

UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA
ESCUELA POLITECNICA SUPERIOR DE GANDIA
MÁSTER UNIVERSITARIO EN EVALUACIÓN Y SEGUIMIENTO
AMBIENTAL DE ECOSISTEMAS MARINOS Y COSTEROS



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA



ESCUELA POLITECNICA
SUPERIOR DE GANDIA

**“Diseño *BACI*: Efectos ambientales
de una piscifactoría de Jaulas
Flotantes en el Mediterráneo y su
recuperación tras el cese de la
actividad”**

TRABAJO FINAL DE MÁSTER

Autor/a:
Paula Vidal Sendino

Tutor/a:
**Silvia Laura Falco Giaccaglia
Vicente Domingo Estruch Fuster**

GANDIA, 2013

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecerle a todos aquellos que han hecho posible la realización de esta tesina. En primer lugar a Miguel, Silvia, Tania, que trabajaron en el muestreo de campo a lo largo de todo el periodo de estudio, para la obtención del gran número de datos que se analizaron en este trabajo, y que han sido el punto de partida para el desarrollo de mi tesina. A mis dos tutores, Silvia y Vicent por el tiempo dedicado en cada una de las reuniones, y a que en todo momento me han apoyado con sus correcciones y comentarios. Y por último a mis compañeras de Máster por haberme escuchado y dado apoyo en momentos en los que nos vimos agobiadas.

ÍNDICE	Pag.
0.RESUMEN	
1.INTRODUCCIÓN	1
1.1. Impactos ambientales producidos por las jaulas flotantes en mar abierto y su recuperación tras el cese de la actividad	1
1.2. Diseño del estudio de los impactos ambientales diseños BACI (Before/After- Control/Impact) y Beyond BACI	6
1.3. Justificación y Objetivos del trabajo	12
2.MATERIAL Y MÉTODOS	13
2.1. Localización de la zona de estudio	13
2.2. Campañas de muestreo realizadas	13
2.2.1. Periodos Before-After establecidos	14
2.3. Determinación parámetros físico-químicos del sedimento	15
2.4. Flujos de nutrientes y oxígeno en la interfase agua-sedimento	15
2.5. Determinación parámetros de la columna de agua	16
2.6. Determinación macrofauna bentónica	17
2.7. Análisis estadísticos de los datos	17
2.7.1. Análisis univariable Anova	17
2.7.2. Análisis multivariable Permanova	18
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
3.1. Recuperación de los parámetros físico-químicos de los sedimentos	20
3.2. Recuperación de la macrofauna bentónica	24
3.3. Recuperación los flujos bentónicos	27
3.4. Recuperación de los parámetros fisicoquímicos y biológicos de la columna de agua	32
4. CONCLUSIONES	37
5. BIBLIOGRAFÍA	38

RESUMEN

Se analizó la recuperación de los efectos ambientales de una piscifactoría de gilthead seabream (*Sparus aurata* L., 1758), en la columna de agua, sedimentos (variables bióticas y abióticas) y flujos en la interfase sedimento-agua, a través de un enfoque BACI-Refinado (Before/After-Control/Impact).

Se trabajó con los datos recopilados en 8 campañas de muestreo (4 durante la etapa de funcionamiento y 4 después del cese de la actividad) en las que se han medido las distintas variables tanto en la zona Impactada por la piscifactoría como en la Control.

En los sedimentos el análisis estadístico indicó una clara recuperación de los flujos bentónicos de NID, NH_4^+ , NO_3^- y también de los poliquetos debido a su pronta recuperación. Sin embargo se observó que el análisis estadístico durante el periodo Después no fue concluyente para parámetros como %gravas, %MO, PT, y redox del sedimento, flujos bentónicos de PO_4^{3-} y de OD y crustáceos como consecuencia de la recuperación progresiva de los mismos.

Para la columna de agua los parámetros PO_4^{3-} , el PT y el NH_4^+ se vieron afectados en el periodo Antes alcanzando su recuperación tras el cese.

Palabras clave: Acuicultura, Diseño BACI, flujos bentónicos.

ABSTRACT

The recovery of the environmental effects of a fish farm from gilthead seabream (*Sparus aurata* L., 1758), were analyzed. In the water column, sediments (biotic and abiotic variables) and benthic fluxes in the water-sediment interface, through a BACI-refined approach.

We worked with collected data from 8 campaigns (4 during the functioning and 4 after the activity was finished). We measured the different variables in both the impacted area by the fish farm as well as the Control area.

In the sediments the statistic analysis showed a clear recovery of the benthic fluxes of NID, NH_4^+ , NO_3^- and polychaetes due to fast recovery. However it was observed that the statistical analysis, during the period after, was not conclusive for parameters such as % gravels, % OM, PT, and redox of sediment, benthic fluxes of PO_4^{3-} and OD and crustaceans as a result of their progressive recovery.

For the water column parameters, PO_4^{3-} , PT and NH_4^+ were affected in the period before reaching its recovery after the cessation.

Key words: Acuaculture, BACI Design, benthic fluxes.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Impactos ambientales producidos por las jaulas flotantes en mar abierto y su recuperación tras el cese de la actividad

La acuicultura se puede definir como la cría de organismos acuáticos en cautividad con fines comerciales.

Cuando el principal objetivo del cultivo de organismos marinos es hacer engordar especies de alto valor de mercado en el menor tiempo posible, y de una forma económicamente rentable se conoce como “acuicultura intensiva”, y se caracteriza fundamentalmente por el empleo de tanques o jaulas flotantes que se instalan en aguas costeras para mantener los animales en cautividad, y por el empleo de piensos artificiales con el fin de conseguir las mayores producciones posibles por unidad de volumen.

Debido a la disminución de los recursos pesqueros la industria del cultivo de peces está aumentando considerablemente, esta tendencia irá en aumento en las próximas décadas (FAO, 2012). La necesidad de producción ha motivado el desarrollo de sistemas intensivos de acuicultura marina, siendo el sistema de jaulas flotantes uno de los métodos más eficientes, ya que permite el cultivo de peces en altas densidades y con menores costos de producción eliminando la necesidad de recambio de agua y aireación aprovechando las aguas naturales, inagotables y siempre renovadas por mareas y corrientes (Vergara et al., 2005).

Los dos tipos de cultivos (tanques en tierra y jaulas flotantes) presentan similares efectos en el medio adyacente, como se puede observar en la Tabla 1.1, pero a diferencia de los estanques, las jaulas flotantes presentan como ventajas la calidad del agua en el interior de las jaulas, ya que es estable y uniforme; la circulación dentro de la jaula es muy adecuada, y no presenta zonas muertas de circulación. La carga de animales por unidad de volumen que admite una jaula es muy superior a la posible en un estanque, dada la calidad y oxigenación constante del agua. Estas mismas condiciones permiten utilizar alimentos más económicos, por ser de mayor capacidad contaminante, como los subproductos de pescado fresco triturados, que en un estanque causarían numerosos problemas al no renovarse el agua con rapidez y quedar residuos en el fondo (Baird et al., 1996).

Tabla 1.1: Caracterización de impactos en instalaciones de cultivo en mar abierto y en estanques en tierra. (Fuente: Propia)

Jaulas flotantes en mar abierto en tierra	Estanques excavadores
1. Fase de construcción de instalaciones principales y auxiliares	
-Alteración de la calidad de aguas, del terreno fondos marinos y condiciones hidrodinámicas	- Transformación y alteración
-Incidencia paisajística	- Generación de residuos sólidos, líquidos (vertidos) y ruidos
-Generación de residuos y ruidos durante el transporte impacto visual e instalación	- Cambios del paisaje o
2. Fase de actuación procedimental de la instalación	
-Generación de residuos orgánicos e inorgánicos orgánicos e inorgánicos	- Generación de residuos
-Alteración de la calidad del agua sedimento	- Alteración de la calidad del
-Enriquecimiento o eutrofización eutrofización	- Enriquecimiento o
-Alteración de las condiciones hidrodinámicas u oceanográficas	- Alteración de las condiciones
-Alteración del sedimento (fondo marino): sustrato sedimento y hábitats	- Alteración de la calidad del
-Proliferación de poblaciones de avifauna de avifauna	- Proliferación de poblaciones
-Proliferaciones de microalgas y fitoplancton tóxico líquidos	- Generación de vertidos
-Fuga de peces cultivados	- Fuga de peces cultivados
-Introducción de patologías en las poblaciones autóctonas y las poblaciones	- Introducción de patologías en
3. Pesca, manipulación y comercialización de la producción	
-Generación de residuos orgánicos e inorgánicos	
-Fugas de las especies producidas	

Desde el punto de vista económico, el precio es relativamente bajo, y el coste por tonelada de peces producida es mucho menor que en cualquier tipo de estanque.

En cuanto a inconvenientes de este tipo de cultivo, hay que mencionar la dificultad de controlar el estado sanitario de los animales; el riesgo de fugas; el ataque por predadores; la pérdida de parte del alimento cuando hay pequeños peces competidores y el manejo relativamente complicado para observar, manipular y capturar los peces (Baird et al., 1996).

El continuo crecimiento de instalaciones de jaulas flotantes en mar abierto en el Mediterráneo, ha resultado un foco de atención en los últimos años y ha producido un gran interés científico y ha sido desde entonces objeto de múltiples investigaciones debido a los efectos ambientales que producen en el medio circundante (Mantzavrakos et al., 2007).

Aunque la acuicultura marina, en comparación con otros sectores productivos y otras actividades que se desarrollan en el litoral, origine un efecto menor sobre el medio ambiente, es obvio que puede producir algún impacto, y por ello, para asegurar el respeto a los valores medioambientales del entorno y cumplir correctamente los principios del desarrollo sostenible, lo importante es conocer cuáles pueden ser esos impactos, para tratar de corregirlos o, según los casos, minimizarlos (Macías et al., 2005).

Cuando se instalan grandes estructuras en aguas costeras de poca profundidad, se modifica considerablemente la hidrografía local. Las corrientes tienden a estratificarse y se modifican la velocidad y dirección de las mismas; pueden producirse cambios de sentido en estratos separados por sólo 10 centímetros. Las jaulas actúan como barreras, desplazando el agua a su alrededor. El coeficiente de transmisión o paso del agua a través de las mismas, depende del tamaño de la malla de la red y del grado de incrustación que presente, pudiendo oscilar entre el 20 y el 75%. Si se instalan varias jaulas unidas, el agua circula en canales, se forman remolinos y disminuye notablemente el recambio de agua dentro de ellas. Si las corrientes son lo suficientemente intensas para recambiar el agua, el oxígeno no actúa como factor limitante. La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) tampoco aumenta en exceso si las corrientes arrastran los restos de alimento y las heces (Neofitou y Klaoudatus, 2008).

Los impactos potenciales de los residuos de la acuicultura en la columna de agua están mucho menos estudiados que los impactos sobre los sedimentos y los ecosistemas bentónicos, probablemente se debe a que han sido difíciles de identificar y cuantificar (Olsen et al., 2008 en Morata et al., 2012.) o a que suele ser más evidentes los impactos producidos en el bentos, ya que los desechos tienden a acumularse debajo y en las proximidades de las jaulas (Yucel-Gier et al. 2007; Vita y Marin, 2007), cubriéndolos de residuos sólidos que alteran su composición y granulometría. La acumulación de la materia orgánica en la superficie del sedimento aumenta el metabolismo de los sedimentos y por lo tanto el consumo de oxígeno (Holmer y Kristensen, 1992; Morata et al., 2012) ya que éste es el aceptor de electrones que se utiliza por parte de las bacterias aerobias para la respiración.

También hay que considerar que los animales alojados en las jaulas pueden transmitir a la fauna natural enfermedades o parasitosis que nunca se hubieran presentado en la zona.

Aunque los efectos más comunes del cultivo de peces en jaulas y que más preocupan son principalmente los problemas de eutrofización local, la principal fuente de contaminación producida por las jaulas flotantes la constituyen los residuos orgánicos, relativamente ricos en carbono orgánico y nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, y que son liberados a través de las redes en forma de pienso no consumido, (1-30 %) bien porque se sobrealimenta, o bien porque existe una inadecuada gestión del mismo, además de los desechos metabólicos de los peces (Focardi et al., 2005). Sin embargo pueden afectar otras sustancias derivadas tales como vitaminas, hormonas, metales, biocidas, sustancias antiincrustantes (Sanz-Lázaro y Marin, 2008), así como otros contaminantes procedentes de la actividad piscicultora y con efectos adversos sobre las comunidades bentónicas, como los metales, principalmente Cu, Zn y Cd (Dean et al., 2007 en Morata et al., 2012). La fracción no digerida del alimento es eliminada por los animales marinos en forma de heces sólidas, mientras que aquéllos nutrientes absorbidos en exceso son excretados junto a los productos finales del catabolismo de las proteínas en forma de amonio y urea disueltos, a través de las branquias.

En líneas generales, alrededor de 1/4 de los nutrientes aportados vía alimentación de peces son incorporados a la carne de éstos, mientras que 3/4 partes permanecerán en el medio (62 % del nitrógeno y 11 % del fósforo en forma disuelta; 13 % del nitrógeno y 66 % del fósforo en forma de sedimentos sólidos). Las descargas medias totales estimadas son de 10 kg de Fósforo (P) y 90 kg de Nitrógeno (N) por tonelada de peces producidos por estación, para una tasa de alimentación de 1,3 % y un contenido del pienso de 1,62 % de P y 8,45 % de N en peso seco (Worm y Lotze, 2000). Por término medio, 2,2 kg de P son liberados en forma disuelta y 7,3 kg de P en forma particulada por tonelada de peces producidos, mientras que se liberan 61 kg de N disuelto y 17 kg en forma particulada. Los desechos metabólicos de los peces generados por las granjas pueden diferenciarse según sus características físicas en dos tipos, el material particulado con relativamente alto peso, tiende a precipitarse rápidamente y el material lábil o disuelto, que se incorpora a la columna de agua, con gran facilidad (Karakassis et al., 2000 en Aguado et al., 2012).

El material particulado de alto peso puede ser consumido por los peces silvestres asociados a las jaulas, sin embargo una gran cantidad se deposita en el bentos a poca a poca distancia de las granjas. La rápida sedimentación de estas partículas en zonas con limitada capacidad de carga tienden a producir una progresiva disminución del oxígeno disponible, con el consecuente aumento de las comunidades

bacterianas productoras de sulfuros, amonio y metano, las cuales a su vez pueden provocar la muerte de las comunidades bentónicas (Biles et al., 2002; Heilskov et al., 2006; Holmer et al., 2008).

El material lábil y disuelto se incorpora a la columna de agua y puede dispersarse, con la ayuda de las corrientes a varios kilómetros de distancia de las jaulas flotantes, se cree que éstos podrían promover cambios en las comunidades de fitoplancton así como afectar a las praderas adyacentes de *Posidonia* (Holby y Hall, 1991; Holmer et al., 2003). Pero también pueden provocar un enriquecimiento del agua circundante, dando lugar a un incremento de la producción primaria de las zonas afectadas (FAO, 1992) alterando la composición en especies de algas de la zona. El incremento en biomasa de algas puede provocar incremento de turbidez y déficits de oxígeno disuelto en la columna de agua por descomposición posterior de esta biomasa (La Rosa et al., 2002; Garren et al., 2008).

Las jaulas flotantes también actúan como objetos agregadores de peces, agregando un alto número de peces en sus alrededores atraídos por la materia orgánica que se escapa a través de las redes o también posiblemente peces escapados del cultivo, llegando a superar en biomasa a los peces cultivados (Dempster et al., 2002). El riesgo de contaminación genética generado por los peces escapados de cultivo a las poblaciones silvestres es alto, por lo que dicha interacción podría tener como consecuencia, la pérdida de la diversidad genética y la larga conllevaría a la disminución de los stocks silvestres. Pero por lo contrario y de manera ventajosa, se produce un impacto beneficioso para las pesquerías locales manteniendo la diversidad íctica y también reduciendo la precipitación al bentos de alimento no consumido.

Durante la fase de funcionamiento del cultivo de peces en jaulas flotantes en mar abierto, se llevan a cabo programas de vigilancia, por parte de la administración pública correspondiente, que son obligatorios y proporcionan información con respecto a la influencia de dicha actividad en la dinámica del medio ambiente circundante.

Cuando por algún motivo se produce el cese de la producción acuícola y la clausura de la piscifactoría, en muy pocos casos se hace un seguimiento de variables bióticas y abióticas que aporten información continua acerca de la evolución del medio ambiente tras el cese. Sin embargo, esta información con respecto a la capacidad de recuperación del medio ambiente, los procesos biogeoquímicos de recuperación y la determinación del tiempo necesario para el restablecimiento del ecosistema (McGhie et al., 2000; Pereira et al., 2004; Gray y Elliott, 2009 en Aguado et al., 2012) sería de gran utilidad para futuras predicciones de los impactos producidos. Por todo esto se hace muy necesario el estudio de la evaluación de la zona tras el cese de la producción acuícola y para ello los investigadores se tienen que ver dotados de

herramientas que les permitan, de una manera sencilla, poder evaluar los impactos producidos en el medio y el tiempo necesario para su recuperación en el caso de que se lograra.

A pesar de ello, existen algunos estudios de la recuperación bajo diferentes escenarios, como situaciones de paralización temporal (el barbecho entre dos períodos de producción) o después del cese definitivo de una planta acuícola.

En el caso de barbecho no se espera una recuperación por completo en cuanto a los sedimentos. Sin embargo, en el caso de que se produzca el cese definitivo, la recuperación de los sedimentos llegaría hasta un retorno a condiciones similares a la de los sedimentos no perturbados adyacentes. En este caso, se espera una recuperación total pasado algún tiempo (Aguado et al., 2012), considerando que debe producirse primero una recuperación química para permitir la recuperación biológica.

El grado de recuperación es muy variable, dependiendo principalmente de las características hidrológicas de la zona, el tipo de sedimento y como no de la magnitud del impacto producido.

1.2 Diseño del estudio de los impactos ambientales: diseños BACI (Before/After- Control/Impact) y beyond BACI

Gran parte del seguimiento ambiental de la mayoría de los hábitats se centra en la detección de cambios en la abundancia media, el tamaño, o la diversidad de las especies, así como en los promedios de otras variables, y éstos son considerados los impactos perjudiciales principales. Pero no son éstos los únicos cambios ambientales producidos, ya que muchos otros cambios quedan enmascarados. Por lo tanto, se deben desarrollar diseños de muestreo que sean útiles para la detección de cambios ambientales que por sí mismos no causan diferencias a la media de las variables medidas a largo plazo si no cambios de variación temporal (Underwood, 1991). A continuación se muestran los diseños experimentales desde el comienzo hasta la actualidad, la problemática y las soluciones propuestas.

- Toma de muestra Antes (Before) y Después (After), en un solo sitio

El diseño más simple que se podría utilizar para detectar un posible cambio ambiental es la comparación, como se muestra en la Fig.1.1, de una única muestra tomada en el sitio que se desea comprobar antes siempre que esté disponible y otra única muestra tomada después de la perturbación potencial. Si el muestreo siguiente revela diferencias, éstas se atribuyen al evento pero el cambio puede haber sido debido a cualquier causa intrínseca, totalmente fortuita a la actividad humana observada. No hay controles en tiempo o espacio para demostrar si esos cambios no

se han generalizado sin que haya un incidente de contaminación o de cualquier otra acción humana en ese sitio.

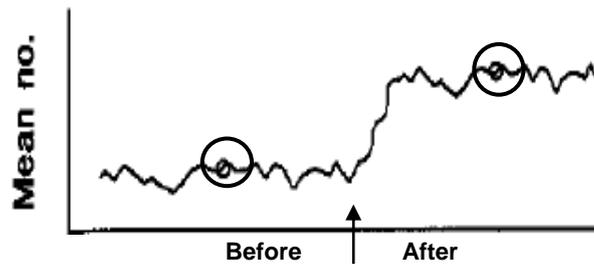


Fig. 1.1: Diseño con un único muestreo en una localización antes y después del impacto. (Fuente Underwood, 1991)

- *Repetidas muestras Antes / Después (Before/After) en un solo sitio*

Este nuevo diseño plantea una posible solución en el tema de la toma de muestras antes y después de una perturbación, como se muestra en la Fig. 1.2, consiste en tomar repetidas muestras al azar en el lugar, antes y después, de la ejecución de la actividad que pueda causar el cambio ambiental. El inconveniente de este diseño es que sólo es capaz de detectar un cambio en las medias de la muestras si éste se ha producido coincidiendo con el inicio de la perturbación ambiental pero no indicaría con exactitud si hay alguna relación entre ellas (Underwood y Peterson, 1988; Underwood 1989, 1991 en Aguado et al., 2012). Sin embargo presenta la gran ventaja de la toma de muestras a intervalos aleatorios de tiempo, en lugar de seguir una base fija regular como normalmente hacen los ecólogos marinos. Cada uno de los componentes del análisis estadístico se muestran en la tabla 1.2.

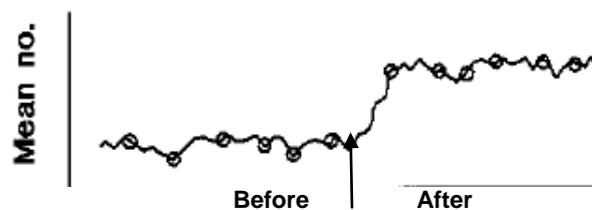


Fig. 1.2: Diseño Muestreos aleatorios en una localización antes y después del impacto. (Fuente Underwood, 1991)

Tabla 1.2: Análisis estadístico para detección de impactos ambientales (Fuente: Underwood, 1991)

Source of variation		Degrees of freedom	F ratio versus	Degrees of freedom
Before versus After	= B	1	T(B)	1, 2(t - 1)
Times (Before versus After)	= T(B)	2(t - 1)		
Residual		2t(n - 1)		
Total		2tn - 1		

- *Diseño BACI (Before After Control Impact): Muestreo Antes / Después - Control / Impacto*

El diseño BACI fue sugerido por Green (1979), la novedad es que incorpora un punto nuevo de muestreo, denominado *Control*, en el que no se prevé ningún cambio inducido por el hombre, para contrastar con la magnitud del cambio que haya podido suceder en el lugar posiblemente impactado, aunque normalmente se denomina *Impactado* a pesar de no conocerse si lo es o no. Este diseño (Fig. 1.3) implica un único muestreo, al mismo tiempo, en cada uno de los dos sitios, antes y de nuevo después del desarrollo de la actividad que pueda impactar. Cada uno de los componentes del análisis estadístico se muestran en la Tabla 1.3.

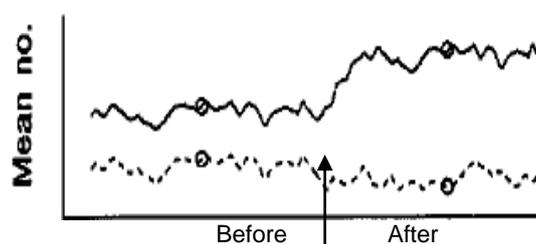


Fig. 1.3: Diseño BACI, con dos ubicaciones, Control (línea discontinua) y la zona Impactada (línea continua). (Fuente: Underwood, 1991)

Tabla 1.3: Análisis estadístico BACI para detección de impactos ambientales. (Fuente: Underwood, 1991)

Source of variation		Degrees of freedom	F ratio versus	Degrees of freedom
Before versus After	= B	1		
Locations: Control versus Impact	= L	1		
Interaction B × L		1	Residual	1, 4(n - 1)
Residual		4(n - 1)		
Total		4n - 1		

-*BACI-Refinado: Muestreo replicado Antes/Después (Before/After) en dos ubicaciones*

La mejor prueba es un análisis de dos factores de variación (siempre que los supuestos pueden ser satisfechas), y la existencia de algún impacto ambiental se indica por una interacción estadísticamente significativa entre las dos fuentes de variación (control frente a los sitios de impacto y Antes vs Después tiempos de muestreo). Tal interacción indicaría que la magnitud de la diferencia del periodo *antes* al *después* de los promedios de las variables muestreadas en el sitio *control* no es la misma que la diferencia entre los promedios de las muestreadas en el lugar impactado.

En este análisis y tal y como se muestra en la Fig 1.4 se muestrean dos ubicaciones, una *Control* y una posiblemente *Impactada*; las muestras se toman t tiempos al azar Antes y t Después del posible Impacto (de forma aleatoria), pero al mismo tiempo en cada sitio. Cada uno de los componentes del análisis estadístico se muestran en la Tabla 1.4.

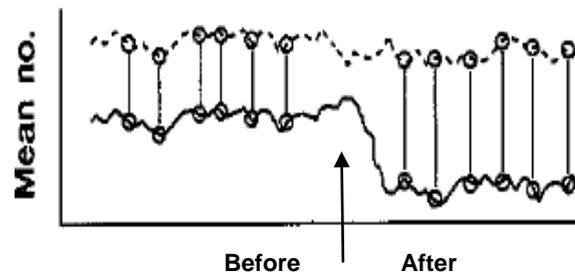


Fig.1.4: Diseño BACI de Bernstein and Zalinski (1983) y Stewart-Oaten *et al.*(1986).
(Fuente: Underwood, 1991)

Tabla 1.4: Análisis estadístico BACI-Refinado para detección de impactos ambientales.
(Fuente: Underwood, 1991)

Source of variation		Degrees of freedom	F ratio versus	Degrees of freedom
Before versus After	= B	1		
Locations: Control versus Impact = L		1		
Interaction B × L		1 ^A	L × T(B)	1, 2(t - 1)
Times (Before versus After)	= T(B)	2(t - 1)		
Interaction L × T(B)		2(t - 1) ^A	Residual	2(t - 1), 4t(n - 1)
L × T(B) Before ^B		t - 1	Residual	t - 1, 4t(n - 1)
L × T(B) After ^B		t - 1	Residual	t - 1, 4t(n - 1)
Residual		4t(n - 1)		
Total		4tn - 1		

En el caso de los organismos se pueden dar cambios de los procesos que provocan cambios en la abundancia media en una población, es una característica común de las poblaciones naturales (Underwood, 1989 en Underwood, 1991). Por lo tanto, el uso de un único sitio de *control* no es adecuado para asociar la presencia de la interacción estadística con el *impactado* (Bernstein y Zalinski, 1983 en Underwood, 1991). Se deben utilizar varios sitios de control, por todo esto surge un nuevo diseño más realista y que se plantea como la solución para el diseño BACI, el diseño Beyond-Baci (Underwood, 1992)

-Beyond-BACI: Muestreo replicado Antes / Después (Before/After) en distintas ubicaciones

Es un diseño de muestreo asimétrico. Para realizarlo se muestrean I localizaciones, cada una con n réplicas al azar e independientes, y con t tiempos

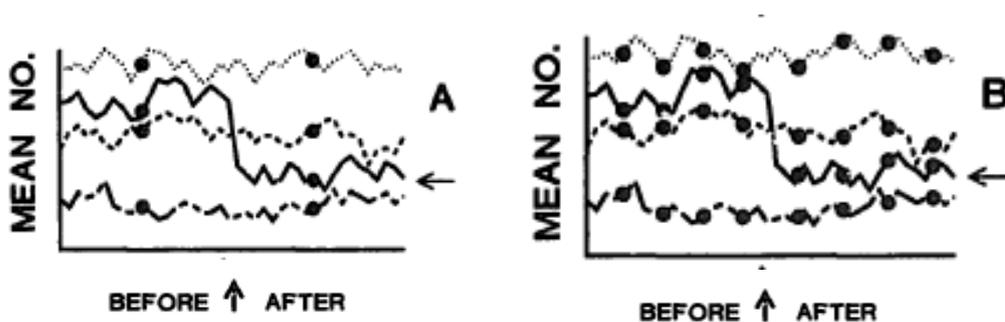
Antes de muestreo y t tiempos Después del impacto. Hay una localización posiblemente Impactada y $(I-1)$ controles. Los controles representan un factor aleatorio y cada control debe ser muestreado a diferentes tiempos. Los tiempos representan un factor aleatorio para las combinaciones de las distintas localizaciones y los periodos Antes o Después. Todo esto se ve reflejado en la Tabla 1.5.

Tabla 1.5: Análisis estadístico Beyond-BACI para detección de impactos ambientales.
(Fuente: Underwood, 1992)

Source of variation	Degrees of freedom	
Before vs. After = B	1	
Among Locations = L	$(l-1)$	
Impact vs. Controls ^a = I	1	
Among controls ^a = C	$(l-2)$	
B × L	$(l-1)$	
B × I^{a,b,c}	1	
B × C^a	$(l-2)$	F-ratio vs. T(B × L)
Among Times (B × L) = T(B × L)	$2l(t-1)$	
Residual	$2l(n-1)$	
Total	$2lm-1$	

Bajo estas circunstancias, serían detectados cualquier impacto ambiental debido a que deben causar interacción entre las localizaciones y tiempos o periodos (dependiendo de la naturaleza del impacto) después del inicio de la alteración. Esto haría que su detección fuera muy sencilla.

Básicamente, este análisis consiste en el monitoreo de un sitio impactado y múltiples sitios controles a través del tiempo, tanto antes como después del comienzo de la perturbación. Este diseño experimental con múltiples controles (asimétrica) se ha aplicado para detectar cambios en el medio marino causados por diversas acciones antropogénicas, tales como vertido de lodos de aguas residuales, la resuspensión de sedimentos contaminados, el establecimiento de áreas marinas protegidas, el dragado y los derrames de petróleo. El diseño experimental "Beyond-BACI" permite a los investigadores distinguir la variabilidad natural de la inducida por el impacto a diferentes escalas temporales (Aguado et al., 2012).



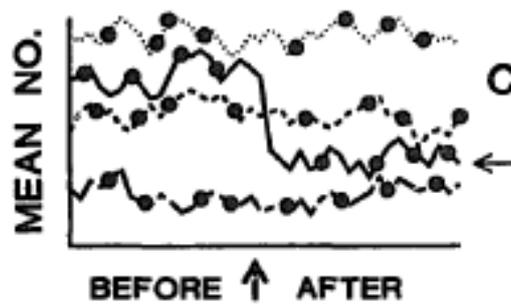


Fig.1.4: (A,B,C) Distintos Diseños Beyond-BACI
(Fuente: Underwood, 1992)

En la Fig. 1.4 se observan tres tipos de Diseños Beyond-BACI con la toma de muestras para la evaluación de impacto ambiental en tres lugares de Control y una única ubicación impactada (indicado por la flecha a la derecha). En la Fig. 1.4 A, hay un único tiempo de muestreo antes y después de que el impacto comience. En la Fig. 1.4 B, hay cuatro tiempos de muestreo antes y de nuevo cuatro después de que comenzase el impacto. En la Fig. 1.4 C, los lugares se muestrean de nuevo cuatro veces antes y otras cuatro después pero en diferentes tiempos antes y después del impacto.

Para determinar con exactitud si se ha producido un impacto ambiental negativo en una zona hay que tener en cuenta todos los factores ambientales posibles según Underwood (1992), pero esto en muchos de los casos no se consigue con los diseños planteados anteriormente ya que algunos de estos factores pueden quedar enmascarados. Los principales factores a tener en cuenta para ello son:

- La **singularidad del sitio impactado** y que cada entorno funciona de distinta manera, así que puede haber confusión a la hora de elegir los distintos sitios Control.

- **Variación en el espacio**, variaciones naturales de las poblaciones y que no son concordantes de un lugar a otro. Lo que se haría es demostrar que hay diferencias en los patrones temporales entre los dos sitios pero no que la diferencia se deba al impacto producido.

- **Variación en el tiempo**, referente a la oscilación en el número de organismos, este puede variar, no permanece constante, y no siempre el hecho de que suceda un impacto ambiental lo provoca. Se sugirió que este problema podría ser superado por muestreo repetido a intervalos aleatorios antes de que el impacto potencial inicie y de nuevo otra vez después del impacto. Pero esta no es, por sí misma, una solución satisfactoria al problema (Underwood, 1994).

- **Interacciones entre el espacio y el tiempo**, la evolución temporal de las distintas variables rara vez es la misma en un lugar o en otro, se producen complejas variaciones. Una herramienta para identificar tales procesos interactivos es el análisis de la varianza según Underwood (1991).

1.3 Justificación y Objetivos del trabajo

El objetivo de este trabajo fue, analizar a través de un enfoque BACI (Before/After, Control/Impact), la posible recuperación de una zona tras el cese definitivo de una piscifactoría de dorada (*Sparus aurata*), cultivadas en jaulas flotantes en mar abierto, en el Mediterráneo occidental, sobre la calidad del agua, los sedimentos, flujos en la interfase sedimento-agua y la estructura de la comunidad bentónica.

Para ello se analizaron parámetros físico-químicos de la columna de agua y de los sedimentos, la evolución de los flujos bentónicos *in situ* de oxígeno y nutrientes, aspecto novedoso frente a otros estudios que no incorporan estas medidas *in situ* tras el cierre de una piscifactoría. También se analizó la evolución de la comunidad macrobentónica del sedimento.

La piscifactoría, situada en Burriana (Castellón), estuvo sometida a un seguimiento ambiental mensual desde el año 2002. En junio del 2009 cesó la actividad de la instalación acuícola.

Debido a la cantidad de parámetros estudiados en *columna de agua* (12 parámetros diferentes), sedimentos (9 parámetros), *macrofauna* y la complejidad de los experimentos realizados (cámaras *in situ*) para la obtención de los flujos bentónicos de oxígeno y nutrientes, fue imposible la realización de un diseño experimental Beyond-BACI, y se optó por un BACI-Refinado.

Por todo lo anterior citado el objetivo del estudio fue el siguiente:

- A través de un enfoque *BACI-Refinado* (Before/After-Control/Impact) se analizó la recuperación de los efectos ambientales de una piscifactoría producidos en el agua, sedimentos (variables bióticas y abióticas) y flujos en la interfase sedimento-agua.

Este enfoque metodológico permite discernir entre la variabilidad temporal y espacial natural de la variabilidad atribuible a la actividad y cese de una piscifactoría y determinar si existen signos de recuperación.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Zona de estudio y su localización

La zona de estudio corresponde a una piscifactoría de engorde de dorada (*Sparus aurata*), en la localidad de Burriana (Castellón), en la costa occidental del Mediterráneo, frente al Golfo de Valencia (España). La instalación se encontraba en mar abierto a unos 2 km de la costa y sus instalaciones alcanzaban una profundidad aproximada de 19 m. Constaba de unas 15 jaulas flotantes de engorde de 25 metros de diámetro, las cuales, junto con el resto de estructuras necesarias para el cultivo de peces, que generaban una superficie sumergida considerable para el crecimiento y desarrollo del fouling marino, formado por macroalgas y principalmente por organismos suspensívoros como *Mytilus galloprovincialis* y *Sagartia elegans* (Morata et al., 2012).

La producción media anual de la piscifactoría estaba en torno a las 500 toneladas por año. La producción en dicha piscifactoría comenzó en el año 1999 y cesó en Junio del 2009.

Los peces fueron alimentados con alimento comercial, distribuido manualmente por un sistema de alimentación neumática desde un pequeño bote. Durante el periodo de este estudio, el factor de conversión de alimentación de la granja de peces fue de aproximadamente 1,8 y 2 (1 kg de pescado producido por cada 2 kg de alimento). La cantidad de alimento distribuido fue de aproximadamente 1.000 toneladas, que se distribuían desigualmente a lo largo del año ya que la tasa de alimentación variaba según la temperatura, la tasa máxima fue durante los meses de verano y los mínimos en los meses de invierno.

2.2 Campañas de muestreo realizadas

En este estudio se tomaron muestras en dos ubicaciones, una denominada Impactada **(I)**, (longitud 5° 56' 48.899" E; latitud 39° 50' 19.6243"N), afectada por la actividad acuícola, situada entre las jaulas de la instalación y otra ubicación que es una zona de referencia o control **(C)** (longitud 5° 56' 53.8129"E; latitud 39°50'21.4126"N), localizada a 130 m al noreste de la piscifactoría, que no se vio afectada por dicha actividad o no se preveía ningún cambio inducido por el hombre, para contrastar con la magnitud del cambio que haya podido suceder en el lugar posiblemente impactado.

Las muestras fueron tomadas en 8 campañas de muestreo, las cuatro primeras correspondieron al periodo definido como Before (B) en el que se desarrolló la actividad acuícola, y las cuatro últimas al periodo definido como After (A) durante el cual no se produjo actividad acuícola debido al cierre de la piscifactoría.

-Periodo Before

La primera campaña ("I-1", "C-1"), tuvo lugar a finales de Noviembre de 2008, que correspondió a Otoño del 2008;

La segunda ("I-2", "C-2"), a finales de Febrero de 2009, que correspondió a Invierno de 2009;

La tercera ("I-3", "C-3"), a finales de Abril de 2009, que correspondió a Primavera de 2009;

La cuarta ("I-4", "C-4"), a mediados de Junio de 2009 antes del cierre de la piscifactoría, que correspondió a Verano de 2009;

-Perdiado After

La quinta ("I-5", "C-5"), a finales de Julio de 2009, que correspondió a Verano de 2009;

La sexta ("I-6", "C-6"), a finales de Septiembre de 2009, que correspondió a Otoño de 2009;

La séptima ("I-7", "C-7"), a principios de Abril de 2010, que correspondió a Primavera de 2010; y por último

La optava ("I-8", "C-8"), 2 años después del cierre de la piscifactoría, finales de Julio de 2009.

En las 7 primeras campañas se tomaron muestras de la *columna de agua* para medir parámetros físico-químicos, del *sedimento* para medir sus parámetros físicos-químicos y la macrofauna bentónica, y por último se realizaron experimentos (cámaras *in situ*) para la obtención de *flujos bentónicos*.

En la última campaña, la octava, tras haber observado ya parte de recuperación en algunas variables medidas, y también debido al gran esfuerzo necesario para el análisis de las muestras se optó por únicamente muestrear el sedimento, y poder analizar sus parámetros físico-químicos y la macrofauna bentónica. Este hecho va a resultar muy relevante a la hora de realizar el análisis estadístico.

2.2.1 Periodos Before-After (Antes-Después) establecidos

Para poder hacer un análisis y comparativa de la evolución de los resultados obtenidos, incluyendo los dos periodos establecidos (Before-After) y también establecer la influencia de las distintas épocas del año, se necesita trabajar con el mismo número de campañas en el periodo before y en el periodo after. Debido a que en la octava campaña no se midieron los flujos bentónicos ni los parámetros de la

columna de agua, para analizar los mismos fue necesario suprimir una de las campañas before, quedándonos con las siguientes:

-Para el periodo Before: Primera (Otoño del 2008), Tercera (Primavera de 2009) y cuarta (Verano de 2009) y;

-Para el periodo After: Quinta (Verano de 2009), sexta (Otoño de 2009) y séptima (Primavera de 2010).

Para los parámetros fisicoquímicos medidos en el sedimento y la macrofauna bentónica se trabajó con las 8 campañas

2.3 Parámetros físico-químicos del sedimento

Durante cada campaña de muestreo, se tomaron muestras de sedimentos no alterados, tanto en la granja de peces como en la estación de control, utilizando corers con una longitud de 30 cm y un diámetro interno de 6,5 cm. Se trabajó con la capa superior (1 cm) para analizar granulometría, porosidad, la materia orgánica (MO) y fósforo total (TP). Granulometría se realizó mediante la escala de Wentworth (Shepard, 1954). La porosidad se calculó siguiendo Dell'Anno et al. (2002). La materia orgánica (MO) se analizó mediante el método de combustión (Dell'Anno et al., 2002). Para determinar el fósforo total (PT) de los sedimentos, se realizó una digestión siguiendo Arocena y Conde (1999). También apenas se sacaron los corers a la superficie, y se midió el potencial redox (Eh) a una profundidad de 0,5 cm utilizando un potenciómetro Crison PH25.

2.4 Flujos de nutrientes y oxígeno en la interfase agua-sedimento

Para medir flujos bentónicos de nutrientes y oxígeno *in situ* se utilizaron cámaras bentónicas (Morata et al., 2012). Se utilizaron para cada incubación cámaras transparentes y opacas, por triplicado cada tipo de cámara para así poder minimizar los efectos de la heterogeneidad espacial. Las cámaras están fabricadas con metacrilato y son semi-esféricas, con un diámetro de 40 cm y un volumen de 16.7 l, que cubre un área de 0.125 m². Las cámaras contenían un agitador manual para minimizar los gradientes de concentración (Niencheski y Jahnke, 2002 en Morata et al., 2012). Las cámaras fueron colocadas en el sedimento manualmente por los buceadores, y el período de incubación total fue de 6 horas. Se tomaron muestras de

agua del interior de las cámaras cada 2 horas usando jeringas de plástico de 60 ml a través de aberturas controladas por una válvula.

Los parámetros analizados fueron: oxígeno disuelto (OD), amonio (NH_4^+), nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-), fosfato (PO_4^{3-}) y silicio (Si). Los flujos bentónicos se estimaron a partir de la pendiente de la regresión lineal de las concentraciones de las series temporales para cada parámetro y el volumen de la cámara, siguiendo la ecuación 2.1, utilizada por Nizzoli et al. (2007).

$$F = \frac{C_t - C_o}{T_{\text{final}} - T_{\text{inicial}}} * V * t * \frac{1}{A}$$

Ecuación 2.1: Cálculo del Flujo ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$);

Donde:

- **F** es el flujo estimado en ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$);
- **C_o** y **C_T** son las concentraciones iniciales y finales (μmol) obtenidas en el ajuste lineal;
- **A**, es el área de la incubación en m^2 ;
- **t** es el tiempo total de incubación en horas (24h en este caso), y
- **V** es el volumen de agua incubada en l.

2.5 Parámetros de la columna de agua

En cada uno de los muestreos se tomaron muestras de agua correspondientes a la columna de agua, cada dos metros, pero también agua superficial y del fondo (un metro sobre el fondo marino) utilizando para ello una botella oceanográfica tipo Niskin.

Los parámetros medidos de la columna de agua fueron: transparencia (profundidad de Secchi), salinidad, pH, temperatura, sólidos suspendidos (SS), clorofila a (Chl-a), nitrógeno inorgánico disuelto (DIN), amonio (NH_4^+), nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-), fósforo soluble reactivo (PO_4^{3-}), fósforo total (TP), Sílice (Si) y oxígeno disuelto (OD).

La transparencia de la columna de agua se midió con un disco Secchi y la salinidad, pH y temperatura utilizando una sonda multiparamétrica WTW Multi 340i. Las muestras de oxígeno (DO) disuelto se fijaron inmediatamente y se analizaron mediante el método yodométrico Winkler (Baumgarten et al., 1996; en Morata et al., 2012). Para el análisis de los nutrientes disueltos, las muestras se filtraron usando un filtro de membrana de acetato de celulosa con un tamaño de poro de $0.45\mu\text{m}$. El amonio (NH_4^+), se determinó en el mismo día y el resto de muestras se congelaron para su posterior análisis. Los nutrientes se analizaron usando los métodos descritos por Aminot y Chaussepied (1983) y adaptado por Baumgarten et al., (1996). La

clorofila a (Chl-a) y los sólidos en suspensión (SS) se determinaron utilizando la metodología descrita en APHA (2005)

2.6 Macrofauna bentónica

Además se tomaron 3 corers adicionales, en cada ubicación (I, C) y en todas las campañas de muestreo, para la identificación y recuento de macroinvertebrados bentónicos. Estos corers se tamizaron utilizando una malla de 0.5 mm añadiéndoles cloruro de magnesio al 7% como anestésico. Posteriormente se fijaron los organismos con formol al 7%.

2.7 Análisis estadísticos de los datos

2.7.1 Análisis univariable ANOVA

El análisis de varianza (ANOVA), sirve para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas, con un nivel de confianza dado valorado a partir del "p-valor"; entre la ubicación Impactada (I) y la de control (C) a través del tiempo, en base a un diseño "BACI-refinado" (Underwood, 1991).

Este análisis se ha llevado a cabo para determinar si existen o no diferencias estadísticamente significativas en los flujos de nutrientes y oxígeno medidos en la interfase agua-sedimento así como en los parámetros físico-químicos del sedimento.

Se procede tomando muestras de forma aleatoria t tiempos antes, y t tiempos después del impacto producido, pero al mismo tiempo en cada ubicación, como indica el diseño experimental BACI-Refinado. En este análisis, como se muestra en la Tabla 1.3, hay distintas fuentes de variación y se han utilizado dos períodos fijos (Antes (Before) vs Después (After) = B), y dentro de cada uno de estos 2 periodos, 3 tiempos de muestreo (T (B)), que son los tiempos de las muestras Before y After. También se consideran las distintas ubicaciones o localizaciones (Impactada vs Control = L) y las distintas interacciones entre ellas [(B x L), (L x T(B))].

En estos últimos casos se realiza un análisis ANOVA de dos factores (two way ANOVA), que es un procedimiento estadístico para probar la hipótesis nula de que varias muestras univariantes tienen la misma media a través de cada uno de los dos factores, y si hay o no hay dependencias (interacciones) entre los factores. Las muestras se supone que están normalmente distribuidas y tienen varianz similar. Si los

tamaños de las muestras son iguales, estas dos hipótesis no son tan críticas. La prueba supone un diseño de factor fijo (que es el caso habitual).

Se establecen las diferencias entre medias, al considerar dos factores, un factor es Control y no Control, y el otro factor es Before y After. El ANOVA de dos factores permite establecer si hay diferencias significativas entre Before y After, entre controles y no controles y al considerar la interacción entre ambos factores.

•La *interacción B x L*, significa tener en cuenta al mismo tiempo Before vs After (B) e Impactado vs Control (L), en el resultado de esta interacción se tienen todas las combinaciones posibles ya que se pueden diferenciar las siguientes combinaciones: (Before vs Control, Before vs Impactado, After vs Control y After vs Impactado), y como resultado se obtiene una tabla en la que se pueden comparar las diferencias a pares entre todos los casos. Por otra parte se obtiene el resultado conjunto, es decir el estadístico F y el P-valor global que indicaría si a partir de la interacción Before vs After e Impactado vs Control existen diferencias estadísticamente significativas.

•Por otro lado la *interacción L x T(B)* tiene en cuenta al mismo tiempo Control vs Impactado (L) y los distintos tiempos de muestreo, haciendo distinción entre $T(B)_{\text{Antes}}$ y $T(B)_{\text{Después}}$, por lo que en realidad se obtienen resultados para dos interacciones distintas, $L \times T(B)_{\text{Antes}}$ y $L \times T(B)_{\text{Después}}$.

Para los cálculos se ha utilizado el programa PAST - PAleontological STatistics, ver. 1.34

2.7.2 Análisis multivariable PERMANOVA

Se realiza un análisis multivariable permutacional de la varianza o PERMANOVA (Anderson, 2001), para datos multivariados. PERMANOVA es una prueba no paramétrica que permite a partir del "p-valor" obtenido en el análisis, establecer la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre dos o más grupos, en función de una medida de distancia preestablecida (Anderson, 2001), en este caso la distancia Bray-Curtis, muy usada en este tipo de análisis.

Para ello se sigue el procedimiento de análisis BACI-Refinado resumido en la Tabla 1.4 y explicado en el apartado 2.7.1 (análisis univariable). Como resultado se tiene el cálculo de un estadístico F, en analogía con el ANOVA. De hecho, para conjuntos de datos univariados y con la medida de la distancia Bray-Curtis, PERMANOVA equivale a un análisis ANOVA simple y se llega al mismo valor F. La significación se calcula con la permutación de pertenencia al grupo, con 5000 repeticiones.

En este trabajo se usa PERMANOVA para las variables de la columna de agua y para la abundancia de los distintos grupos de la macrofauna de la misma manera que se describe anteriormente para los análisis univariantes, siguiendo el enfoque "BACI-Refinado".

Para ello se lleva a cabo un análisis PERMANOVA con un factor, cuyas características y requisitos son los siguientes:

-Aplicación típica: Prueba de la diferencia entre dos o más grupos multivariantes, en función de una medida de la distancia.

-Asunciones: Se usa en grupos con una distribución de similar varianza.

-Datos necesarios: Dos o más grupos de datos multivariantes, que al utilizar la herramienta PERMANOVA con PAST han de ser marcados con diferentes colores para poder diferenciar los grupos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Recuperación de los parámetros físico-químicos de los sedimentos

En la tabla 3.1 se muestran los resultados obtenidos del análisis de la varianza, ANOVA de dos factores, realizado para los parámetros físico-químicos de los sedimentos. Aquellos casos con $p\text{-valor} < 0.1$ indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 90% y aquellos casos con $p\text{-valor} < 0.05$ indican diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%.

Las fuentes de variación consideradas en el análisis de la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas son las siguientes:

- B: Comparativa entre el periodo Antes (Before) y el Después (After).
- L: Comparativa entre las ubicaciones, Control e Impactada.
- BxL: Se tienen en cuenta al mismo tiempo los dos periodos y las dos ubicaciones además de las combinaciones posibles, que son, Antes-Control, Antes-Impactado, Después-Control y Después-Impactado. Se obtiene el resultado conjunto (el valor del estadístico F y el p-valor global) que indicaría si el análisis de la interacción Antes-Después e Impactado-Control permite o no establecer diferencias estadísticamente significativas.
- LxT(B)_B: Indica si en el periodo Antes existen o no diferencias estadísticamente significativas entre las dos ubicaciones (L), Control e Impactada, teniendo en cuenta también los tiempos de muestreo.
- LxT(B)_A: Indica si en el periodo Después existen o no diferencias estadísticamente significativas entre las dos ubicaciones (L), Control e Impactada, teniendo en cuenta también los tiempos de muestreo.

Tabla 3.1: Resultados del análisis de la varianza para los parámetros físico-químicos de los sedimentos, medidos siguiendo el enfoque "BACI – Refinado"

Fuente de variación		Grados de libertad	F ratio	P valor	Grados de libertad
% Gravas					
Before vs After	= B	1	8.7	0.004**	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	55	1.5E-10**	
Interacción BxL		1	10.6	0.002**	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)			2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1	5.2	0.005**	t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1	27.15	6.4E-09**	t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			

Fuente de variación		Grados de libertad	F ratio	P valor	Grados de libertad
Redox					
Before vs After	= B	1	0.1	0.7	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	46.8	1.7E-05**	
Interacción BxL		1	2.5	0.12	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)			2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1	3.4	0.03**	t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1	3.5	0.03**	t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
PT					
Before vs After	= B	1	4	0.05*	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	108	3E-16**	
Interacción BxL		1	6.9	0.02**	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)			2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1	9.5	0.0001**	t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1	149	7E-19**	t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
% MO					
Before vs After	= B	1	1.96	0.17	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	31.6	3E-07**	
Interacción BxL		1	5.7	0.02**	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)			2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1	10.9	4.5E-05**	t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1	4	0.02**	t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4t(n-1)			

(*) Diferencias significativas a un nivel de confianza del 90%

(**) Diferencias significativas a un nivel de confianza del 95%

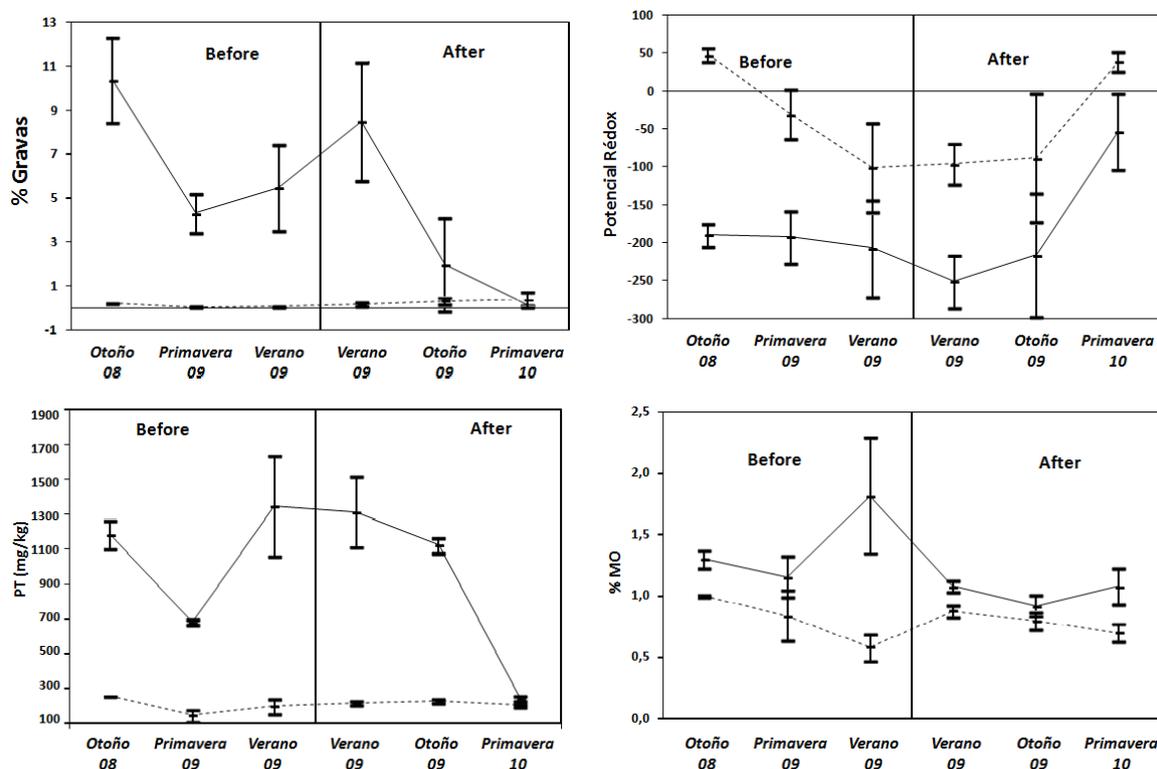


Fig 3.1: Evolución temporal de los parámetros físico-químicos del sedimento (% en gravas, potencial Redox (Eh), contenido de fósforo total (PT) y % Materia orgánica, antes y después del cese de la piscifactoría. Se grafica la media \pm error estándar de cada una de estas variables medidas. La línea continua corresponde a la ubicación Impactada y la discontinua a la Control. La barra vertical indica el cese de la actividad acuícola.

En la (Fig.3.1) se corroboran gráficamente las diferencias estadísticamente significativas obtenidas en el análisis para todas las fuentes de variación en el análisis del % de gravas, (B, p-valor = 0.004; L, p-valor = 1.5E-10; BxL, p-valor = 0.002; LxT(B)_B, p-valor = 0.005; LxT(B)_A, p-valor = 6.4E-09). El % de gravas que corresponde a la fracción mayor de 2 mm, principalmente compuesto por conchas, presentó valores en la ubicación Control menores en los dos periodos de estudio y se mantuvieron en torno a un valor estable. Por el contrario en la ubicación Impactada, se observan valores altos de % de gravas, debido en parte a las conchas que provienen de la limpieza del fouling de las estructuras sumergidas (Morata et al., 2012). A pesar de las diferencias estadísticamente significativas de la interacción LxT(B)_A con un p-valor (6.4E-09), se observaron gráficamente como disminuían gradualmente los valores del % gravas de la Impactada hasta ser prácticamente iguales a los del punto control indicando una recuperación gradual de los sedimentos ya que en Primavera de 2010 se alcanzó un valor mínimo de % gravas, muy similar al valor de la Control para la misma campaña. Este descenso en el % gravas del sedimento es debido al enterramiento y/o hidrodinamismo de la zona.

Los valores de potencial Redox de la ubicación Impactada son siempre inferiores, como indican las diferencias estadísticamente significativas encontradas entre las ubicaciones (L, (p-valor = 1.7E-05) y negativos, debido a los desechos orgánicos que provienen de la piscifactoría, observándose el más bajo en Verano debido posiblemente al mayor contenido en MO. También se encuentran diferencias estadísticamente significativas para las interacciones $LxT(B)_B$ (p-valor = 0.03) y $LxT(B)_A$ (p-valor = 0.03) ya que tanto en el periodo Antes como en el Después los valores de las dos ubicaciones son muy distintos. Sin embargo en Primavera del 2010 se observa un gran incremento del valor del Potencial redox aproximándose al valor de la Control en la misma campaña, lo que indica una posible recuperación. La recuperación en las medidas de potencial redox podría ser interpretado como una disminución de los procesos geoquímicos anaerobios, que es otro síntoma de recuperación química (Morata et al., 2012). Otros autores como Aguado et al. (2012), también observaron una mejora en las medidas del potencial redox en la zona afectada tras 8 meses del cese de la piscifactoría.

El contenido en fósforo total (PT) del sedimento de la ubicación Control se mantiene más o menos constante en torno a los 200 (mg/kg) no superando en ninguno de los casos los 260 mg/kg en los dos periodos estudiados. Los valores de PT del sedimento en la ubicación Impactada, en los dos periodos, son superiores a los de la Control, al igual que observaron Karakassis et al. (1998) dándose las mayores concentraciones en verano como también observó Mantzavarakos et al. (2007), excepto en Primavera de 2010, última campaña. Se observan diferencias estadísticamente significativas en B (p-valor = 0.05), L (p-valor = 3E-16) y en la interacción entre ambas BxL , p-valor = 0.02). En el periodo Después, en las dos primeras campañas, gráficamente se observan grandes diferencias entre los valores de la Control y de la Impactada, apoyado esto por las diferencias estadísticamente significativas establecidas para $LxT(B)_A$ (p-valor = 7E-19). En el periodo Después los valores de la ubicación Impactada disminuyen gradualmente, desde 1123 mg/kg hasta 255 mg/kg en Primavera de 2010 (Fig. 3.1), prácticamente igual al valor obtenido para la Control 204 mg/kg, indicando una recuperación gradual de los sedimentos.

En cuanto al %MO presente en el sedimento, gráficamente se observa que a lo largo de los dos periodos el % MO del sedimento de la ubicación Impactada fue mayor que el de la Control, lo que viene indicado por las diferencias estadísticamente significativas observadas para L (p-valor = 3E-07) y para la interacción BxL (p-valor = 0.02). En el periodo Después, en Verano del 2009 se observa un descenso del %MO del sedimento de la Impactada, coincidiendo con el cese de la piscifactoría, que continúa en Otoño del 2009, hacia niveles similares a los de la Control. A pesar de que el análisis estadístico indica la presencia de diferencias estadísticamente significativas

en el periodo Después, $LxT(B)_A$ (p -valor = 0.02), en el periodo Antes ($LxT(B)_B$, p -valor = 4.5E-05), estas diferencias estadísticamente significativas se observan con mayor evidencia. La materia orgánica proviene en gran parte del alimento suministrado que no es ingerido pero también de las excreciones, mortalidad de los organismos cultivados o de la limpieza de las jaulas (Tovar et al., 2000; Molina y Vergara, 2005). Este resultado muestra que al cesar el aporte de MO por la piscifactoría, la MO acumulada en el sedimento fue rápidamente mineralizada, observándose su descenso y la tendencia a su recuperación.

3.2. Recuperación de la macrofauna bentónica

En la tabla 3.2. se muestran los resultados obtenidos del análisis PERMANOVA de la macrofauna, realizado para los datos recopilados en las 8 campañas llevadas a cabo, 4 en el periodo Antes y 4 en el periodo después.

Las fuentes de variación consideradas en el análisis de la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas son las siguientes:

- B: Comparativa entre el periodo Antes (Before) y el Después (After).
- L: Comparativa entre las distintas ubicaciones, Control e Impactada.
- BxL: Se tiene en cuenta al mismo tiempo los dos periodos (B), las dos ubicaciones (L) y las combinaciones posibles, que son, Antes-Control, Antes-Impactado, Después-Control y Después-Impactado. En una tabla se obtiene por un lado el resultado conjunto (el valor del estadístico F y p -valor global) que indicaría si la interacción Antes-Después e Impactado-Control permite o no establecer diferencias significativas. Y por otro los resultados (F y el p -valor) de cada par de casos (I_1-I_5 , C_1-C_5 , C_1-I_1 , C_5-I_1 , C_1-I_5 , C_5-I_5) que permite comparar si hay o no diferencias estadísticamente significativas en todas las combinaciones.
- $LxT(B)$: El resultado es una tabla con los valores de F y p -valor de cada par de casos, para establecer si hay o no diferencias estadísticamente significativas en el periodo Antes entre las dos ubicaciones (L), Control e Impactada y lo mismo para el periodo Después. En el caso de los moluscos no se pudo hallar por insuficiencia de información.
- $T(B)$, $LxT(B)_B$, $LxT(B)_A$: Sin suficiente información para realizar el análisis

Tabla 3.2: Resultados del análisis multivariable permutacional de la varianza (PERMANOVA) para la Macrofauna Bentónica, siguiendo el enfoque "BACI –Refinado"

Fuente de variación		Grados de libertad	F ratio	P valor	Grados de libertad
Crustáceos					
Before vs After	= B	1	0.9	0.5	
Localizaciones: Control vs Impactado	= L	1	4.8	0.0004**	
Interacción BxL			2.6	0.003**	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)	1.5	0.07*	2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1			t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
Poliquetos					
Before vs After	= B	1	10.5	0.06*	
Localizaciones: Control vs Impactado	= L	1	1.8	0.006**	
Interacción BxL		1	6.9	0.0034*	
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			1,2(t-1)
Interacción LxT(B)		2(t-1)	0.5	0.4	
LxT(B) Before		t-1			2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			t-1, 4t(n-1)
Total		4tn-1			
Moluscos					
Before vs After	= B	1	0.6	0.6	
Localizaciones: Control vs Impactado	= L	1	10.5	0.3	
Interacción BxL		1A	0.7	0.7	
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			1,2(t-1)
Interacción LxT(B)		2(t-1)			
LxT(B) Before		t-1			2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			t-1, 4t(n-1)
Total		4tn-1			

(*) Diferencias significativas a un nivel de confianza del 90%

(**) Diferencias significativas a un nivel de confianza del 95%

Según los resultados del análisis estadístico realizado, para los crustáceos se observan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95% entre las dos ubicaciones, control e impactada (L, p-valor = 0.0004), teniendo en el mayor de los casos valores muy superiores de abundancia total en la Control, ya que en la Impactada no se observaron especies como *Ampelisca spinipes* y *Apseudes latreilli*, sensibles a la contaminación por la piscifactoría, y que si fueron detectadas en la estación control (Morata et al., 2012). También diferencias estadísticamente significativas en la interacción BxL, (p-valor = 0.003) al considerar globalmente la interacción, y en todos los casos de dicha interacción salvo en el caso concreto de Control del periodo Antes y Después, C₁-C₅ (p-valor = 0.34), lo que indica que la Control se mantiene constante en cuanto a la abundancia de crustáceos. Para la

interacción LxT(B), (p-valor = 0.07), se observan diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 90% al considerar globalmente la interacción, esto indica que los valores de la Impactada y de la Control (L) difieren globalmente en los distintos tiempos de muestreo (T(B)), pero no se observan en la comparación por pares.

En el caso de los poliquetos se observan diferencias estadísticamente significativas, a un nivel de confianza del 90%, entre los dos periodos distintos, Antes y Después, (B, (p-valor = 0.06) y a un nivel de confianza del 95% entre las distintas ubicaciones (L, p-valor = 0.006), entre interacción BxL (p-valor = 0.0034) al considerar globalmente la interacción y en todos los pares de casos. Se observan diferencias si se comparan los organismos de la Impactada antes (83.898 ind. m⁻²) con la Control, que presenta menor variación (C_{Antes}=7157 ind. m⁻², C_{Después}=8506 ind. m⁻²) en los dos periodos. Se observan diferencias si se compara la Impactada Antes (83.898 ind. m⁻²) con la Impactada Después (19.663 ind. m⁻²) indicando una recuperación, ya que disminuye el número de individuos. La abundancia de poliquetos fue siempre mayor en la ubicación Impactada debido fundamentalmente a la presencia de *Capitella capitata*, que fue la especie que dominó bajo las jaulas, considerada especie oportunista, con gran tolerancia al medio mostrando una abundancia entre 5855 y 31151 individuos m⁻², siendo en el muestreo de principios de verano del periodo Antes cuando se observó la máxima abundancia.

En el caso de los Moluscos no se observan diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los análisis estadísticos realizados, aunque hay mayor número de individuos en la Control que en la Impactada. El número de especies de moluscos encontrados fue bajo en ambos sitios.

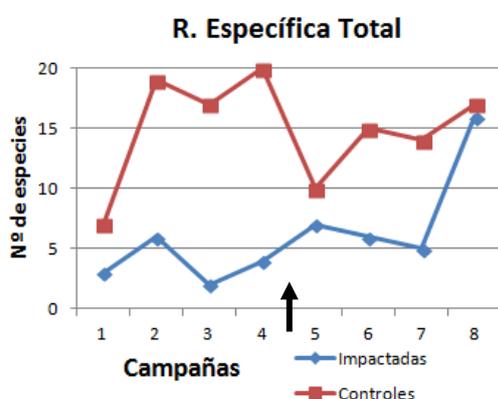


Fig. 3.2: Comparativa de la evolución temporal de la riqueza específica entre controles e impactados

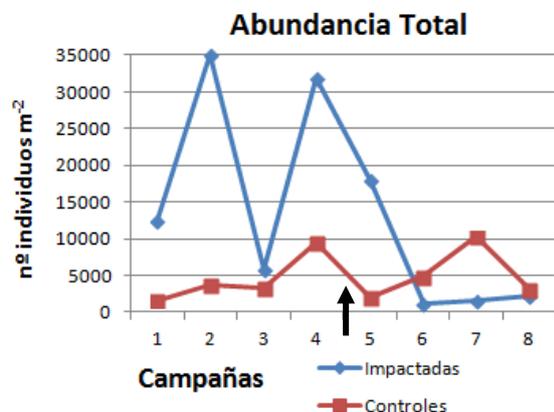


Fig. 3.3: Comparativa de la evolución temporal de la Abundancia entre controles e impactados

Para poder hacer una comparativa global de la riqueza específica y de la abundancia de los organismos entre las dos ubicaciones y los dos periodos, sin hacer distinción entre los distintos grupos (crustáceos, poliquetos y moluscos), se grafican ambas variables y se procede a su discusión.

En cuanto a la riqueza específica (Fig.3.2) se observó que en la ubicación Impactada (afectada por la piscifactoría) siempre fue bastante menor que en la estación control, tanto en el periodo Antes como en el Después, principalmente debido a la sensibilidad de numerosas especies a los altos niveles de materiales orgánicos en los sedimentos bajo las jaulas, así como posiblemente a contaminantes procedentes de la actividad piscicultora como metales que pudieron causar efectos adversos sobre la fauna bentónica (Dean et al. 2007; Davies et al. 1997 en Morata et al., 2012). En la campaña de muestreo 8, realizada 2 años después del cese de la piscifactoría, se produjo un gran aumento del número de especies, alcanzando valores similares a los de la ubicación Control de la campaña 8, consiguiéndose de esta manera la recuperación de la riqueza específica dos años después del cese.

Como se puede observar en la (Fig.3.3) los valores máximos de abundancia se obtienen para las estaciones impactadas, destacando los del periodo antes (Before). En el periodo después (After) los valores para la ubicación impactada van disminuyendo hasta alcanzar valores incluso inferiores a los de las estaciones controles.

En la ubicación Impactada se encontró un menor número de grupos faunísticos y además una disminución de la riqueza específica de crustáceos y poliquetos. La bajísima riqueza específica en la ubicación Impactada pudo ser consecuencia del aumento de MO, la cual produce una disminución en la concentración de oxígeno en el sedimento y habiendo especies muy sensibles al agotamiento del oxígeno, donde los individuos sensibles desaparecen y los tolerantes aprovechan para crecer de forma masiva (Díaz y Rosenberg, 1995 en Morata et al., 2012).

La recuperación es un proceso gradual que se puede observar de forma completa tras dos años del cese cuando tanto riqueza específica como abundancia tienen valores similares en ambos punto

3.3. Recuperación de los flujos bentónicos

En la tabla 3.3 se muestran los resultados obtenidos del análisis de la varianza realizado para los distintos flujos de nutrientes y oxígeno en la interfase agua-sedimento medidos de las campañas 1,3 y 4 (periodo Antes); 5,6 y 7 (periodo Después).

Tabla 3.3.: Resultados del análisis de la varianza para los distintos flujos de nutrientes y oxígeno en la interfase agua-sedimento medidos, siguiendo el enfoque "BACI –Refinado"

Fuente de variación		Grados de libertad	F ratio	P valor	Grados de libertad
OD					
Before vs After	= B	1	4.5	0.04**	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	25.6	3.5E-06**	
Interacción BxL		1	7.6	0.008**	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)			2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1	0.34	0.7	t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1	2.2	0.13	t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
NH₄⁺					
Before vs After	= B	1	22.14	1.3E-05**	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	18.38	5.8E-05**	
Interacción BxL		1	17.96	7E-05**	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)			2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1	47.84	4.7E-10**	t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1	0.13	0.9	t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
NO₃⁻					
Before vs After	= B	1	0.42	0.52	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	6.7	0.01	
Interacción BxL		1	3.4	0.07*	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)			2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1	5.2	0.01**	t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1	0.3	0.72	t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
NID					
Before vs After	= B	1	16.7	1E-04**	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	11.7	0.001**	
Interacción BxL		1	12	9E-04**	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)			2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1	38.12	6E-09**	t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1	0.2	0.8	t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
PO₄³⁻					
Before vs After	= B	1	151.8	5.5E-19**	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	245.3	3E-21**	
Interacción BxL		1	188.2	3E-21**	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			

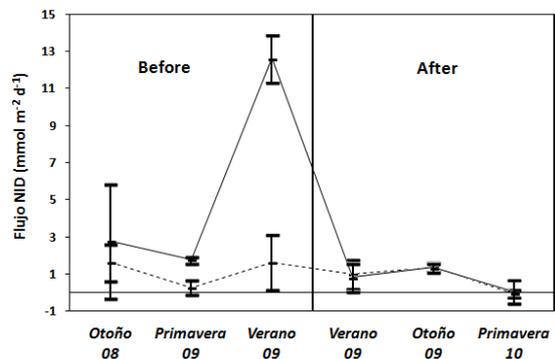
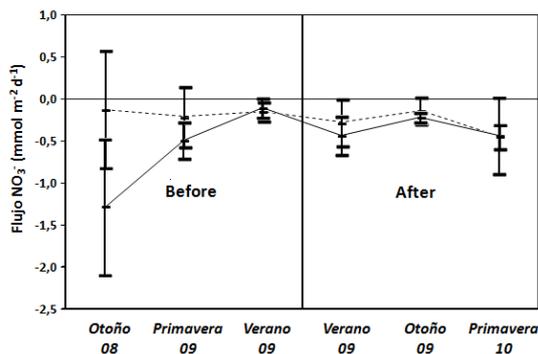
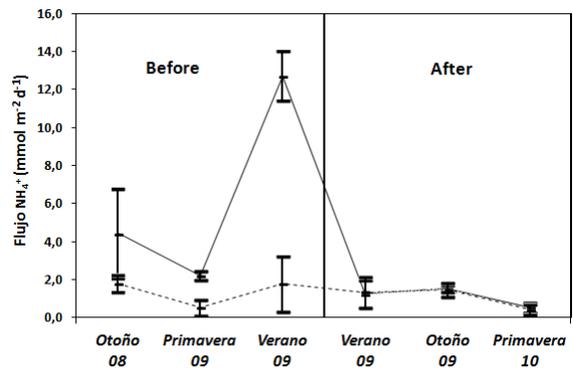
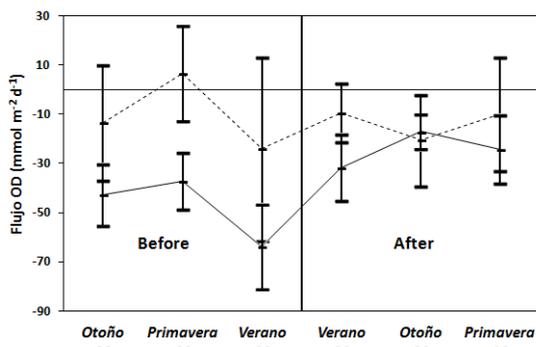
Fuente de variación	Grados de libertad	F ratio	P valor	Grados de libertad
Interacción LxT(B)	2(t-1)			2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before	t-1	2.7	0.08*	t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After	t-1	9.6	7E-04**	t-1, 4t(n-1)
Residual	4t(n-1)			
Total	4tn-1			

Si

Before vs After	= B	1	0.002	0.9	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	0.004	0.95	
Interacción BxL		1	0.6	0.4	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)			2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1	0.7	0.08*	t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1	17.9	8E-06**	t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			

(*) Diferencias significativas a un nivel de confianza del 90%

(**) Diferencias significativas a un nivel de confianza del 95%



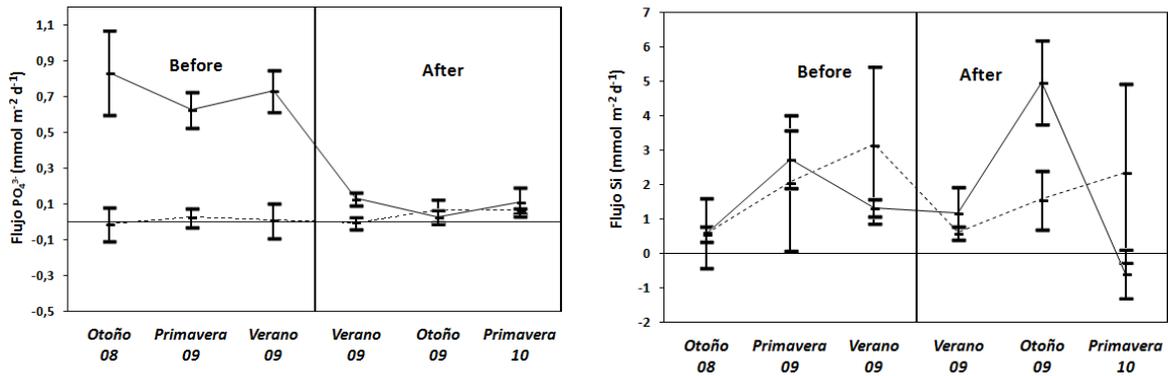


Fig. 3.4: Evolución temporal de los distintos flujos de nutrientes y oxígeno en la interfase agua-sedimento, Antes y Después del cese de la piscifactoría. Se grafica la media \pm error estándar de cada una de estas variables. La línea continua corresponde a la ubicación Impactada y la discontinua a la Control. La barra vertical indica el cese de la actividad acuícola.

En general los flujos medios de OD fueron negativos en la ubicación Impactada (Fig. 3.4), indicando un consumo de OD por el sedimento debido a que la acumulación de materia orgánica en la superficie del sedimento aumenta el metabolismo de los sedimentos y por lo tanto el consumo de oxígeno (Holmer y Kristensen, 1992) ya que éste es el aceptor de electrones que se utiliza por parte de las bacterias aerobias para la respiración. En el periodo Antes se observa oscilación en los datos de las dos ubicaciones con el mismo comportamiento, debido a la variación estacional, disminuyendo el consumo en Primavera y aumentado en Verano, pero siempre los valores de la ubicación impactada fueron notablemente menores que los de la control, comprobado con el análisis estadístico por las diferencias estadísticamente significativas encontradas en L (p -valor = $3.5E-06$). En el periodo Después, con distinto comportamiento que el Antes, B (p -valor = 0.04); se observa un aumento gradual de los valores de OD de la Impactada acercándose a los valores de la Control, comprobado con el análisis estadístico ya que no se obtienen diferencias estadísticamente significativas en ese periodo, $L \times T(B)_A$ (p -valor = 0.13). En Otoño 2009, se da un máximo de OD en la Impactada, coincidiendo prácticamente con el valor de la misma campaña de la Control, mostrando claros indicios de recuperación.

Los valores medios del flujo de NH_4^+ fueron positivos en todos los casos lo que indica un aporte de amonio desde el sedimento a la columna de agua debido a la mineralización de la materia orgánica. Para la ubicación Control se mantienen constantes entre $0-2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ para los dos periodos estudiados (antes-después). Se establecen diferencias estadísticamente significativas, resultantes del análisis estadístico y observadas en la Fig. 3.4, entre los dos periodos (B, p -valor = $1.3E-05$), entre las distintas ubicaciones (L, p -valor= $5.8E-05$) y entre la interacción entre ambas ($B \times L$, p -valor = $7E-05$). También para la interacción $L \times T(B)_B$, p -valor = $4.7E-10$) hecho

que se puede comprobar gráficamente ya que en el periodo Antes se observa que los valores del flujo para la Impactada son superiores produciéndose un máximo en torno a $13 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en la campaña de Verano. La mayor parte de la materia orgánica nitrogenada aportada por la piscifactoría fundamentalmente provenía del exceso de pienso no consumido por los peces en esta época donde se dan las mayores tasas de alimentación. Por el contrario, en el periodo Después, tras el cese, se observa claramente gráfica y estadísticamente, debido a que no se establecen diferencias estadísticamente significativas en la interacción $LxT(B)_A$ (p -valor = 0.9), una recuperación del flujo de amonio de la ubicación Impactada alcanzando valores similares a los de la Control para las tres últimas campañas, lo que indica su temprana recuperación.

Los valores medios del flujo de NO_3^- tanto en la ubicación Impactada como en la Control fueron negativos, lo que indica un consumo de éste por el sedimento a causa de la desnitrificación bentónica que se produce en las regiones subóxicas y anóxicas de los sedimentos donde el nitrato actúa como un aceptor terminal de electrones (Herbert, 1999 en Morata et al., 2012). Los flujos para la ubicación Control se mantienen bastantes constantes. No sucede lo mismo con los de la Impactada ya que en el periodo Antes se produce un máximo consumo en la campaña de Otoño 2008, se observa gráfica y estadísticamente ya que se obtienen diferencias estadísticamente significativas para la interacción $LxT(B)_B$, (p -valor = 0.01) y no para la $LxT(B)_A$, (p -valor = 0.72) ya que en el periodo Después los valores de las dos ubicaciones tienden a igualarse indicando una recuperación, mayor en la última campaña, en la que ambos valores son prácticamente iguales.

Los flujos medios de NID siguen el mismo comportamiento que lo observado para los flujos de amonio ya que este último fue el compuesto de nitrógeno que mayor representación tuvo dentro de los mismos. Se observan diferencias estadísticamente significativas entre los dos periodos (B, p -valor = $1\text{E-}04$) y entre las dos ubicaciones en el periodo Antes como indica la interacción $LxT(B)_B$ (p -valor = $6\text{E-}09$) comprobándose también gráficamente ya que se observa como los valores de la Impactada son mayores alcanzándose un máximo en la campaña de Verano en torno a $13 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, pero una vez producido el cese, en el periodo Después, se logra su recuperación con valores similares a los de la ubicación Control, por eso la interacción $LxT(B)_A$ (p -valor = 0.8) no presenta diferencias estadísticamente significativas.

Los flujos medios de fosfato (PO_4^{3-}) para la ubicación Control y a lo largo de los dos periodos estuvieron en torno a $0,03 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. Gráfica y estadísticamente se observa distinto comportamiento en el periodo Antes que en el después, B (p -valor = $5.5\text{e-}19$), siendo muy evidentes las diferencias entre ambas ubicaciones en el periodo Antes, L (p -valor = $3\text{E-}21$) y $LxT(B)_B$ (p -valor = 0.08), ya que en el periodo Antes los

valores para la ubicación Impactada son superiores a los de la Control, debido a que en la degradación de la materia orgánica se produce fosfato. Pero una vez producido el cese, en el periodo Después, se observa gráficamente el descenso de los valores para la Impactada, manteniéndose éstos similares a los de la Control a lo largo de todo el periodo Después, lo que indica una recuperación gradual del PO_4^{3-} , hecho que estadísticamente no se comprueba ya que se obtienen diferencias estadísticamente significativas LxT(B)_A (p -valor = $7\text{E-}04$).

Los valores medios del flujo de Si fueron siempre positivos en las dos ubicaciones y en los dos periodos (excepto en Impactada de Primavera 2010); lo que indica un aporte de Si desde el sedimento hacia la columna de agua. En ambos periodos se observan gráficamente las diferencias estadísticamente significativas que establece el análisis estadístico, LxT(B)_B (p -valor = 0.08), LxT(B)_A (p -valor = $8\text{E-}6$), obteniéndose mayores diferencias en el periodo Después ya que los valores de Si están más alejados gráficamente.

Por lo tanto se puede resumir que en el periodo Después los flujos que durante la etapa Antes se vieron afectados por la piscifactoría (NH_4^+ , NO_3^- , NID) se recuperaron completamente tras el cese de la actividad. En el caso del OD estadísticamente no se observan diferencias estadísticamente significativas para LxT(B)_A , (p -valor = 0.13), pero si entre las distintas ubicaciones (L, (p -valor = $3.5\text{E-}06$), entre los dos periodos (B, p -valor = 0.04) y entre la interacción entre ambas (BxL, p -valor = 0.008), por lo que hay evidencias de recuperación pero no se puede concluir que así sea.

En el flujo del Si no se puede concluir que haya o no recuperación, ya que hay que tener en cuenta que la materia orgánica que proviene de la piscifactoría tiene un bajo o nulo contenido en sílice (Tovar et al., 2000; Maldonado et al., 2005).

3.4 Recuperación de los parámetros físico-químicos y biológicos de la columna de agua

Para el análisis estadístico de la evolución de los parámetros físico-químicos de la columna de agua se ha realizado un análisis multivariable PERMANOVA de un factor, de manera independiente para cada parámetro, de tal manera que, para cada parámetro, se analiza el vector de valores de dicho parámetro correspondiente a distintas profundidades en la columna de agua.

Tabla 3.4: Resultados del análisis multivariable permutacional de la varianza (PERMANOVA) para las variables de la columna de agua, siguiendo el enfoque "BACI –Refinado"

Fuente de variación		Grados de libertad	F ratio	P valor	Grados de libertad
Salinidad					
Before vs After	= B	1	0.2	0.6	
Localizaciones: Control vs Impactado	= L	1	0.04	0.86	
Interacción BxL		1	0.09	0.98	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)	2.02	0.22	2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1			t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
OD					
Before vs After	= B	1	0.44	0.58	
Localizaciones: Control vs Impactado	= L	1	0.8	0.44	
Interacción BxL		1	0.47	0.77	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)	2.4	0.12	2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1			t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
NH₄⁺					
Before vs After	= B	1	2.6	0.015**	
Localizaciones: Control vs Impactado	= L	1	0.8	0.6	
Interacción BxL		1	1.4	0.15	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)	0.9	0.6	2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1			t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
NO₂⁻					
Before vs After	= B	1	0.16	0.95	
Localizaciones: Control vs Impactado	= L	1	1.71	0.18	
Interacción BxL		1	0.64	0.72	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)	2.2	0.097 [*]	2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1			t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
NO₃⁻					
Before vs After	= B	1	1.3	0.25	
Localizaciones: Control vs Impactado	= L	1	0.3	0.95	
Interacción BxL		1	0.6	0.85	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)	0.9	0.6	2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1			t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
NID					
Before vs After	= B	1	0.4	0.8	
Localizaciones: Control vs Impactado	= L	1	0.8	0.5	

Fuente de variación		Grados de libertad	F ratio	P valor	Grados de libertad
Interacción BxL		1	0.52	0.9	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)	0.8	0.6	2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1			t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
PO₄³⁻					
Before vs After	= B	1	3.84	0.014**	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	0.39	0.89	
Interacción BxL		1	1.57	0.14	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)	0.6	0.9	2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1			t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
PT					
Before vs After	= B	1	8.8	0.002**	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	0.7	0.5	
Interacción BxL		1	3.4	0.01**	
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			1,2(t-1)
Interacción LxT(B)		2(t-1)	0.6	0.8	2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1			t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			t-1, 4t(n-1)
Total		4tn-1			
Si					
Before vs After	= B	1	1.3	0.3	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	0.9	0.4	
Interacción BxL		1	1	0.5	
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			1,2(t-1)
Interacción LxT(B)		2(t-1)	0.91	0.6	2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1	0.67	0.83	t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			t-1, 4t(n-1)
Total		4tn-1			
Clorofila-a					
Before vs After	= B	1	0.36	0.87	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	0.43	0.8	
Interacción BxL		1	0.35	0.97	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)	1.3	0.31	2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1			t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			
S.S					
Before vs After	= B	1	0.28	0.84	
Localizaciones: Control vs Impactado = L		1	1.4	0.25	
Interacción BxL		1	0.58	0.71	1,2(t-1)
Tiempos (Before vs After)	=T(B)	2(t-1)			
Interacción LxT(B)		2(t-1)	1.3	0.35	2(t-1), 4t(n-1)
LxT(B) Before		t-1			t-1, 4t(n-1)
LxT(B) After		t-1			t-1, 4t(n-1)
Residual		4t(n-1)			
Total		4tn-1			

En el periodo Antes la salinidad varió entre 36.7 a 38.0 ‰. La salinidad no mostró diferencias estadísticamente significativas ni en B, (p-valor = 0.6) ni en L, (p-valor = 0.88) debido a que no es un parámetro que pueda verse afectado por la actividad acuícola al no realizar esta ningún tipo de vertido.

A pesar de que las concentraciones de OD siempre fueron más bajas en Impactada que en Control en la etapa Antes, no se establecieron diferencias estadísticamente significativas ni en B, (p-valor = 0.58) y L, (p-valor = 0.44). Las menores concentraciones de OD encontradas en la Impactada respecto a la Control son debidas al consumo de oxígeno por la respiración de los peces, al consumo en la degradación aerobia de la materia orgánica y a la nitrificación de las formas reducidas del nitrógeno.

El NH_4^+ presentó diferencias estadísticamente significativas, a un 95% de nivel de confianza, entre los dos periodos (B, p-valor = 0.015). Las mayores concentraciones de NH_4^+ encontradas en la columna de agua de la Impactada fueron debidas a que es la forma predominante de nitrógeno excretado por los peces (Dosdat, 2000; La Rosa et al., 2002; Aksu y Kocatas, 2007 en Morata et al., 2012) además del primer compuesto de la degradación de la materia orgánica en la columna de agua y en el sedimento. No se apreció diferencias para el conjunto de las 2 zonas, L (p-valor = 0.6) debido a que se considera tanto los datos del periodo Antes como Después para cada una de las localizaciones.

El NO_2^- presenta diferencias estadísticamente significativas, a un 90% de nivel de confianza, en la interacción LxT(B) global (p-valor = 0.098) y no por pares. Esto indica que hay diferencias entre los distintos tiempos de muestreo (1, 2, 3 Antes y 1, 2, 3 Después) para las dos ubicaciones.

Ni NO_3^- ni NID presentaron diferencias estadísticamente significativas en la columna de agua: B, (p-valor = 0.25 y 0.8 respectivamente) y L, (p-valor = 0.95 y 0.5 respectivamente).

El PO_4^{3-} presentó diferencias estadísticamente significativas, a un 95% de nivel de confianza, entre los dos periodos (B, p-valor = 0.014). De la misma forma el PT mostró diferencias estadísticamente significativas, a un 95% de nivel de confianza, entre los distintos periodos (B, p-valor = 0.002) y en la interacción BxL, (p-valor = 0.01), a un 90% de nivel de confianza en la comparativa por pares del caso I₁-I₅ (p-valor = 0.09) lo que indica diferencias entre la ubicación Impactada en el periodo Antes y en el periodo Después, ya que a partir de Otoño del 2008 se produce descenso de los valores de la Impactada. En el periodo Antes se han encontrado mayores concentraciones de PO_4^{3-} y PT en la columna de agua de la Impactada debido a que el

fósforo es excretado por los peces como ortofosfato disuelto o como compuestos orgánicos de fósforo y también al pienso no ingerido por los peces, el cual contiene fósforo (Jover, 2000 en Morata et al., 2012).

Para los valores de Si en la columna de agua no se pueden establecer diferencias estadísticamente significativas, B, (p-valor = 0.3) y L, (p-valor = 0.4). El sílice, aunque no está presente en los desechos de la acuicultura (Maldonado et al., 2005), afecta a las relaciones estequiométricas de los nutrientes (NID:PO₄³⁻:Si); pudiendo modificar el nutriente limitante y permitir el desarrollo de determinadas especies de fitoplancton potencialmente nocivas como los dinoflagelados.

Sin embargo, a pesar de la mayor disponibilidad de nitrógeno y fósforo bajo las jaulas, en este estudio sorprendentemente no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de Chl-a, B, (p-valor = 0.87 y L, p-valor = 0.8). Esto coincide con lo observado en otras instalaciones similares en el Mediterráneo (Pitta et al., 1999, La Rosa et al., 2002 y Kaymakci et al., 2010 en Morata et al., 2012). Esto puede ser debido en parte por la dinámica del agua en la zona de estudio, que pudo contribuir a la dilución y dispersión, impidiendo detectar diferencias en la biomasa fitoplanctónica. Por otra parte en este estudio se midió la concentración de Chl-a en el agua, que no es equivalente a la producción primaria total de la zona, ya que no se tuvo en cuenta el papel de las macroalgas y de suspensívoros, asociados a las estructuras sumergidas de la piscifactoría, en el consumo directo de nutrientes y de fitoplancton respectivamente (Morata et al., 2012).

Los valores encontrados de SS variaron desde 4 a 13 mg l⁻¹, pero no se pudo establecer diferencias estadísticamente significativas, B, (p-valor = 0.84) y L, (p-valor = 0.25).

Por lo tanto se puede resumir que se establecieron diferencias estadísticamente significativas para los distintos periodos (B) en el NH₄⁺, en el PO₄³⁻ y en el PT donde también se establecieron para la interacción BxL. Sin embargo para la interacción LxT(B) se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en el caso de NO₂⁻, Indicando estas diferencias que dichos parámetros fueron afectados durante la etapa de funcionamiento (Antes) pero que tras el cese (Después) se observaron signos de recuperación.

Por lo contrario, no se establecieron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los casos para los siguientes parámetros analizados: SS, chl-a, salinidad, OD, NO₃⁻, NID y Si.

4. CONCLUSIONES

El análisis estadístico para estudiar la posible recuperación de una zona impactada por una piscifactoría de doradas, siguiendo el Diseño BACI-Refinado propuesto por Underwood (1991) indicó, con sus resultados, una clara y total recuperación (cumpliéndose los siguientes criterios, $C_B \neq I_B$; $C_A = I_A$; $I_B \neq I_A$) de algunos de los parámetros estudiados y que previamente se habían visto afectados por la actividad. Dicha recuperación se observó estadística y gráficamente en los flujos bentónicos de NID, NH_4^+ , NO_3^- y también en los poliquetos, sobre todo por el descenso drástico de la abundancia de *Capitella capitata* de la ubicación Impactada, indicativo de la recuperación de la zona. En estos casos la recuperación fue rápida.

En el caso del flujo bentónico de OD no se establecen diferencias estadísticamente significativas en el Antes debido a la gran desviación estándar de los flujos (ya que se trabajó con cámaras transparentes y opacas) pero gráficamente se puede observar que en la Impactada el consumo de oxígeno fue mayor que en la Control. Tras el cese los flujos se recuperaron observándose gráfica y estadísticamente.

En algunos casos se encontró controversia entre los resultados del análisis estadístico realizado y lo observado gráficamente, ya que gráficamente se observó una recuperación progresiva de los parámetros pero con diferencias estadísticamente significativas establecidas por el análisis en el periodo Después, es el caso de parámetros como:

- El %gravas, %MO, PT, y redox del sedimento.
- El flujo bentónico de PO_4^{3-} .
- En macrofauna los crustáceos.

Para la columna de agua los parámetros que se vieron afectados en el periodo Antes fueron el PO_4^{3-} , el PT y el NH_4^+ ya que se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos periodos (B) pero no en la interacción LXT(B), lo que indica una recuperación de estos tres parámetros.

El Diseño BACI-Refinado es aplicable al estudio de parámetros muestreados tras el cese de una piscifactoría, para comprobar la recuperación de los mismos. Pero debido a que la recuperación para algunos parámetros se produce de manera gradual, no se debe aplicar inmediatamente después del cese. Se debe aplicar pasado el tiempo necesario para que se complete la recuperación del medio, en algunos casos de hasta 2 años, por el contrario los resultados estadísticos resultan contradictorios.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Aguado, F; Piedecausa, M.A; Gutiérrez, J.M; García, J.A; Belmonte, A; García, B; 2012. Benthic recovery after fish farming cessation: A “beyond-BACI” approach. *Marine Pollution Bulletin* 64, 729–738.
- Aksu M. & Kocatas A. (2007) Environmental effects of the three fish farms in Izmir Bay (Aegean Sea-Turkey) on water column and sediment. *Rapport du 38e Congrès de la Commission Internationale Pour L’exploration Scientifique de la Mer Méditerranée* 38, 414.
- Anderson, M.J., 2005. PERMANOVA. Permutational multivariate analysis of variance. A computer program.. Department of Statistics. University of Auckland, NZ, p. 24.
- Baird, D.J; Beveridge, M.C.M; Kelly, L.A; Muir, J.F; 1996. *Aquaculture and Water Resources Management*.
- Biles, C.L; Paterson, D.M; Ford, R.B; Solan, M; Raffaelli, D.G; 2002. Bioturbation, ecosystem functioning and community structure. *Hydrology and Earth System Sciences* 6, 999-1005.
- Dempster, T; Sanchez, P; Bayle, J.T; Gimenez, F; Valle, C; 2002. Attraction of wild fish to sea-cage fish farms in the south-western Mediterranean Sea: spatial and short-term temporal variability. *Marine Ecology Progress Series* 242, 237-252.
- Dosdat A. (2000) Environmental impact of aquaculture in the Mediterranean: nutritional and feeding aspects. *Environmental Impact Assessment of Mediterranean Aquaculture Farms. Cah Options Méditerr CIHEAM-FAO* 55, 23–36.
- Focardis, S; Corsi, I; Franchi, E; 2005. Safety issues and sustainable development of European Aquaculture International 13, 3-17.
- Garren M., Smriga S. & Azam F. (2008) Gradients of coastal fish farm effluents and their effect on coral reef microbes. *Environmental Microbiology* 10, 2299-2312.
- Heilskov, A.C; Alperin, M; Holmer, M; 2006. Benthic fauna bio-irrigation effects on nutrient regeneration in fish farm sediments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 339, 204-225.
- Holby, O; Hall, P.O.J; 1991. Chemical Fluxes and Mass Balances in A Marine Fish Cage Farm.2. Phosphorus. *Marine Ecology Progress Series* 70, 263-272.
- Holmer, M; Kristensen, E; 1992. Impact of marine fish cage farming on metabolism and sulfate reduction of underlying sediments. *Marine Ecology Progress Series* 80, 191-201.
- Holmer, M; Perez, M; Duarte, C.M; 2003. Benthic primary producers a neglected environmental problem in Mediterranean maricultures. *Marine Pollution Bulletin* 46, 1372-1376.

- Karakassis, I., Tsapakis, M., Hatziyanni, E., 1998. Seasonal variability in sediment profiles beneath fish farm cages in the Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series* 162, 243–252.
- La Rosa T., Mirto S., Favalaro E., Savona B., Sarà G., Danavaro R. & Mazzola A. (2002) Impact on the water column biogeochemistry of a Mediterranean mussel and fish farm. *Water Research* 36, 713-721.
- Macías, J. C; Collado, J; Escalona, M; García, E; 2005. Seguimiento ambiental para instalaciones de acuicultura marina. *Boletín Instituto Español de Oceanografía*. 21 (1-4), 57-66.
- Maldonado, M., Carmona, M.C., Echeverría, Y., Riesgo, A., 2005. The environmental impact of Mediterranean cage fish farms at semi-exposed locations: Does it need a re-assessment? *Helgoland Marine Research* 59,121–135.
- Mantzavrakos, E; Kornaros, M; Lyberatos, G; Kaspiris, P; 2007. Impacts of marine fish farm in Argolikos Gulf (Greece) on the water column and the sediment. *Desalination* 210, 110-124.
- Molina, L., Vergara, J.M., 2005. Impacto ambiental de jaulas flotantes: estado actual de conocimientos y conclusiones prácticas. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía* 21 (1-4), 75–81.
- Morata, T; Sospedra, J; Falco, S; Rodilla, M; 2012. Exchange of nutrients and oxygen across the sediment–water interface below a *Sparus aurata* marine fish farm in the north-western Mediterranean Sea. *J Soils Sediments* 12, 1623–1632.
- Neofitou, N; Kilaoudatos, S; 2008. Effect of fish farming on the water column nutrient concentration in a semi-enclosed gulf of the Eastern Mediterranean. *Aquaculture Research* 39, 482-490.
- Sanz, L; Marin, A; 2008. Assessment of Finfish Aquaculture Impact on the benthic communities in the Mediterranean Sea. *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology 2* (ed Ricardo Russo), pp. 21-32. Global Science Books.
- Tovar, A., 2000. Desarrollo de métodos automatizados para la determinación de micronutrientes: evaluación del impacto ambiental en acuicultura marina intensiva. PhD dissertation. Universidad de Cádiz, Spain.
- Underwood, A.J., 1991. Beyond BACI: experimental designs for detecting human environmental impacts on temporal variations in natural populations. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 42, 569–587.
- Underwood, A.J., 1992. Beyond BACI: the detection of environmental impacts on populations in the real, but variable, world. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 161, 145–178.

- Underwood, A.J., 1992. Beyond BACI: the detection of environmental impacts on populations in the real, but variable, world. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 161, 145–178.
- Vergara, J.M; Haroun, R.J; González, M.N; 2005. Evaluación de Impacto Ambiental de Acuicultura en jaulas en Canarias. Oceanográfica, Telde. ISBN:84- 609-4073-X. 110pp.
- Vita R. y Marin A. (2007) Environmental impact of capture-based bluefin tuna aquaculture on benthic communities in the western Mediterranean. *Aquaculture Research* 38, 331-339.
- Worm, B; Lotze, H.K; 2000. Nutrient pollution, low-trophic level harvesting and cumulative impacts on coastal ecosystems. (R.W. Rangeley (ed.). Huntsman Marine Science Centre, St. Andrews, New Brunswick, Canada.
- Yucel-Gier G., Kucuksezgin F. y Kocak F. (2007) Effects of fish farming on nutrients and benthic community structure in the Eastern Aegean (Turkey). *Aquaculture Research* 38, 256-267.