	9.03	0	6
WH45	55	0.17	12.91	2.22	38.1	1	10
WH46	75	0.12	9.16	1.32	21	0	9
WH47	26	0.11	9.12	1.08	5.47	0	2
WH48	11	0.11	9.82	0.64	1.82	0	0
WH52	33	0.08	6.03	1.03	3.69	0	3
WH53	33	0.10	7.85	1.67	10.8	0	6
WH54	63	0.12	9.76	1.44	19.6	0	8
WH55	44	0.10	7.61	0.98	12.4	1	4
WH56	118	0.18	13.48	1.80	73.8	4	20
WH57	53	0.12	9.34	1.62	16.9	0	6
WH58	98	0.23	16.03	1.60	79.2	8	6
WH59	85	0.20	15.14	1.52	55.2	4	4
WH62	24	0.11	8.63	1.25	9.43	0	0
WH63	15	0.08	6.73	1.00	2.99	0	1
WH64	16	0.10	7.06	0.94	4.74	0	0
WH65	39	0.11	8.28	0.95	9.8	1	2
WH66	39	0.11	8.38	1.05	12.3	1	1
WH67	40	0.10	7.98	1.45	10.1	0	4
WH74	6	0.08	5.67	1.33	0.68	0	1
WH75	21	0.09	7.19	0.95	3.85	0	2
WH76	16	0.09	6.31	1.00	2.21	0	0
WH77	14	0.07	5.29	0.21	0.31	0	0
WH85	28	0.09	7.96	0.54	2.18	0	0
WH86	26	0.10	7.77	0.81	5.66	0	0
WH94	1	0.10	4.00	0.00	0	0	0
WH95	22	0.08	6.32	0.77	2.23	0	2
WH96	8	0.13	8.75	0.63	1.65	0	0

Apéndice 3 (continuación) / Appendix 3 (continuation)

Cuadrícula <i>Grid cell</i>	Riqueza <i>Richness</i>	Rareza <i>Rarity</i>	RQF	VI	BI	Nº R	Nº E
WJ10	62	0.15	11.47	0.85	21	2	4
WJ32	19	0.12	8.47	1.21	7.97	1	1
WJ41	15	0.10	7.07	0.33	0.78	0	0
WJ42	3	0.06	5.33	0.00	0	0	0
XH04	7	0.07	5.86	0.43	0.32	0	0
XH05	2	0.03	1.00	0.00	0	0	0
XH06	12	0.08	6.17	0.42	0.9	0	0
XH08	15	0.10	7.73	0.27	0.53	0	0
XH14	3	0.05	3.67	0.00	0	0	0
XH15	6	0.10	7.50	0.50	0.99	0	0
XH16	41	0.12	8.76	0.90	7.97	1	3
XH17	12	0.15	10.33	1.17	5.99	0	1
XH25	13	0.14	10.46	1.69	6.43	0	3
XH26	2	0.06	3.50	0.00	0	0	0
XH39	13	0.15	11.69	1.00	4.72	0	1
XJ20	51	0.15	12.29	0.90	15.2	1	2
XJ30	36	0.11	9.53	0.94	7.53	0	4
XJ35	26	0.14	10.27	1.04	10.6	1	0
XJ44	16	0.16	11.13	1.13	7.69	1	2
XJ45	20	0.23	15.95	2.15	20.2	1	4

Apéndice 4. Valores de los distintos índices calculados para las localidades prospectadas en la Cuenca del Segura (Δ^+ , Diferenciación Taxonómica Media; Λ^+ , Variación en Diferenciación Taxonómica; $s\Delta^+$, Diferenciación Taxonómica Total; S, Riqueza de especies; R, Número de especies raras). Se indican también el código (Cod), el hábitat tipo (HT) y el nivel de modificación (ML). Ver Capítulo 4.

Appendix 4. Values of the different indices calculated for the sampling localities from the Segura basin (Δ^+ , Average Taxonomic Distinctness; Λ^+ , Variation in Taxonomic Distinctness; $s\Delta^+$, Total Taxonomic Distinctness; S, Species richness; R, Number of rare species. The code (Cod), habitat type (HT) and modification level (ML) are also indicated. See Chapter 4.

ID	Cod.	Denominación	HT	ML	Δ^+	Λ^+	$s\Delta^+$	S	R
1	1	Nacimiento del Río Segura	1	2	71.67	488.9	430	6	0
2	2	Río Segura en Pontones	1	2	87.5	0	175	2	0
3	3	Río Segura despues del Madera	1	1	62.04	747.6	1861	30	1
4	4	Río Segura. Embalse de Anchuricas	3	3	66.25	251.6	331.3	5	0
5	5	Arroyo de los Huecos	1	1	50.23	815.3	552.5	11	0
6	6	Río Segura antes del Zumeta	1	1	62.34	645.9	1371	22	0
7	7	Arroyo de la Espinea	1	1	62.5	468.8	250	4	0
8	8	Arroyo de Alcantarilla	1	1	45.56	758	455.6	10	0
9	9	R. Segura antes Yeste.	1	1	37.85	637.9	340.6	9	0
10	10	Arroyo Madera	1	1	56.97	761.1	1310	23	0
11	11	Río Segura en Paules	1	2	54.77	718.7	602.5	11	0
12	12	Embalse de la Fuensanta	3	3	0	0	0	1	0
13	13	Río Segura después E. Fuensanta	1	3	70.26	466	1405	20	0
14	14	Río Segura. Almazarán	1	2	0	0	0	1	0
15	15	Arroyo de Letur	1	1	64.28	665.4	1286	20	0
16	16	Arroyo de la Anchura. Villares	1	1	67.65	623.8	1150	17	0
17	17	Río Segura. Gallego	1	1	54.17	1128	216.7	4	0
18	18	Río Segura. Puente de Hajar	1	1	69.96	493.4	1609	23	0
19	19	Arroyo de Benízar	1	3	0	0	0	1	0
20	20	Río Segura tras embalse del Cenajo	1	3	59.52	757.5	416.7	7	0
21	21	Río Segura. Las Minas	1	2	45.28	772.8	452.8	10	0
22	22	Arrozales de Las Minas	3	2	70	452.3	770	11	1
23	23	Río Segura antes del Benamor	1	2	56.25	776.9	506.3	9	0
24	24	Río segura despues del Benamor	1	2	57.5	774.5	920	16	0
25	25	Río Segura en Calasparra	1	2	22.92	21.7	91.67	4	0
26	26	Río Segura antes del río Argos	1	2	57.14	574	400	7	0
27	27	Río Segura después del río Argos	1	2	66.67	868.1	200	3	0
28	28	Río Segura, Acequia del Esparragal	1	3	75	312.5	225	3	0
29	29	Río Segura, Macaneo	1	2	0	0	0	1	0
30	30	Río Segura. Embalse de Almadenes	3	3	50	156.3	250	5	0
31	31	Río Segura después Almadenes.	1	3	74.55	362.5	596.4	8	0
32	32	Río Segura, Presa de las Hoyas	1	3	61.67	593.1	370	6	0

Apéndice 4 (continuación) / Appendix 4 (continuation)

ID	Cod.	Denominación	HT	ML	Δ^+	Λ^+	$s\Delta^+$	S	R
33	33	Rambla del Agua Amarga	2	1	70.31	507.7	1195	17	0
34	34	Rambla del Agua Amarga, Desemb.	2	3	64.2	468.2	770.5	12	0
35	35	Río Segura después Rbla. del Judío	2	3	25	0	75	3	0
36	36	Rambla del Judío	2	1	69.17	455.6	415	6	0
37	37	Rambla del Judío. Nacional 301	2	2	69.38	552.7	1665	24	0
38	38	Rambla del Judío. Desemb.	2	3	68.75	351.6	275	4	0
39	39	Río Segura en Cieza	1	3	70.83	496	495.8	7	0
40	40	Río Segura en El Peñón	1	3	33.75	64.06	168.8	5	0
41	41	Río Segura antes de Abarán	1	3	62.5	0	125	2	0
42	42	Rambla del Moro. Nacional 301	2	1	68.47	645.2	2533	37	0
43	43	Río Segura en Abarán	1	3	87.5	0	175	2	0
44	44	Rambla de Benito. Abarán	1	2	71.15	478	925	13	0
45	47	Río Segura en Blanca	1	3	65	806.3	325	5	0
46	50	Río Segura. Después A. Ojós	1	3	0	0	0	1	0
47	51	Río Segura después de Ojós	1	3	72.92	438.4	291.7	4	0
48	52	Río Segura después Ulea	1	3	71.25	407.8	356.3	5	0
49	53	Depósito regulador del Mayés.Ulea	3	3	33.33	34.72	100	3	0
50	55	Río Segura, balneario de Archena	1	2	0	0	0	1	0
51	56	Río Segura en Archena	1	3	0	0	0	1	0
52	57	Río Segura después Rbla. Tinajón	1	3	60.83	351.4	365	6	0
53	58	Río Segura. Archena	1	3	0	0	0	1	0
54	62	Río Segura después La Algaida	1	3	0	0	0	1	0
55	64	Río Segura en puente Lorquí-Ceutí	1	3	0	0	0	1	0
56	65	R. Segura después Lorquí-Ceutí	1	3	0	0	0	1	0
57	67	Río Segura después Llano de Molina	1	3	0	0	0	1	0
58	68	Salinas de Molina	4	3	71.25	314.1	356.3	5	0
59	69	Río Segura en Molina-Alguazas	1	3	87.5	0	175	2	0
60	73	Rambla de Canfur. Albudeite	1	2	72.22	409	650	9	0
61	74	Rambla Salada de Alcantarilla	2	3	65.68	830.8	722.5	11	1
62	76	Río Segura. La Contraparada	1	3	87.5	0	175	2	0
63	81	Acequia Batán	1	3	0	0	0	1	0
64	84	Río Segura antes de Murcia	1	3	0	0	0	1	0
65	85	Río Segura en puente de la Fica	1	3	87.5	0	175	2	0
66	86	Río Segura después de Murcia	1	3	0	0	0	1	0
67	91	Río Segura. Beniel	1	3	0	0	0	1	0
68	92	Río Segura. Orihuela	1	3	62.5	0	125	2	0
69	96	Embalse de La Pedrera	3	3	37.5	0	75	2	0
70	97	Río Segura. Benejúzar	1	3	66.67	494	800	12	0
71	98	Río Segura. Puente de Raiguero	1	3	75	312.5	225	3	0
72	99	Río Segura. Presa de Formentera	1	3	64.93	588.7	584.4	9	0
73	100	Río Segura antes presa de Rojas	1	3	68.33	434.7	410	6	0
74	101	Río Segura después presa de Rojas	1	3	67.5	631.3	337.5	5	0
75	102	Río Segura. Salida de Rojas	1	3	70.83	368.1	425	6	0
76	103	Río Segura. Presa de Guardamar	1	3	68.06	437.9	612.5	9	0
77	104	Acequia de Rojas	1	3	0	0	0	1	0
78	105	Río Segura después Guardamar	1	3	75	0	150	2	1
79	106	Río Segura. Antes desembocadura	2	3	71.59	417.4	787.5	11	0
80	107	Desembocadura del Río Segura	2	3	67.01	435.4	603.1	9	0

Apéndice 4 (continuación) / Appendix 4 (continuation)

ID	Cod.	Denominación	HT	ML	Δ^+	Λ^+	$s\Delta^+$	S	R
81	108	Nacimiento del río Madera	1	1	67.29	580.8	3970	59	3
82	109	Río Madera, Peña Rubia	1	1	63.61	702.8	2099	33	2
83	110	Arroyo Romadillos	1	1	67.42	728.6	809.1	12	0
84	111	Arroyo del Torno	1	1	61.25	1045	306.3	5	0
85	112	Arroyo de los Anchos	1	1	75	0	225	3	0
86	113	Desembocadura del río Madera	1	1	65.05	637	2017	31	2
87	114	Arroyo de Muso	1	1	44.17	768.1	265	6	0
88	115	Arroyo del Barral	1	1	58.33	659.7	175	3	0
89	117	Río Zumeta. Cruce a S.de la Espada	1	1	56.67	705.6	566.7	10	0
90	118	Arroyo de Robachiller	1	2	0	0	0	1	0
91	119	Arroyo Zumeta	1	1	63.45	687.1	1206	19	3
92	120	Río Zumeta. Santiago de la Espada	1	1	64.82	648.6	2074	32	2
93	121	Río Zumeta en Tobos	1	1	56.73	821.8	794.2	14	0
94	122	Arroyo Marchena	1	1	0	0	0	1	0
95	123	Desembocadura del río Zumeta	1	1	61.97	753	1239	20	0
96	124	Nacimiento del río Tus	1	1	67.17	524.2	940.4	14	0
97	125	Río Tus. Voladores	1	1	33.14	442.7	397.7	12	0
98	126	Río Tus en las fábricas de madera	1	1	61.12	717.7	1222	20	0
99	127	Arroyo de la Sierra, Vados del Tus	1	1	61.67	717.6	2220	36	1
100	128	Río Tus antes de los Baños	1	1	66.69	604.3	3668	55	0
101	129	Río Tus en Rala	1	1	60.83	734.2	973.3	16	0
102	130	Arroyo Escudero	1	1	58.33	34.72	175	3	0
103	131	Arroyo de Morote	1	1	64.45	656.3	1805	28	0
104	132	Arroyo Taibilla 1. Los Morenos	1	1	61.25	724.3	2021	33	0
105	133	Arroyo Taibilla 2. Los Morenos	1	1	25	0	75	3	0
106	134	Arroyo de las Fuentes	1	1	0	0	0	1	0
107	135	Río Taibilla. El Peñón	1	1	66.16	630.2	1522	23	0
108	136	Embalse de Turrilla	3	3	70.83	451.4	425	6	0
109	137	Río Taibilla. La Toba	1	1	24.31	8.198	218.8	9	0
110	138	Arroyo de la Zorrera. Yetas	1	1	24.55	5.381	196.4	8	0
111	139	Río Taibilla. Las Claras	1	1	68.75	572.9	1100	16	0
112	140	Arroyo de la Dehesa	1	1	55	850	330	6	0
113	141	Río de la Vega	1	1	69.16	545.8	3734	54	2
114	142	Rambla del Gallizo, Fábricas S. Juan	1	1	72.77	469.3	582.1	8	0
115	143	Río de la Vega, Fábricas de San Juan	1	2	61.61	311.7	492.9	8	0
116	144	Chorros del río Mundo	1	1	69.16	560.8	3043	44	4
117	145	Arroyo Salado, Fábricas de San Juan	1	2	54.52	708.7	817.9	15	1
118	147	Río Mundo en El Laminador	1	1	65.81	625.6	3224	49	0
119	148	Arroyo Celada. Mesones	1	1	68.67	568.9	2198	32	1
120	149	Arroyo de Quejigal	1	1	64.14	716.9	1283	20	0
121	150	Río Mundo en La Alfera	1	1	65.42	602.3	1505	23	0
122	151	Arroyo de las Animas, La Alfera	1	1	61.56	534.3	985	16	0
123	152	Río Mundo en La Alfera y Los Alejos	1	1	62.38	700.5	1559	25	0
124	153	Río de La Fuente del Roble	1	1	62.5	0	125	2	0
125	154	Río de las Acequias, P. del Madera	1	1	55	827.3	605	11	0
126	155	Río de la Fuente del Roble	1	1	59.48	763.5	832.7	14	0
127	156	Rambla del Peralejo	1	1	63.6	668.4	890.4	14	0
128	157	Río de los Viñazos	1	1	56.25	607.2	675	12	1

Apéndice 4 (continuación) / Appendix 4 (continuation)

ID	Cod.	Denominación	HT	ML	Δ^+	Λ^+	$s\Delta^+$	S	R
129	158	Río Mencal	1	1	60.54	748.4	1271	21	0
130	159	Barranco del Nacimiento, río Mencal	1	1	25	0	125	5	0
131	160	Río de Las Hoyas. El Encebrico	1	1	68.37	565.8	3282	48	6
132	161	Río de las Hoyas. Batán del Puerto	1	1	67.56	543.1	1148	17	0
133	162	Río Endrinales	1	1	68.97	559.2	4965	72	12
134	163	Río Endrinales en Las Espineras	1	1	64.29	699.9	514.3	8	0
135	164	Río Madera (río Mundo)	1	1	61.67	804	986.7	16	0
136	165	Río Bogarra antes de Bogarra	1	1	67.83	582.6	1357	20	0
137	166	Río Bogarra en Bogarra	1	2	50	312.5	150	3	0
138	167	Arroyo de Macha, Bogarra	1	2	58.79	702.2	823.1	14	0
139	168	Arroyo de Potiche	1	1	62.5	0	125	2	0
140	169	Río Bogarra en Potiche	1	2	53.57	444.8	428.6	8	0
141	170	Balsa en la rambla del Griego	3	3	79.17	191	316.7	4	1
142	171	Río Mundo. Las Hoyas	1	2	69.27	611.7	1108	16	0
143	172	Río Mundo. Ayna	1	2	66.42	640.9	1660	25	1
144	173	Río Mundo. Lietor	1	2	47.92	594.6	191.7	4	0
145	174	Embalse de Talave	3	3	87.5	0	175	2	0
146	175	Río Mundo antes de Casas del Río	1	3	25	0	50	2	0
147	178	Fuente de Isso. Isso	1	3	72.35	433.3	868.2	12	0
148	179	Rambla de Pepino. Isso	2	2	69.1	499	621.9	9	0
149	180	Río Mundo en Agramón	1	2	60.83	643.1	365	6	0
150	181	Rambla de la Sierra, Hellín	2	1	69.97	483.2	1959	28	1
151	182	Rambla del Ojuelo, Cordovilla	2	2	0	0	0	1	0
152	183	Fuente del Hueso,	1	2	62.5	0	125	2	0
153	185	Rambla de Tobarra. Agramón	2	2	72.92	414.3	947.9	13	0
154	186	Embalse de Camarillas. Río Mundo	3	3	0	0	0	1	0
155	187	Desembocadura del río Mundo	1	3	58.33	659.7	175	3	0
156	188	Nacimiento del río Benamor	1	3	63.51	593	1080	17	1
157	189	Balsa cerca nacimiento del Benamor	3	1	67.8	489	1424	21	1
158	190	Benamor antes salinas Zacatín	1	2	63.69	623.6	445.8	7	0
159	191	Arroyo de las Salinas del Zacatín	1	2	67.8	615.8	813.6	12	0
160	192	Salinas del Zacatín(Moratalla)	4	1	12.5	0	62.5	5	1
161	193	Río Benamor en Somogil	1	1	61.62	701	1171	19	1
162	194	Arroyo de Hondares, Moratalla	1	1	70.83	555.6	425	6	0
163	196	Río Benamor en La Puerta, Moratalla	1	2	68	526	1768	26	1
164	197	Río Benamor, camino de Las Murtas	1	2	79.17	191	316.7	4	0
165	198	Río Benamor. Moratalla	1	3	68.87	535.4	1240	18	0
166	199	Río Benamor antes de Calasparra	1	3	66.67	541.4	800	12	0
167	200	Río Benamor	1	3	48.75	295.3	243.8	5	0
168	201	Río Benamor. Cerca de desembocadura	1	3	72.02	415.2	504.2	7	0
169	202	Desembocadura del río Benamor	1	3	71.25	407.8	356.3	5	0
170	203	Nacimiento del río Argos	1	2	71.16	423.4	1281	18	0
171	204	Río Argos en Archivel	1	2	66.52	603.3	532.1	8	1
172	205	Fuente de los Frailes, Caravaca	1	3	0	0	0	1	0
173	207	Río Argos. Cehegín	1	3	68.86	419.7	757.5	11	0
174	208	Acequia del río Taibilla. Caravaca	1	3	70.83	503.5	283.3	4	0
175	209	Río Argos. Carrasquilla	1	3	69.7	440.6	836.4	12	0
176	210	Barranco del Moro, Canara	1	3	60	681.3	300	5	0

Apéndice 4 (continuación) / Appendix 4 (continuation)

ID	Cod.	Denominación	HT	ML	Δ^+	Λ^+	$s\Delta^+$	S	R
177	211	Embalse del río Argos	3	3	83.33	34.72	250	3	0
178	212	Río Argos en Valentín	1	3	71.18	493.2	640.6	9	0
179	215	Río Argos. La Florida	2	3	70.51	444.6	916.7	13	0
180	216	Desembocadura del río Argos	1	3	65.63	542.7	525	8	0
181	217	Arrozales. Calasparra	3	3	65.48	459.9	458.3	7	0
182	219	Río Quípar. Nacimiento	1	2	0	0	0	1	0
183	220	Río Quípar antes de Almudema	1	2	25	0	50	2	0
184	221	Río Quípar en La Encarnación	1	2	69.27	509.8	1870	27	1
185	222	Río Quípar a la salida de Cehegín	1	3	58.33	659.7	175	3	0
186	223	Río Quípar. Rivazo	1	3	67.5	433.3	405	6	0
187	225	Rambla del Padre Pecador	1	2	25	0	75	3	0
188	226	Arroyo de El Chaparral	1	2	72.62	381.2	508.3	7	0
189	227	Río Quípar. Los Villares	1	2	71.25	470.3	356.3	5	0
190	228	Río Quípar. Baños de San José	2	2	71.39	518.2	713.9	10	0
191	229	Río Quípar. Embalse de Alfonso XIII	4	3	68.86	550.4	757.5	11	0
192	230	Salinas de La Ramona	2	1	0	0	0	1	0
193	231	Nacimiento de la Rambla del Salar	1	2	75	312.5	300	4	0
194	233	Barranco del Mulo I	2	2	67.27	491.4	740	11	0
195	235	Rambla del Salar. Ulea	2	2	12.5	0	25	2	0
196	236	Rambla del Carrizalejo	2	2	59.38	914.7	534.4	9	0
197	237	Rambla del Tinajón	2	2	65.71	678.8	854.2	13	0
198	238	Rbla Tinajón despues vertido	2	3	52.5	868.8	262.5	5	0
199	239	Rambla del Ceacejo I	2	2	25	0	50	2	0
200	240	Rambla del Ceacejo II	2	2	0	0	0	1	0
201	241	Rambla del Ceacejo III	2	2	0	0	0	1	0
202	242	Las Fuentes del río Mula	1	2	0	0	0	1	0
203	243	A 200 m de las Fuentes del río Mula	1	2	12.5	0	25	2	0
204	244	Río Mula. Casas de Ucenda	1	2	70.7	485	1980	28	1
205	245	río Mula A 100 m Casas de Ucenda	1	2	22.5	25	135	6	0
206	246	Río Mula, Salto del Lucero	1	3	62.5	729.2	187.5	3	0
207	247	Fuente del Salto del Lucero	1	2	0	0	0	1	0
208	248	Río Mula. Molino de Sebastián	1	2	0	0	0	1	0
209	249	Río Mula en Rodero	1	2	0	0	0	1	0
210	250	Río Mula. Puente de los ocho ojos	1	3	62.85	577.1	565.6	9	0
211	252	Fuente en Pantano de La Cierva	1	2	72.62	396.1	508.3	7	0
212	259	Río Mula. En la Puebla de Mula	1	3	70.83	493.1	425	6	0
213	260	Baños de Mula	1	3	65	650	650	10	1
214	261	Río Mula. A 500 m de los Baños	1	3	66.07	411.4	528.6	8	1
215	263	Río Mula en Albudeite	1	3	87.5	0	175	2	0
216	264	A 500 m del río Mula en Albudeite	1	3	0	0	0	1	0
217	265	Río Mula bajo puente transvase	1	3	41.67	138.9	125	3	0
218	266	Río Mula a 1 km de Campos del Río	1	3	0	0	0	1	0
219	268	Charca temporal próx Fuente del Pilar	3	2	58.33	34.72	175	3	0
220	269	Río Mula en Campos del Río	1	3	67.78	517.3	677.8	10	0
221	275	Río Mula en Alguazas	1	3	50	0	100	2	0
222	276	Desembocadura del río Mula	1	3	70.83	503.5	283.3	4	0
223	283	Fuente Cubierta	1	2	41.67	138.9	125	3	0
224	284	Rambla Caputa	1	2	71.88	417.3	1150	16	0

Apéndice 4 (continuación) / Appendix 4 (continuation)

ID	Cod.	Denominación	HT	ML	Δ^+	Λ^+	$s\Delta^+$	S	R
225	285	Fuente Caputa	1	2	69.57	481.3	2157	31	0
226	286	Rambla Perea	1	2	69.64	443	1045	15	0
227	287	Fuente de Zarzadilla	1	1	59.09	576.4	650	11	0
228	289	Rambla de Zarzadilla. 'Casas Nuevas'	2	1	83.33	34.72	250	3	0
229	290	Rambla de Zarzadilla. Terreros	1	2	61.31	355.7	429.2	7	0
230	291	Fuente en la Junta de Ramblas.	1	1	68.25	494	1706	25	0
231	292	Rambla de Malvariche: 'Los Chorrillos'	1	1	65.45	437.3	720	11	0
232	293	Rambla de Malvariche: "Zambrana"	1	1	70.83	494	850	12	0
233	294	Fuente del Almendro	1	1	0	0	0	1	0
234	297	Desemb. de la rambla de Malvariche	1	2	67.71	454.6	609.4	9	0
235	298	Río Pliego molino de Las Anguilas	1	2	62.5	0	125	2	0
236	299	Río Pliego. Molino 'Charrancho'	1	2	87.5	0	175	2	0
237	303	Río Pliego a 2 km de Mula-Pliego	1	2	70.99	474.7	922.9	13	0
238	306	Río Pliego. Meseta de La Plata	1	2	70.19	486.8	982.7	14	0
239	307	Desembocadura del río Pliego	1	3	61.25	420.3	306.3	5	0
240	309	Río Luchena (antes Turrilla)	1	1	62.5	729.2	187.5	3	0
241	310	Nacimiento del río Turrilla	2	1	61.67	600	616.7	10	0
242	311	Río Turrilla en Zarcilla de Ramos	1	2	72.92	490.5	291.7	4	0
243	312	Río Turrilla. Desembocadura	1	1	25	0	50	2	0
244	313	R. Luchena desp. desemb. Río Turrilla	1	1	70.24	524.9	1054	15	0
245	314	Río Corneros	1	1	63.84	595.3	510.7	8	0
246	315	Río Corneros. Baños de la Fuensanta	1	1	70.26	515.6	2810	40	0
247	316	Embalse de Puentes. Lorca	3	3	65	545.8	390	6	0
248	317	Rambla de Torrealvilla	2	2	69.26	615.1	1524	22	0
249	318	Rambla del Estrecho	2	1	68.06	594.1	612.5	9	0
250	322	Río Guadalentín. Librilla	1	3	0	0	0	1	0
251	323	Salinas de Sangonera (Rbla hipersalina)	2	1	64.17	809.7	385	6	0
252	324	Charca de lluvia en Sangonera	3	2	70.83	555.6	212.5	3	0
253	328	Nacimiento rambla Puerto de La Cadena	1	2	75.69	251.3	681.3	9	0
254	329	Rambla del Puerto de la Cadena I	1	3	66.99	580.8	870.8	13	0
255	331	Rambla del Puerto de la Cadena. Poza	3	2	70.67	468.1	918.8	13	0
256	334	El Reguerón	1	3	66.11	546	661.1	10	0
257	338	El Reguerón tras depuradora de Beniaján	1	3	64.17	434.7	385	6	0
258	340	Fuente de la Rambla de Cantalar	1	2	70.83	711.8	283.3	4	0
259	341	Rambla de Cantalar. Fortuna	2	2	73.2	344	1318	18	0
260	342	Rambla Salada de Fortuna I	2	1	62.37	838.8	1247	20	1
261	343	Rambla Salada de Fortuna II	2	2	64.18	776.6	1476	23	1
262	344	Salinas de Fortuna	4	3	87.5	0	175	2	0
263	345	Embalse de Fortuna	4	2	67.5	745.8	675	10	0
264	346	Río Chicamo. El Partidor	4	2	68.45	515.2	479.2	7	0
265	347	Río Chicamo. Abanilla	2	1	70.02	543.6	1680	24	1
266	348	Rambla de la Parra. Abanilla	2	1	61.43	860.5	921.4	15	0
267	349	Río Mundo tras embalse de Talave	1	3	75	312.5	225	3	0
268	350	Charca de Zarzadilla, Casas Nuevas	3	2	56.25	91.15	225	4	0
269	351	Charca de La Bermeja, Ricote	3	1	50	0	150	3	0
270	352	Charca. Yéchar	3	2	66.25	782.8	331.3	5	0
271	353	Charco del Zorro, Jumilla	3	2	71.88	359.2	646.9	9	0
272	354	Charca frente Urb.Los Conejos. Molina	3	2	61.25	482.8	306.3	5	0

Apéndice 4 (continuación) / Appendix 4 (continuation)

ID	Cod.	Denominación	HT	ML	Δ^+	Λ^+	$s\Delta^+$	S	R
273	356	Charca "Los Chorrillos"	3	2	54.76	513	383.3	7	0
274	358	Charca "Malvariche"	3	2	0	0	0	1	0
275	359	Charca de "El Barbo"	3	2	70.83	555.6	212.5	3	0
276	360	Charca Carpinteros	3	2	33.33	34.72	100	3	0
277	361	Charca en el Barranco de Barbol	3	2	0	0	0	1	0
278	363	Charca de "Lacuas"	3	2	63.33	801.4	380	6	0
279	364	Charca en camino a la casa de Bulleros	3	2	87.5	0	175	2	0
280	365	Charca de la Casa de Bulleros	3	2	75	312.5	225	3	0
281	366	Charca de Casa Hita	3	2	0	0	0	1	0
282	367	Charca "Casa de la Parra"	3	2	66.67	868.1	200	3	0
283	368	Charca de Calblanque	4	1	67.79	631.1	881.3	13	1
284	369	Balsa de Tébar	3	3	75	312.5	225	3	1
285	370	Charca "Casa del Ramel"	3	2	61.61	568.4	492.9	8	0
286	371	Charca en el Saladar del Chícamo	4	2	87.5	0	175	2	0
287	372	Marina del Carmolí. Charca litoral	4	2	61.67	843.1	370	6	0
288	373	Charca en saladar de Cabo de Palos	4	2	66.67	451.4	266.7	4	1
289	374	Rambllilla del Salar Gordo	2	2	37.5	0	75	2	0
290	375	Charca en saladar de Torreagüera	4	2	50	0	150	3	0
291	376	Charca en el Salar de Blanca	4	2	62.5	781.3	250	4	0
292	377	Saladar de Salinas de Mazarrón. Salinas	4	2	25	0	50	2	0
293	378	Humedales de las Salinas de San Pedro	4	1	58.06	855.2	580.6	10	2
294	379	Humedales Salinas del Rasall. Salinas	4	1	70	568.8	350	5	1
295	380	Saladar de Lo Pollo. Charca litoral	4	2	58.33	920.1	233.3	4	0
296	381	Embalse del Moro	4	3	68.61	712.7	686.1	10	0
297	382	Charca litoral de la Rbla. de las Moreras	4	3	0	0	0	1	0
298	383	Charca lateral en el río Madera	3	1	50	0	100	2	1
299	384	Humedales de El Hondo. Balsa de riego	3	3	87.5	0	175	2	0
300	385	Arroyo Cañada Hermosa	1	1	62.5	0	125	2	1
301	386	Laguna de autodepuración. Espinardo	3	2	63.42	442.6	1078	17	1
302	387	Estanques artificiales. Espinardo	3	3	70.83	347.2	283.3	4	0
303	388	Rambla de Béjar. Puerto Lumbreras	1	1	57.14	410.3	400	7	0
304	389	Fuente de La Toba	1	1	12.5	0	25	2	0
305	390	Fuente del Sol. Sierra Espuña	1	2	69.1	533.7	621.9	9	0
306	391	Balsa de Béjar. Puerto Lumbreras	3	2	58.33	377	408.3	7	0
307	393	Arroyo de Fuenfría. Fuente	1	1	69.31	544	4921	71	13
308	394	Fuente de la Casa Rosa. Sierra Espuña	1	2	62.5	312.5	187.5	3	0
309	395	Salinas del Principal	2	2	54.17	1181	325	6	0
310	396	Salinas de la Rosa	4	3	25	0	50	2	0
311	402	Charca de la Rambla de Lorca	3	1	0	0	0	1	0
312	404	Salinas de Marchamalo	4	2	56.25	351.6	225	4	0
313	406	El Hondo. Charca temporal I	4	2	62.5	1250	187.5	3	1
314	407	El Hondo. Charca temporal II	4	2	0	0	0	1	0
315	408	Humedales de El Hondo. Charca Galiana	4	2	43.75	976.6	175	4	1
316	415	Río Tus, Collado Tornero	1	1	0	0	0	1	0
317	418	Ayo de las Fábricas, Pto de las Crucetas	1	1	67.72	571.2	2438	36	6
318	419	Río de la Vega, Cortijos del Cura	1	2	60.45	748.7	665	11	0
319	420	Arroyo Celada, fuente	1	1	63.45	550.7	761.4	12	1
320	421	Río Madera, campamento La Moringa	1	2	65.83	651.1	1383	21	0

Apéndice 4 (continuación) / Appendix 4 (continuation)

ID	Cod.	Denominación	HT	ML	Δ^+	Λ^+	$s\Delta^+$	S	R
321	423	Río Segura, Paralís	1	2	0	0	0	1	0
322	427	Rambla del Albuñón	2	3	12.5	0	25	2	0
323	429	Salinas de S Pedro Pinatar, P. de Algas	4	3	70.83	555.6	212.5	3	0
324	431	Canal de desagüe. San Pedro	1	3	77.08	334.2	308.3	4	2
325	432	Cubetas supralitorales en Cala Reona	4	1	0	0	0	1	1
326	433	Cubetas supralitorales en Cabo de Palos	4	1	25	0	50	2	2
327	435	Salinas de Marchamalo, Ribenor	4	3	37.5	0	75	2	0
328	436	Salinas de Lo Pollo	4	3	0	0	0	1	0
329	437	Desembocadura de la Rbla. del Albuñón	2	3	33.33	86.81	133.3	4	0
330	438	Canal de Miranda, Venta Miralles	1	3	50	0	100	2	0
331	439	Carrizal de los Baños de Fortuna	4	2	42.26	974.3	295.8	7	0
332	444	Balsa en Tentegorra, Cartagena	3	3	0	0	0	1	0
333	446	Laguna del Saladar (L. de la Higuera)	4	2	66.67	719.2	466.7	7	1
334	447	Laguna Salada de La Mata	4	3	0	0	0	1	0
335	453	Arroyo Zumeta, Cortijo de León	1	1	37.5	0	75	2	0
336	454	Humedales de El Hondo. Charca SO	4	2	45.83	555.6	137.5	3	0
337	455	Humedales de El Hondo, carrizal oeste	4	2	0	0	0	1	0
338	456	Rbla. Tía Polonia, Hoya de las Vacas	2	1	75	0	150	2	0
339	457	Río Caramel, Cortijo Juntas de Abajo	1	2	0	0	0	1	0
340	458	Río Claro, Las Cuevas de Moreno	1	2	29.17	138.9	87.5	3	0
341	460	Rambla del Cabezo Negro, Fuente Vieja	2	1	0	0	0	1	0
342	461	El Hondo. Marjal charca Norte	4	2	75	291.7	450	6	1
343	463	Humedales de El Hondo. Canal-puente	1	3	0	0	0	1	0
344	465	Laguna de los Patos	3	2	68.23	416.4	1092	16	1
345	466	Laguna Grande de Alboraj	3	2	69.09	567.4	760	11	2
346	475	Rambla de Miñarros	1	2	70.59	452.3	2188	31	2
347	476	Rambla de Pastrana	2	2	70.83	443.4	920.8	13	0
348	477	Rambla de Majada	2	1	69.84	544.6	2165	31	0
349	478	Rambla del Reventón	2	1	69.88	560.9	1677	24	0
350	479	Rambla de las Moreras	2	2	69.38	543.9	1110	16	0
351	480	Rambla de Baltasar	2	2	73.06	367.7	730.6	10	0
352	481	Río Amír	1	2	71.39	440.9	1642	23	0
353	482	Rambla de la Raja	2	1	68.54	451.1	959.6	14	0
354	484	Azarbe junto a carretera N-332	3	3	50	0	200	4	0
355	485	Laguna de Pétrola. Laguna	4	1	66.94	577.5	669.4	10	0
356	487	Ajauque	4	2	66.96	750.2	535.7	8	0
357	490	Laguna Salada de La Mula (Rojales)	4	2	33.33	34.72	100	3	0
358	491	Desembocadura de la Rbla. del Pichorro	2	2	37.5	0	75	2	0
359	492	Arroyo de Cerezo Nogueras, Cañuelo	1	1	40.83	572.2	245	6	1
360	493	Arroyo de Venancia	1	1	37.5	625	150	4	1
361	498	Rbla. de Tobarra. Mina Honda	1	2	0	0	0	1	0
362	507	Fuente en Rambla Burete. Río Quípar	1	2	68.75	716.1	275	4	0
363	509	Arroyo de Zaén. Río Benamor	1	2	0	0	0	1	0
364	519	Arroyo Laga. Camino Salto de Miller	1	1	70	600	350	5	0
365	531	Laguna del Salobralejo. Laguna	4	1	70.24	587.4	491.7	7	0
366	532	Lagunas de Corral Rubio	4	3	68.75	603.3	618.8	9	0
367	533	Fuente de Agua Ramos	3	2	0	0	0	1	0
368	541	Rambla de Fuente Alamo	2	2	64.17	809.7	385	6	0

Apéndice 4 (continuación) / Appendix 4 (continuation)

ID	Cod.	Denominación	HT	ML	Δ^+	Λ^+	$s\Delta^+$	S	R
369	542	Humedales semidesecados los Narejos	4	2	0	0	0	1	0
370	544	Arroyo Bravo	1	1	70.14	529.5	2385	34	0
371	546	Río Motilla	1	1	66.5	661.1	1663	25	3
372	550	Rbla de Miranda	2	2	64.73	759.5	517.9	8	0
373	551	Argos en las Oicas	1	2	70.16	478	2666	38	0
374	552	Rambla del Garruchal	2	1	70.06	494.8	1682	24	0
375	553	Charca en La Manga	4	2	70	568.8	350	5	0
376	555	Charca en Elche de la Sierra	3	2	68.75	535.9	893.8	13	0
377	570	Río Alharabe desp.presa Risca.	1	1	68.65	544.1	3089	45	1
378	571	Arroyo Tercer. Camino Rogativa	1	1	68.48	554.7	2876	42	1
379	572	Arroyo Blanco	1	1	70.46	541.1	1409	20	0
380	573	Rambla de la Rogativa	1	1	65.2	553.4	1174	18	0
381	574	Rambla hipersalina en Albatara	2	1	0	0	0	1	0
382	576	Rambla de Algüeda	2	2	70.35	589.4	914.6	13	0
383	577	Rambla de Librilla	2	1	0	0	0	1	0
384	578	Charca en Casa Nueva. Campo-Coy	3	2	0	0	0	1	1
385	579	Balsa 4 (Orihuela)	3	3	70	475	350	5	0
386	580	Balsa 6 (Orihuela)	3	3	66.07	820.6	462.5	7	0
387	581	Balsa 7 (Orihuela)	3	3	66.96	660.9	535.7	8	0
388	582	Balsa 8 (Orihuela)	3	2	70	514.8	770	11	0
389	583	Balsa 1 (Orihuela)	3	3	61.16	662.3	489.3	8	0
390	584	Balsa 10 (Orihuela)	3	3	75	0	150	2	0
391	585	Balsa 11 (Orihuela)	3	3	76.25	295.3	381.3	5	0
392	586	Balsa 12 (Orihuela)	3	3	71.43	523	500	7	0
393	587	Balsa 13 (Orihuela)	3	3	74.17	363.9	445	6	0
394	588	Balsa 14 (Orihuela)	3	3	67.5	600	337.5	5	0
395	589	Balsa 2 (Orihuela)	3	3	69.2	496.5	553.6	8	0
396	590	Balsa 16 (Orihuela)	3	3	69.2	596.9	553.6	8	0
397	591	Balsa 17 (Orihuela)	3	3	70	475	350	5	0
398	592	Balsa 18 (Orihuela)	3	3	70	475	350	5	0
399	593	Balsa 19 (Orihuela)	3	3	75.83	238.9	455	6	0
400	594	Balsa 20 (Orihuela)	3	2	68.06	413.6	680.6	10	1
401	595	Balsa 21 (Orihuela)	3	3	67.5	620.8	405	6	0
402	596	Balsa 22 (Orihuela)	3	3	68.75	351.6	275	4	0
403	597	Balsa 23 (Orihuela)	3	3	65	900	325	5	0
404	598	Balsa 24 (Orihuela)	3	3	35.42	230	141.7	4	0
405	599	Balsa 25 (Orihuela)	3	3	35.42	230	141.7	4	0
406	600	Balsa 26 (Orihuela)	3	3	75	312.5	225	3	0
407	601	Balsa 27 (Orihuela)	3	3	70.83	555.6	212.5	3	1
408	602	Balsa 29 (Orihuela)	3	3	73.33	344.4	733.3	10	0
409	603	Balsa 30 (Orihuela)	3	3	58.75	689.1	293.8	5	0
410	604	Balsa 31 (Orihuela)	3	3	87.5	0	175	2	0
411	605	Balsa 33 (Orihuela)	3	3	70.49	522.2	634.4	9	0
412	606	Balsa 34 (Orihuela)	3	3	62.5	1250	187.5	3	0
413	608	Balsa 36 (Orihuela)	3	3	0	0	0	1	0
414	609	Balsa 37 (Orihuela)	3	3	0	0	0	1	0
415	611	Balsa 39 (Orihuela)	3	3	37.5	156.3	150	4	0
416	613	Balsa 41 (Orihuela)	3	3	56.25	789.1	281.3	5	0

Apéndice 4 (continuación) / Appendix 4 (continuation)

ID	Cod.	Denominación	HT	ML	Δ^+	Λ^+	$s\Delta^+$	S	R
417	614	Balsa 42 (Orihuela)	3	3	41.67	86.81	166.7	4	0
418	616	Balsa 44 (Orihuela)	3	3	37.5	0	75	2	0
419	617	Laguna de Pétrola. Arroyo	1	2	69.11	526	2902	42	7
420	618	Laguna de Pétrola. Pozas y charcas	3	1	64.65	560.7	1681	26	1
421	619	Laguna del Salobralejo. Arroyo	1	2	69.87	497.2	1887	27	4
422	620	Laguna del Salobralejo. Fuente	1	2	70.26	428.2	1405	20	2