

Kutsadura urbanoaren eraginak ibai-ekosistemen funtzionamenduan



Olatz Pereda Iriondo

Doktorego Tesia

Arturo Elosegik eta Sergi Sabaterrek zuzendua

Kutsadura urbanoaren eraginak ibai-ekosistemen funtzionamenduan

Olatz Pereda Iriondo

Doktorego Tesia

29019ko Uztaila

Arturo Elosegik eta Sergi Sabaterrek zuzendua



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea



ZTF-FCT
Zientzia eta Teknologia Fakultatea
Facultad de Ciencia y Tecnología

EDUKIAK

Laburpena	1
1. kapitulua: Sarrera Orokorra	3
2. kapitulua: Kutsadura urbanoaren eta aldaketa hidrologikoen arteko elkarreragina erreka Mediterraneoen funtzionamenduan.....	39
3. kapitulua: Hondakin uren araztegiен efluenteen kutsaduraren eragina ibai-ekosistemen funtzionamenduan: ekosistema-mailako manipulazio esperimentua.....	79
4. kapitulua: Kutsadura urbanoaren berehalako eta legatu-efektuak ibai-ekosistemen funtzionamenduan: mesokosmo-mailako esperimentua	109
5. kapitulua: Eztabaida Orokorra	141
6. kapitulua: Ondorio orokorrak	171

Laburpena

Azken mendean zehar, gizakiek hiri- eta herri-guneetan sortutako kutsadura mundu osoko ibai eta errekei eragiten dien estres-iturri ohikoenetako bat bihurtu da. Nahiz eta kutsadura-maila murrizteko hondakin-uren araztegi (HUA) asko funtzionamenduan ipini diren, araztegiak ez dute lortzen kutsadura erabat desagerraztea eta euren isurketek kutsatzaile desberdin askoren nahasketakonplexuak suposatzen dituzte. Isurketa hauen ondorio ekologikoak euren konposizio kimikoaren edota ekosistema hartzalean duten kontzentrazioaren araberakoak dira; azken hau, era berean, errekek eta ibaietako daramaten emariaren araberakoa delarik. Isurketa urbanoek uraren kalitatean duten eragina nahiko ondo aztertuta dagoen bitartean, oraindik ez dago argi zeintzuk direnekosistema-mailako prozesuetan dituzten eraginak. Hori dela eta, tesi honen helburua kutsadura urbanoak erreken eta ibaien funtzionamenduan duen eragina aztertzea izan da, bai behaketa eta bai manipulazio bidezko esperimentuak konbinatuz.

Kutsaduraren efektua, ordea, areagotu daiteke hainbat estres-faktorek aldi berean eragiten dutenean. Horien artean, aldaketa hidrologikoek berebiziko garrantzia dute, bai naturalki baita giza jardueren ondorioz ere ematen direnak, emari baxuek erreka eta ibaien diluzio-gaitasuna murrizten baitute. Ondorioz, lehenik eta behin, kutsadura urbanoaren eta ur-eskasiaren arteko elkarreragina aztertu nuen erreken funtzionamenduan. Ekosistema-mailako zenbait prozesu aztertu nituen, diluzio-gaitasun aldakorra zuten isurialde Mediterraneoko 13 erreketan. Erreketa bakoitzean kontrol eta inpaktu tramu bat definitu nituen, isurketa urbanoen sarreretatik gora eta behera, hurrenez hurren. Kutsadura urbanoak eragin konplexuak izan zituen ekosistemaren funtzionamenduan, baina neurtutako prozesu gehienak subsidioa eragin zuten kutsatzaileekiko proporcionalki emendatu ziren, materia organiko erabilgarriarekiko, mantenugaietako edota konposatu farmazeutiko aktiboekiko, alegia. Hortaz, ibai-ekosistemen funtzionamenduan deskribatutako aldakortasuna uraren kimikan emandako aldaketek eragin zuten; batez ere, droga farmazeutikoek. Emaitza hauek aditzera ematen dute kutsadura urbanoaren efektuak isurketaren izararen ondoriozkoak ez ezik, erreka hartzaleetan jasaten duten diluzioaren ondoriozkoak ere badirela, eta gainera, oso kontzentratutako isurketek jarduera biologikoak ere bultzatzen ditzaketen.

Hala ere, araztegiak isurketen efektu ekologikoak landa esperimentuen bidez aztertzea, isurketetik gora eta behera dauden erreken tramuak alderatuz alegia, ez ohi da eginkizun erreza; orokorrean, isurketen sarreretatik gora dauden tramuak beste hainbat kutsadura-iturriren menpe daudelako. Egoera honek manipulazio-bidezko landa-esperimentu batekiko beharra azaleratu zigna eta horregatik, BACI (Before-After/Control-Impact) motako diseinua zuen esperimentu bat gauzatu nuen. Esperimentuan zehar, tratamendu tertziarioa zuen araztegi baten efluentearen parte bat kutsatu gabeko erreka batera isuri genuen eta isurketaren efektu ekologikoak urtebetetan aztertu nituen. Araztegiaren isurketak, nahiz eta oso diluituta egon erreka hartzalean, aztertutako prozesu ekologiko gehienak emendatu zituen, gutxi batzuek ez zuten aldaketarik erakutsi eta biofilmaren mantenugai-atxikimendua izan zen murriztutako prozesu bakarra. Hori dela eta, emaitza hauek

erakusten dute araztegiengen isurketek, nahiz eta oso diluituta egon erreka edo ibai hartzaleetan, eragin garrantzitsuak izan ditzaketela ekosistemaren funtzionamenduan.

Tesiko aurreikuspen sendoenetariko bat izan zen araztegiengen isurketek subsidio-estres motako erantzunak eragingo zituztela ibai-ekosistemen funtzionamenduan; betiere, erreka hartzaleetan jasango zuten diluzioaren arabera. Gauzatutako landa-esperimentuetan, aitzitik, aztertutako prozesu batek ere ez zuen esperotako patroi hura jarraitu. Horregatik, laborategiko esperimentu bat gauzatu nuen, zeinetan erreka artifizialak kutsadura-kontzentrazio gradiente baten eraginaren pean jarri nituen, erreka-ur garbitik araztegi baten isurketen uretarara. Aztertutako prozesu guztien artean, biofilmaren biomasa izan zen esperotako subsidio-estres motako erantzuna jarraitu zuen bakarra. Araztegiaren isurketak, ordea, prozesu gehienak emendatu zituen, nahiz eta erantzun-patroi desberdin eta konplexuak erakutsi zituzten kontzentrazio igoerarekiko. Biofilmaren mantenugai-atxikimendua izan zen, beste behin ere, araztegiengen isurketen ondorioz murriztutako prozesu bakarra. Era berean, aztertutako prozesu gehienek kutsaduraren legatu-efektu argiak erakutsi zituzten, nahiz eta erantzun-patroi konplexuak erakutsi zituzten. Ondorioz, horrelako esperimentuen emaitzek kutsadura urbanoaren ondorioak ibai-ekosistemen funtzionamenduan ulertzen lagun gaitzake, baina prozesuen erantzunaren konplexutasuna azpimarratzen dute.

Oro har, tesi honen emaitzek aditzera ematen dute araztegiengen isurketek efektu garrantzitsuak eta konplexuak eduki ditzaketela ibai-ekosistemen funtzionamenduan; bereziki kaltegarriak izan daitezkeenak komunitate mikrobiarraren bidez erregulatutako prozesuentzat. Ondorioz, emaitza hauek azpimarratzen dute funtsezkoa dela erreken eta ibaien emari ekologikoak mantentzea eta gaur egun legediak ezartzen dituen kutsatzaile desberdinekiko mugai doitzea, erreken diluzio-gaitasuna gehiago ez murrizteko. Hala ere, ikertzen jarraitzea beharrezko da, kutsatzaileen nahasketak konplexu hauen ondorio ekologikoak zehaztasunez deskribatzeko, eta hortaz, tratamendu prozesuak optimizatu eta kalte ekologikoak murrizteko.

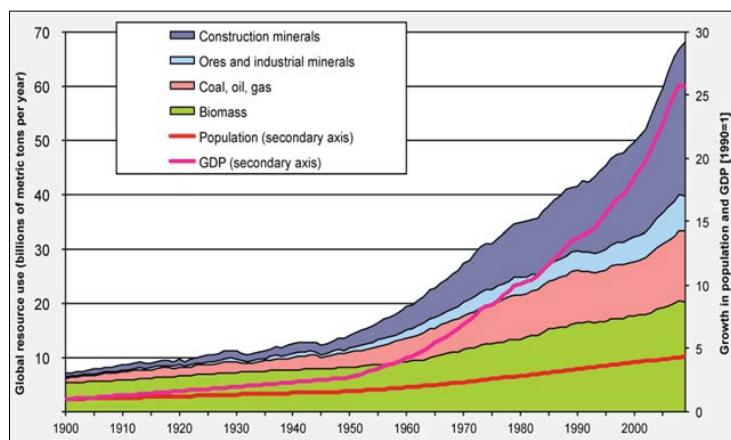
1. KAPITULUA

Sarrera Orokorra

1. Kutsadura urbanoa: mundu-mailako ingurumen-arazoa

1.1. Zerbait berria eguzkipean

Gizakiak ingurune fisikoa etengabe eraldatzen egon dira euren historiaren 4 milioi urteetan zehar, baina McNeill-ek 2000. urtean deskribatu zuen bezala “*orain arte inoiz ez da egon ezer XX. mendearen bezalakorik*”. Azken mende honetan zehar, aurrekaririk gabeko giza populazioaren tamainaren hazkuntzarekin batera, baliabideen erauzketaren eta garapen ekonomikoaren emendioa ere eman izan dira (1. irudia; Krausmann *et al.*, 2009). Gainera, ingurumen-aldaaketak areagotzen jarraitu du XXI. mendearren lehenengo bi hamarkadetan (Ripple *et al.*, 2017).



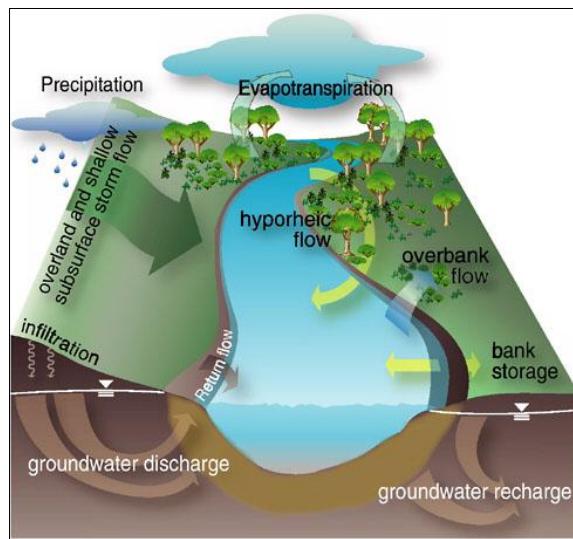
1. irudia: XX. mendean zehar emandako gizakiaren populazioaren tamainaren, baliabideen erabilera eta garapen ekonomikoaren hazkuntza esponentziala. Irudia Krausmann *et al.* (2009) lanetik hartutakoa da.

Aldaketa hauek, ordea, ez daude modu uniformean bananduta munduan zehar eta orokorrean, areagotu egiten dira hiri- eta herri-guneen inguruan. Nahiz eta hiriek Lurraren gainazal totalaren %3a baino ez duten hartzen, mundu-mailako baliabideen kontsumoaren %75aren baino gehiagoren erantzuleak dira (Madlener eta Sunak, 2011). Urbanizazioa azken menda moldatu duen indar nagusienetariko bat da, landa-eremutik hiri- eta herri-guneetarako aldaketa masibo bat eragin duena, alegia. Aurreko mendearren amaieran, munduko populazioaren %50a baino gehiago jadanik hiri- edota herri-eremuetan bizi zen, eta portzentaje honek, gainera, etengabe hazten jarraitzen du (Jones eta O'Neill, 2016). Ondorioz, gizakiaren jarduerak orban erabat orokortu eta iraunkorrak utzi ditu Lurrean, planetaren erresilientzia eta jasangarritasunerako ezarritako mugetako asko dagoeneko gaindituak izan direlarik (Steffen *et al.*, 2015). Errotiko aldaketa hauen emendioak eta dibertsifikazioak zientzialarietako asko bultzatu izan ditu aro geologiko berri baten hasiera ezartzera, Antropozeno bezala izendatua izan dena (Waters *et al.*, 2016), zeinetan gizakia den Lurra moldatzten duten indar geofisiko nagusia (Foley *et al.*, 2005). Antropozenoa zenbait ezaugarrik definitzen dute, hala nola, lurzoruaren erabilera eta azaleraren aldaketeak, eraldatutako ziklo biogeokimikoek, klimak eta airearen kalitateak edota murriztutako biodibertsitate-mailak (Dudgeon *et al.*, 2006). Hortaz, ezin uka daiteke, gizakiaren jarduerak drastikoki eraldatu duela eta eraldatzen ari dela

ingurumena, ondorioak Lurreko ekosistema gehientsuenetara hedatuta daudelarik dagoeneko (UNE, 2019).

1.2. Errekak eta ibaiak: hari batetik zintzilik

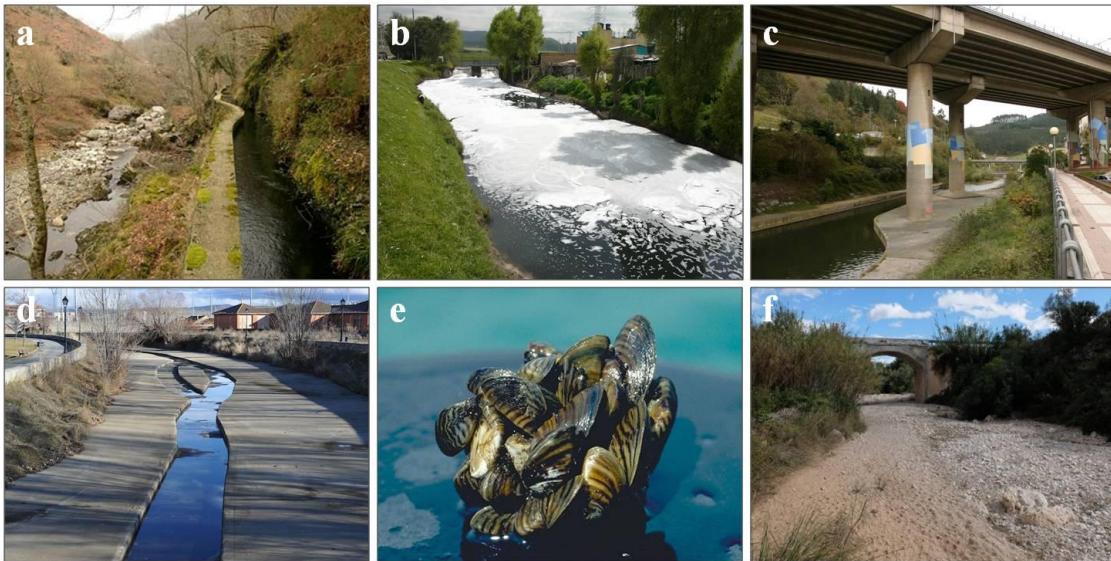
Errekak eta ibaiak Lurreko ekosistema mehatxatuenen artean aurkitzen dira (Vörösmarty *et al.*, 2010; Dudgeon, 2013). Ur gezetako sistema hauek ekosistema dinamikoak dira eta ibilgu hezeak definitzen dituen mugetatik haratago doan biodibertsitate zabala barneratzen dute. Orokorean, pasaiaren beheko eremuetan agertzen dira eta hortaz, hainbat zonalderen eragina jaso dezakete, errekatik ur-gora dagoen drainatze-sarearena, inguruko eremuena, ibar-baso eta hiporreosarena edota errekkako beheko tramuena, alegia (2. irudia) (Sabater *et al.*, 2009).



2. irudia: Ibai edo erreka baten hiru dimentsiotako egitura, luzetarako, alboranzko eta ardatz bertikalak irudikatzen dituena. Irudia domeinu publikoko da.

Historikoki, hiri eta herri-guneen hazkuntza nabarmenena erreka eta ibaien, uholde-lautaden edota delten inguruan eman izan da, zonalde hauek eskaintzen duten ur-eskuragarritasunaren ondorioz (Grimm *et al.*, 2008). Ura baliabide natural oinarrizkoenatarikoa da gizakiontzat eta ondorioz, beharrezko da helburu domestiko, industrial eta saneamendukoa duten prozesu anitzetan. Gizakiaren jarduerak, ordea, ur gezetako sistema hauek errotik eraldatu ditu haien beharretara egokitzeko eta hortaz, mundu osoko erreka eta ibai gehienak mehatxupean ipini ditu, larriki kaltetuz ekosistema hauen jasangarritasuna, energia erreserbak, uraren segurtasuna edota ekosistemen osasuna (Grant *et al.*, 2012), gaur egun oso gutxi direlarik inongo asaldurarik gabe gelditzen diren sistemak. Esaterako, Vörösmarty eta lankideek (2010) erakutsi zuten munduko ur gezetako sistemen %65a, jadanik, arinki edo larriki mehatxatutako sistemaren artean aurkitzen zirela eta gainera, munduko populazioaren %80ak baino gehiagok arriskuan zuela urarekiko segurtasuna mantendu ahal izatea. Erreka eta ibaien jasan ditzaketen mehatxurik larrienek ur-baliabideen gehiegizko erabilera (3a irudia), uraren kutsadura eta erreka-inguruaren suntsipena (3b irudia), emariaren

eraldaketa (3c irudia), ibilguaren simplifikazio eta kanalizazioa (3d irudia), espezie arrotzen inbasioak (3e irudia) eta klima aldaketa (3f irudia) barneratzen dituzte.

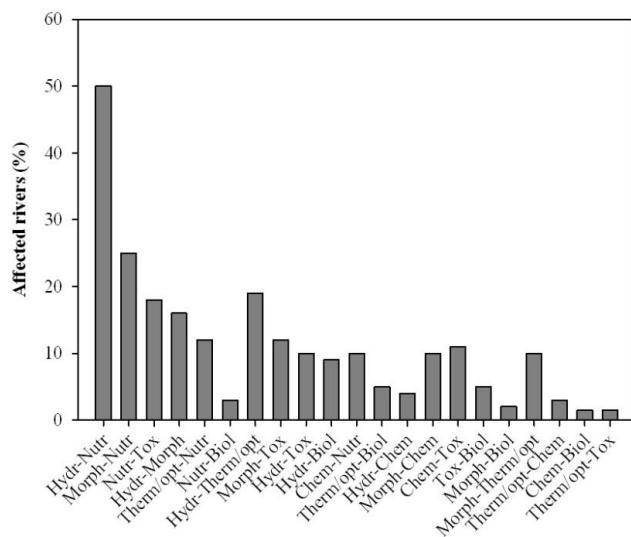


3. irudia: Gizakiaren jarduerak ur gezetako ekosistemetan eragin ditzakeen presio-iturri desberdinak: (a) ureztapen-kanalak uraren ustiapenerako, (b) kutsadura urbanoaren iturri puntuala eta ibar-basoaren suntsipena, (c) erreka-inguruko habitataren sekulako eraldaketa, (d) ibilguaren simplifikazioa, (e) espezie arrotzen inbasioa eta (f) ur-eskasia. Irudi guztiak Arturo Elosegik eskainitakoak dira.

1.3. Zenbait indarren aldibereko lana: estresore anitzen papera

Orokorrean, estresoreak ez ohi dira bakarrik agertzen erreka eta ibaietan; aitzitik, estres-iturri anitzak aldi berean agertzen dira, ekosistemetan erantzun ekologiko konplexuak eraginez (Sabater *et al.*, 2018). Estresore anitzek ur gezetako ekosistemako komunitate biologikoei eragiten diete (Dudgeon, 2010; Sabater *et al.*, 2016), baita haien funtzionamenduari ere (Johnston *et al.*, 2015), zeinak azkenik kolokan jar ditzakeen ekosistema hauetatik erator daitezkeen ondasun eta zerbitzuak (MEA, 2005). Hala ere, batzuetan estresore anitzen artean gertatzen diren interakzioek sorpresa ekologikoak eragiten dituzte, estresoreen arteko elkarrekintza zuen eta ez-zuzenen ondorioz gerta daitezkeenak (Romero *et al.*, 2018), edo erantzun biologikoen aldakortasunaren ondorioz gerta daitezkeenak (Berthelsen *et al.*, 2018), edota ekosistema bakoitzak duen berezko erresistentzia eta eresilientziaren ondorioz gerta daitezkeenak (Jackson *et al.*, 2016). Oro har, azken hamarkadetan zehar izugarri emendatu dira ur gezetako ekosistemak mehatxa ditzakeen estresoreen kopurua, baita euren hedapen geografikoa ere. Esate baterako, Ingurumenaren Agentzia Europarrak (EEA, 2012) erakutsi zuen Europako ur gezetako sistemak mehatxatzen zituzten estres-iturri nagusiak kutsadura (bai iturri puntualak, baita iturri lausoak ere) eta eraldaketa hidromorfologikoak zirela. Era berean, ikerketa berriagoek gehiegizko mantenugaiek sortutako kutsadura ere deskribatzen dute Europako erreka eta ibaiak mehatxatzen dituen estres-iturri nagusienetariko gisa (EC, 2015). Estres-iturri hauen efektu ekologikoak, ordea, gehienetan bakarka aztertzen dira (O'Brien *et al.*, 2019), baina horrek errealitatearen ikuspuntu eta deskribapen simpleegi bat baino ez du eskaintzen (Dafforn *et al.*,

2016). Ildo horretatik, azken urteetan hainbat proiektu eta ikerketa garatu izan dira, bakarkako estresoreen azterketek uzten dituzten gabeziei aurre egiteko. Adibidez, Birk eta lankideek (2018), Europaren zehar ohikoak ziren estresore anitzen iturriak zeintzuk ziren aztertzeko burutu zuten ikerketa sakon batean, ikusi zuten gehiegizko mantenugaiak eta aldaketa hidrologikoak zirela estres-iturri ohikoak, Europako erreken eta ibaien %60a baino gehiagori eragiten zietenak (4. irudia).

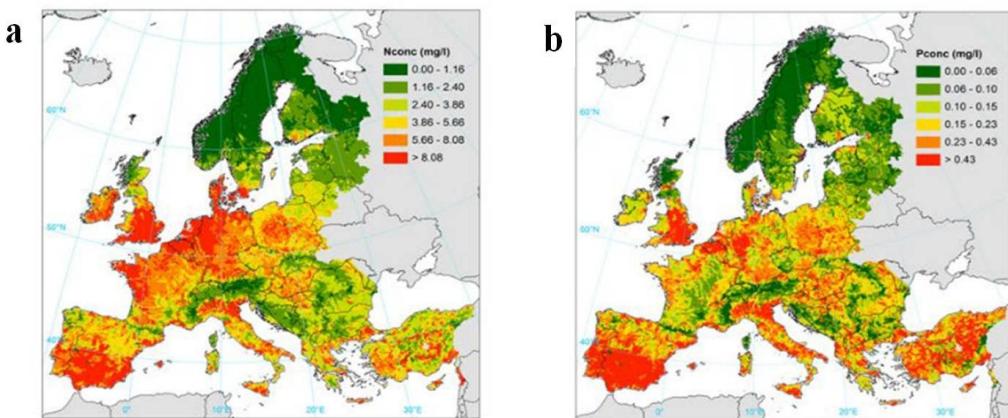


4. irudia: Europako errekkak eta ibaiak mehatxatzen dituzten estresore anitz desberdinen maiztasuna (Y ardatza). X ardatzean bi estresore mota desberdinen arteko konbinazioak irudikatzen dira: “*Hydr*” = aldaketa hidrologikoak, “*Nutr*” = gehiegizko mantenugaien ondoriozko kutsadura, “*Morph*” = ibilguaren aldaketa morfologikoak, “*Tox*” = substantzia toxikoen ondoriozko kutsadura, “*Therm/opt*” = tenperatura altuek eragindako estresa, “*Biol*”= espezie arrotzen inbasio biologikoak, “*Chem*” = kutsadura kimikoa. Irudia Birk *et al.* (2018) lanetik moldatutakoa da.

1.4. Kutsadura urbanoaren hazkuntza mundu-mailan

Azken mendeotan zehar, biologikoki aktiboak diren konposatuuen izugarritzko kantitateak askatzen arri dira ur gezetako ekosistemetan (Petrovic *et al.*, 2013), zeintzuek arriskuan jar ditzaketen sistema hauen biodibertsitatea eta funtzionamendua (Kaushal *et al.*, 2012; Rosi-Marshall *et al.*, 2015). Autore askok kutsadura kimikoa estresore anitz bezala definitzen dute bere horretan, erreka eta ibaietara helarazten dituen konposatuuen nahasketa aldakor eta konplexuengatik (Jackson *et al.*, 2016). Horrek materia organikoa (Carey eta Migliaccio, 2009), mantenugaien gehiegizko kontzentrazioak, batik bat nitrogeno eta fosforoarenak (Meyer *et al.*, 2005), sedimentu finak (Miserendino *et al.*, 2008) eta kutsatzaile organikoak, hala nola, pestizidak, metalak, produktu farmazeutikoak, norberaren zainketa eta garbitasunerako produktuak edota debekatutako drogak (Rosi-Marshall *et al.*, 2015; Sabater *et al.*, 2016; Aymerich *et al.*, 2017) barneratzen ditu. Errekak eta ibaiak substantzia eta konposatu hauen hartzaileak dira eta horregatik, sarrera hauen ondorioak begi-bistakoak dira Europako sistema gehienetan. Esaterako, Europako erreka gehienek nitrogeno (5a irudia) eta fosforo (5b irudia) kontzentrazio altuen ondorioak eta kalteak pairatzen dituzte (Grizzetti *et al.*, 2017). Sarrera hauen konposizio eta kontzentrazioa, ordea, beste hainbat faktoreren

araberakoa da. Alde batetik, konposizio kimikoa errekaren inguruan nagusitzen den lurzoruaren erabileraren araberakoa da, nekazal- edo industria-jarduerak edota herri- eta hiri-guneak gailentzearen araberakoa, alegia (Posthuma *et al.*, 2008); horrek definituko ditu nahasketan parte hartuko duten konposatu zehatzak (Altenburger *et al.*, 2015). Beste aldetik, sarrera hauen amaierako kontzentrazioa erreka edo ibai hartzaleak daraman emariaren araberakoa da, horrek definituko baitu ekosistema hartzalearen diluzio-gaitasuna (Rice eta Westerhoff, 2017). Zentzu horretan, etorkizunerako aurreikuspenek ez dituzte oso egoera baikorrak islatzen, etorkizun hurbilean espero baino erreken emaria gehiago murriztea, aldaketa klimatikoaren edota ur-baliabideen gehiegizko erabileraren ondorioz, eta kutsatzaileen kontzentrazioa gehiago emendatzea (Rice eta Westerhoff, 2017). Horrek gehiago txirotuko duelarik erreken egoera ekologikoa.



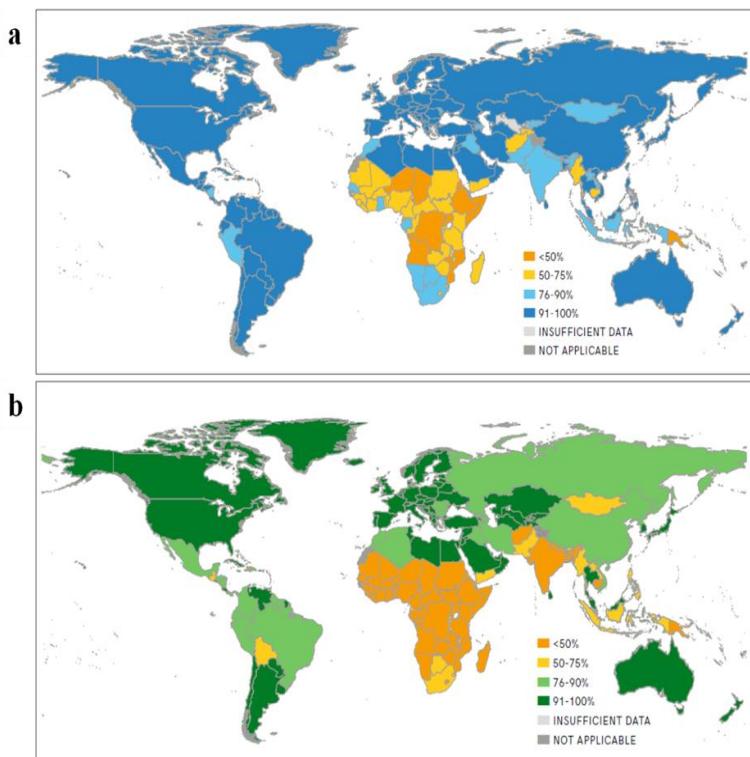
5. irudia: Europako erreka eta ibaietan neurtutako nitrogeno (a, ezkerrean) eta fosforo (b, eskuman) kontzentrazioak. Irudia Grizzetti *et al.* (2017) lanetik hartutakoa da.

1.5. Arazoei aurre egiteko ekimenak

Azken hamarkadetan, ordea, erreken eta ibaien egoera ekologikoaren andeatzeari buruzko ardura nabarmenki emendatu da eta horrek legegintza neurri berriak sortu ditu, hala nola, Uraren Esparru Arteztaraua (UEA) Europar Batasunean (EB), Ur Garbiranzko Zuzentaraua Amerikako Estatu Batuetako Ingrumenaren Babeserako Agentziak garatuta edota Kanadako Babeserako Zuzentaraua. Europar Batasunean 2000. urteaz geroztik, UEAk anbizio handiko araudia berria ezarri zuen gizakiaren jardueren ondoriozko estres edo presio-iturriak murrizteko eta horrela, EBko erreka eta ibai guztiak egoera ekologiko egokia bereganatzeko. Horren ondorioz, EBren kide diren herrialde guztiak erreken eta ibaien egoera ekologikoa aztertu behar zuten haien herrialdeetan eta horrez gain, monitorizaziorako programak ezarri inpaktuak gutxitzeko eta egoera ekologikoa hobetzeko. Neurri hauei esker, erreken eta ibaien kudeaketarako eta legegintzarako helburuak kutsadura-iturrien kontrol hutsetik ekosistemen osotasuna mantentzera igaro dira (Borja *et al.*, 2011; Birk *et al.*, 2012). Horrez gain, ingurumena hondakin uren ondorio edo efektu kaltegarriengandik babesteko helburuarekin, legegintza-neurri osagarriak garatu dira ur gezetako sistemetara heltzen diren kutsatzaileak murrizteko. Horren adibide da Europar Batzordeak 91/271/EEC 1991. urtean

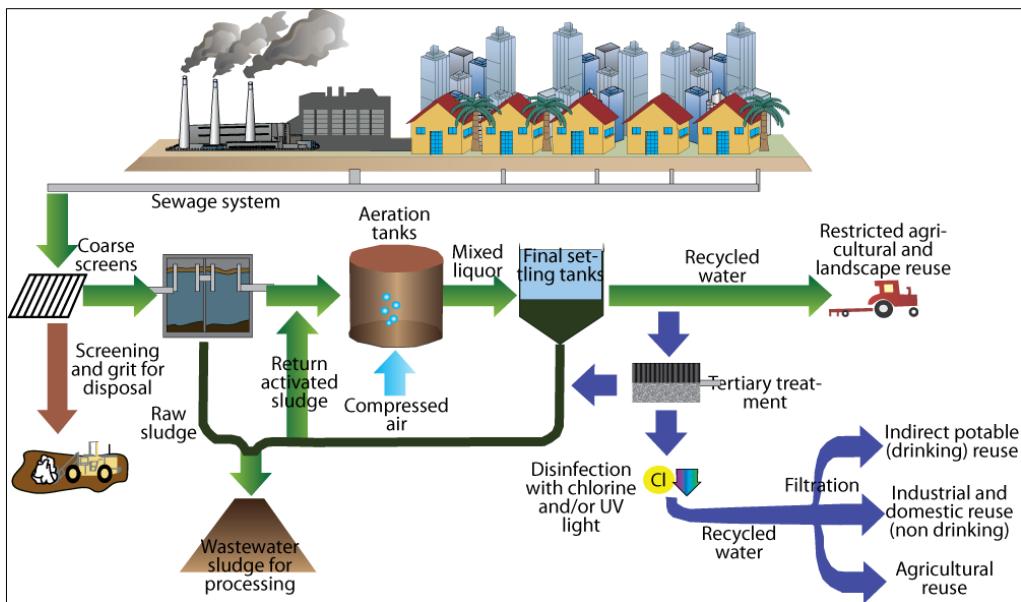
ezarritako Hondakin Ur Urbanoen Tratamendurako Zuzentaraua (EC, 1991), jatorri urbano zein industrialeko hondakin uren bilketa, tratamendua eta isurketa sustatzen zituena. Gainera, ezarri zenetik legedia honek etengabeko berrikuntza eta eguneratzeak jasan ditu, neurri ekologikoetara doitu beharreko substantzia eta konposatuен kopurua etengabe emendatuz. Aurrerapen eta garapen horiek barneratzen dituzte, esaterako, Europar Batzordeak 2008. urtean ezarritako legedia (EC, 2008), zeinak kontrol-neurri ekologikoak definitzen zituen kutsatzaile organiko eta ez-organiko askorentzat, edota 2012. urtean ezarritakoa, zeinak produktu farmazeutikoak emergentziakutsatzaietzat definitzen zituen eta hortaz, lehentasunezko substantzia arriskutsutzat. Hori dela eta, lege hauek ezarritako helburuetara edota muga ekologikoetara doitzeko helburuarekin, jatorri urbanoa duten hondakin urak biltzeko, metatzeko, tratatzeko eta garraiatzeko azpiegituren loraldia eman da; batez ere, Hondakin Uren Araztegiena (HUA). Esate baterako, azken hamarkadetan 2.500 araztegi baino gehiago ipini dira funtzionamenduan Spainian (Serrano, 2007) eta 39.000 baino gehiago Europan (EUROSTAT, 2017).

HUAk herri- eta hiri-guneetan hondakin urak tratatzeko garatu diren aurrerapen teknologiko garrantzitsuenetariko bat dira. XX. mendean zehar eskala handian hedatu ziren, kutsatzaile kontzentrazio altuen ondorioz osasun publikoan sor zitezkeen arazoak ekiditeko. Beraz, haien implementazioak eskatzen zuen gastu ekonomikoari aurre egin ahal izan zioten herrialdeek asko hobetu zitzuten haien osasun publiko eta uraren segurtasuna (Vörösmarty *et al.*, 2010). Esate baterako, 2015. urtean mundu-mailan hamarretik zazpi pertsonek edateko ur segurua zuten eskura, kutsaduraz erabat aske zegoena, eta hamarretik lauk saneamendu zerbitzu egokiak zitzuten hondakin uren tratamenduei esker (WHO eta UNICEF, 2017). Hala ere, herrialdeen arteko diferenciak izugarriak dira edateko urari eta saneamenduari dagokiola. Europar Batasunean, adibidez, populazioaren %80ak baino gehiagok, jadanik, tratamendu sekundarioa duten araztegiak dituzte eskura hondakin urak tratatzeko, eta tratamendu tertziarioa barneratzen duten araztegien eskuragarritasuna %20tik %80ra aldatzen da, herrialdearen arabera (EUROSTAT, 2017). Egoera honen, ordea, larriki egiten du okerrera herrialde azpigaratuetan, non 850 milioi pertsonatik gora ez baituen edateko ur segurik eskura (6a irudia), non 2.3 mila milioitik gora pertsonek ez baituen oinarrizko saneamendu zerbitzurik eskura (6b irudia) eta okerragoa dena, non oraindik ere zenbait milioi pertsona hiltzen diren urtero uraren bidez transmititzen diren gaixotasunen ondorioz (WHO eta UNICEF, 2017). Herrialde azpigaratuetako legedia askoz ere ahulagoa izan ohi da eta gainera, ez da modu egokian ezartzen suposatzen dituzten gastu ekonomiko altuak direla eta (Beyene *et al.*, 2009). Horren ondorioz, 160 milioi pertsonak baino gehiagok azaleko ura zuzenean erabiltzen du Saharaz hegoaldeko Afrikako herrialdeetan eta Ozeanian, eta 900 milioik baino gehiagok ur zikinak zuzenean askatzen ditu ingurunera Saharaz hegoaldeko Afrikako, Ozeaniako eta Asiaren erdialdeko eta hegoaldeko herrialdeetan (WHO eta UNICEF, 2017).



6. irudia: Munduko populazioaren kopurua oinarrizko zerbitzuak dituena edateko ur segurua lortzeko (a, goian) eta saneamendu baldintza egokiak lortzeko (b, behean). Irudia WHO eta UNICEF (2017) txostenetik moldatutakoa da.

Denborak aurrera egin ahala, aurrerapen esangarriak egin izan dira hondakin uren tratamendu prozesuak hobetzeko, eta gaur egun hondakin urak tratatzeko dauden sistemetako askok fase primario, sekundario eta tertziarioak barneratzen dituzte (7. irudia). Tratamendu primarioa zenbait prozesu fisikotan oinarritzen da, material solidoak eta ur gainean geratzen diren substantziak, oliaoak kasu, kentzeko. Behin solido arinenak eta astunenak bananduta daudenean kendu egiten dira, eta gainontzko likidoa tratamendu sekundarioa bideratzen da. Bigarren fase honetan, uretan disolbatutako edota suspentsioan gelditutako mantenugaiak eta konposatu organikoak oxidazio prozesuen bidez digeritzen dira, hondakin uraren oxigenoarekiko eskakizun biokimikoa eta toxikotasuna murritzuz. Fase honen ondoren ekoiztutako lokatza banandu egiten da, mikroorganismoak, materia organikoa eta toxikoak diren beste substantzia asko tratatutako uretak kentzeko. Azkenik, bi fase hauen produktua den ura tratamendu tertziarioa bideratzen da, hainbat pausu gehigarri dituena konposatu organiko errefraktarioen, mantenugaien, uhertasunaren, metalen eta patogenoen murrizketa emateko (Gerba eta Pepper, 2015). Tratamendu tertziarioak, orokorrean, mikro iragazkien edota mintz sintetikoen bidez aplikatzen dira, nahiz eta gaur egun beste tratamendu fisiko eta kimiko desberdin asko garatzen ari diren, hala nola, koagulazioa, filtrazioa, konposatu organikoen karbono aktibatuaren adsorbtzioa, alderantzizko osmosia, pikortatze aerobikoa, ozonizazioa edota degradazio fotokatalitikoa, beste hainbaten artean (Gerba eta Pepper, 2015; Ameta, 2018). Prozesuaren azken fase honi esker, araztegitik isuriko den uraren kalitatea nabarmenki hobetzen da ingurunera askatu baino lehen.

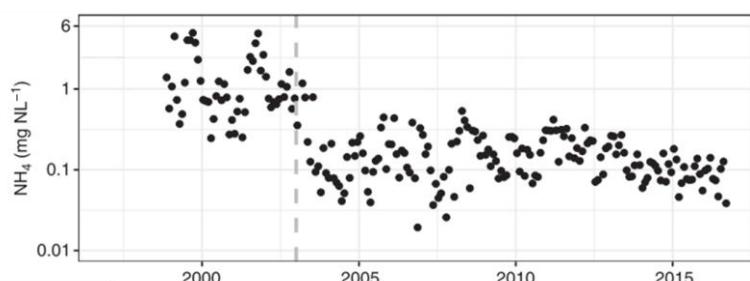


7. irudia: Hondakin Uren Araztegi (HUA) konplexu baten operazio sistemaren irudikapen eskematikoa, tratamendu primario, sekundario eta tertziarioak barneratzen dituena. Irudia domeinu publikoko da.

2. Kutsadura urbanoa eta ibai-ekosistemak

2.1. Urruneko eltzeak urrez, iritsi eta lurrez

Araztegiak beharrezkoak dira hondakin uren kalitatea hobetzeko isurketak azaleko edo lur azpiko uretara askatu eta uraren hornikuntza sistemetan berriro ere barneratu baino lehen (Carey eta Migliaccio, 2009). Gainera, kutsadura maila altuekin erlazionatutako sintomak edo zantzuak murrizten ere lagun ditzakete, anoxia edo eutrofizazioa kasu (Brack *et al.*, 2007). Ildo horretatik, Arroita eta lankideek (2018), adibidez, erakutsi zuten errekako uraren amonio kontzentrazioa esangarriki murriztu zela 1.02 ± 0.6 mg N L⁻¹tik 0.15 ± 0.1 mg N L⁻¹ra Oria Ibaian araztegi bat funtzionamenduan ipini eta gero (8. irudia).



8. irudia: Hilabeteko batez besteko amonio kontzentrazioaren (NH_4) murrizketa hondakin urak tratatzeko araztegi bat funtzionamenduan ipini eta gero (gris koloreko lerro etena) Oria Ibaian (Gipuzkoa, Spainia). Irudia Arroita *et al.* (2018) lanetik hartutako da.

Araztegiak, ordea, ez dira gai hondakin uretak kutsatzaile guztiak eraginkorki garbitzeko eta haien isurketek substantzia askoren nahasketa konplexuak suposatzen dituzte oraindik ere ur

gezetako ekosistemetan (Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2015). Hondakin uren tratamendu biologikoak igarotzen dituzten konposatuek era askotariko substantziak barneratzen dituzte, adibidez, mantenugaiak (Waiser *et al.*, 2011), materia organikoa (Spänhoff *et al.*, 2007) sedimentu finak (Wakelin *et al.*, 2008), patogenoak (Subirats *et al.*, 2017) eta beste hainbat emergentzia-kutsatzaile, metalak (Holeton *et al.*, 2011), pestizidak (Kuster *et al.*, 2008), produkto farmazeutikoak (Petrovic *et al.*, 2005), norberaren zainketa eta garbitasunerako produktuak (de Solla *et al.*, 2016) edota debekatutako drogak (Rosi-Marshall *et al.*, 2015), alegia. Carey eta Migliacciok (2009), esaterako, erakutsi zuten tratamendu sekundario osoa betetzen zuen araztegi baten isurketak oraindik ere nitrogeno eta fosforo kontzentrazio altuak erakuts zitzakeela, balioak, hurrenez hurren, $15\text{-}25 \text{ mg N L}^{-1}$ eta $4\text{-}10 \text{ mg P L}^{-1}$ artean zeudelarik. Ondorioz, araztegien isurketek ezin dute erreka edo ibai hartzaileen ezaugarriekin bat egin eta horregatik, ondorio kaltegarriak suposa ditzakete ekosistemaren osasunean (Hubbard *et al.*, 2016). Alde batetik, isurketek uraren ezaugarri kimikoak eralda ditzakete eta fisiko-kimika larriki kaltetu, oxigeno kontzentrazioa murriztuz (Walsh *et al.*, 2005) edota mantenugai kontzentrazioa emendatuz (Waiser *et al.*, 2011). Baino, beste aldetik, isurketek sistema hartzaileen hidrologia ere eralda dezakete, erreken edo ibaien berezko ziklo hidrologikoak asaldatuz (Merseburger *et al.*, 2011).

2.2. Zergatik arduratu beharko ginateke ekosistema-mailako erantzunez?

Azken hamarkadetan, HUAen isurketek ekosistema hartzaileetan eragin ditzaketen kalteen inguruko kezka izugarri emendatu da, eta horrekin bat nabarmen egin du gora gai horrekin lotutako ikerketak. *Science Direct* plataformaren bidez, azken hamarkadan zehar (2009-2019) argitaratu diren lanen bilaketa bat egin genuen, “*Hondakin Uren Araztegia (wastewater treatment plant)*” edo “*Hondakin Uren Araztegien Isurketa (wastewater treatment plant effluent)*” terminoak erabilita. Bilaketaren emaitzak guztira 67.200 artikulu kontutan hartzitzen zituen, zeintzuen artean 4.600 artikulu 2019. urteko lehenengo hilabeteetan argitaratu ziren. Bilaketa egiteko irizpideetan aurretiaz ezarritako terminoei “-aren efektuak (*effects of*)” gehitzean, ordea, hasierako zenbakia 14.600 argitaratutako artikulura murriztu zen. Hala ere, egindako azkeneko bilaketa hau sakon aztertzean, *Science Direct* plataformaren arabera sailkatutako lehenengo 100 artikulu garrantzitsuenen artean, 40 lan araztegien tratamendu prozesuak optimizatzeko aurrerapen teknologiko edo metodologikoetan oinarritzen ziren. Hurrengo artikulu ugarienek (35) araztegien isurketen efektuak aztertzen zituzten uraren kalitatean, bai azaleko baita edateko urak ere kontuan hartuz. Beste 10 artikulu errestaurazio metodo eta tresnetan oinarritzen ziren, isurketen berrerabilpena modu seguruan sustatzeko. Eta azkenik, sailkatutako 100 artikulu horietatik 15 lanek baino ez zituzten isurketa horien efektu ekologikoak edo ekosistema-mailako erantzunen inpaktuak aztertzen. Gainera, horietako gehienek isurketen efektuak ekosistemaren egituraren aztertzen zituzten bitartean (14), batek baino ez zituen inpaktuak ekosistemaren funtzionamenduan aztertzen (1). Hortaz, araztegien isurketen efektuen inguruko lanen bilaketa honek azpimarratzen du, jatorri urbanoa duten isurketa edo sarrera hauen inpaktuak murrizteko ekimen asko jorratu izan diren arren, ia ez dagoela hartutako neurrien arrakasta

ebaluatzen duen lanik. Nahiz eta errekek eta ibaiet oinarrizko zerbitzuak eskaintzen dizkien gizakiaren jarduerari, haien egituraren eta funtzionamenduaren araberakoak direnak, alegia (Perrings *et al.*, 2010).

3. Auziaren iltzea: inpaktuak ekosistemaren egitura eta funtzionamenduan

Kutsadura urbanoak ekosistemaren egiturari eta funtzionamenduari eragin diezaike. Ekosistemaren egiturak erreken eta ibaien ezaugarri fisiko-kimikoei egiten die erreferentzia, hala nola, ibilguaren morfologiari, uraren kalitateari edota komunitate biologikoen konposizioari (mikroorganismoetatik animalietaraino). Bestalde, ekosistemaren funtzionamenduak ezaugarri fisikoetan eta komunitate biologiko horien jarduera bateratuaren ondorioz, erreka eta ibaiet ematen diren energia eta materiaren fluxuak erregulatzen dituzten prozesuei egiten die erreferentzia (von Schiller *et al.*, 2017). Ekosistemaren funtzionamenduak askotariko prozesuak barneratzen ditu, materia organikoaren deskomposizioa eta atxikimendua, biofilmaren jarduera entzimatikoak, mantenugaien atxikimendua edota metabolismoa, alegia (Sandin eta Solimini, 2009). Ondorioz, bi hurbilketa hauek erabat fisikoak diren prozesuetatik komunitate biologikoek erregulatzen dituztenetara hartzen dituzte kontutan (Palmer eta Febria, 2012) eta gainera, eskala espazial eta temporal desberdinak bereganat ditzakete, adabaki edo habitat eskalatik errekkaren tramuetara (Frissell *et al.*, 1986) eta ordu gutxi batzuetatik zenbait urterat.

Prozesu hauek, orokorrean, ingurumen-estresore desberdin askori erantzuteko gaitasuna dute, esaterako, kutsadura kimikoari (Aristi *et al.*, 2015; Ferreira *et al.*, 2015), emariaren erregulazio edo ur-abstrakzioari (Arroita *et al.*, 2016; von Schiller *et al.*, 2015) eta emarian eman daitezkeen etenaldiei (Acuña *et al.*, 2005; Zoppini *et al.*, 2016), beste hainbat artean. Ekosistemaren egiturak eta funtzionamenduak elkarri eragiten diote eta horregatik, txanpon berdinaren bi aldeak bailiran har genitzake (von Schiller *et al.*, 2017). Haien arteko erlazioak, aitzitik, ez dira zertan zuzenak izan behar beti, eta askotan ezin izaten da batetik bestea zuzenean ondorioztatu (Cardinale *et al.*, 2012). Historian zehar egindako esfortzu gehienak ekosistemaren egitura deskribatzeko metodoak garatzeko izan dira, orokorrean ekosistemaren funtzionamendua alde batera utzi delarik (Palmer eta Febria, 2012). Hortaz, ez da azken hamarkadetara arte izan ekosistemaren funtzionamenduak zientzialarien eta kudeatzaileen arreta piztu duen momentua (Jax, 2010), orduan jabetu izan baikara errekkak eta ibaiet zerbitzu ekosistemiko askoren oinarria direla (MEA, 2005) eta ondorioz, egoera ekologikoa aztertzeko funtsezko osagaia (EC, 2000).

3.1. Inpaktuak ekosistemaren egituraren

Aurretiaz aipatu bezala, HUAen isurketek erreka eta ibai hartzaleen ezaugarri hidrologiko eta kimikoak eralda ditzakete. Aldaketa hidrologikoei dagokiela, isurketek erreken ur-emariaren berezko erregimena asalda dezakete, emaria, uraren abiadura eta batez besteko ibilguaren sakonera eta zabalera handituz, hain zuen (Merseburger *et al.*, 2011). Isurketen sarrera hauek, gainera, bereziki garrantzitsuak dira errekkaren emaria baxuagoa denean (Wakelin *et al.*, 2008) edota eskualde

lehorretan (Brooks *et al.*, 2006), erreka eta ibai hartzaleek daramaten emariaren parte handiena osa baitezakete (Rice eta Westerhoff, 2017) eta aldizkako emaria duten errekkak iraunkor bihurtu. Egoera honek paradoxa bitxi bat islatzen du, non komunitate biologikoen garapen egokia bermatzeko beharrezkoa den emaria araztegiengi isurketek eskaintzen baitutenean (Boyle eta Fraleigh, 2003), zeinak aldi berean uraren kalitatea eta komunitate biologikoen garapen kaltetzen baitituen (Canobbio *et al.*, 2009). Hortaz, araztegiengi isurketek uraren kalitatea larriki kalte dezakete, tenperatura eta konduktibitate elektrikoa (Merbt *et al.*, 2015) eta mantenugaien (Carey eta Migliaccio, 2009) eta kutsatzaileen (Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2015) kontzentrazioa handituz, baina uraren pH-a (Englert *et al.*, 2013) eta oxigeno kontzentrazioa (Walsh *et al.*, 2005) murriztuz. Baldintza eta ezaugarri hauetan emandako aldaketek komunitate biologikoen egitura larriki kaltetuko dute, haien hazkuntza, biziraupena, dispertsioa eta ugalketa andeatuz, mikroorganismo (Drury *et al.*, 2013) eta algetatik (Corcoll *et al.*, 2015), makrofito (Gücker *et al.*, 2006), bentoseko ornogabe (Ortiz eta Puig, 2007) eta arrainetaraino (Northington eta Hershey, 2006). Hori dela eta, HUAen isurketek eragindako aldaketa hidrologiko eta kimiko hauek erreka eta ibai hartzaleetako komunitate biologikoen konposizio eta ugaritasuna baldintzatuko dituzte, ingurumen-iragazkiak ez ezik presio selektibo osagarriak ere ezarriko baitizkietelako. Ondorioz, espezie batzuek kutsatutako errekkaren tramuetatik ihes egingo dute eta babesa bilatu beste tramu batzuetan (James *et al.*, 2008), edota beste batzuek espezie oportunista eta erresistenteagoengatik ordezkatuak izango dira (Miserendino *et al.*, 2008).

3.2. *Inpaktuak ekosistemaren funtzionamenduan*

Nahiz eta ekosistemaren egituraren ematen diren aldaketa hauek seguruenik ekosistemaren prozesuak ere kaltetuko dituzten (Elosegi eta Sabater, 2013), oraindik ez dago argi zeintzuk izan daitezkeen kutsadura urbanoaren efektuak ekosistemaren funtzionamenduan. Erreka eta ibaien prozesuek energiarekin transferentziarako eta mantenugaien birziklapenerako bide nagusiak adierazten dituzte (Tank *et al.*, 2010), komunitate biologikoen jarduera bateratuaren menpe daudenak, mikroorganismoetatik arrainetaraino (Tilman *et al.*, 2014). Hortaz, ekosistemaren prozesuak ezaugarri fisiko eta komunitate biologikoen jardueraren araberakoak direnez, araztegiengi isurketek seguruenik ekosistemaren funtzionamendua ere kaltetuko dute.

Biofilmaren jarduera eta mantenugaien atxikimendua kutsadura urbanoarekiko prozesu sentikorrenetarikoak dira; batez ere, araztegiengi isurketekiko (Martí *et al.*, 2009). Ibai-oheetan hazten biren biofilmak komunitate biologiko konplexuak dira, organismo autotrofoz eta heterotrofoz osatuta daudenak, algez, zianobakterioz, onddoz eta mikrofaunaz alegia, eta azalera solidotan hazten direnak, polisakarido eta beste polimero batzuek osatzen dituzten matrizeen barnean (Lock, 1993; Romaní, 2010). Organismo hauek zelulaz kanpoko entzimak garatzen dituzte materia organikoa molekula txikiagoetan eraldatzeko eta hortaz, bakterioen hazkuntza eta mikrobioek erregulatutako mantenugai atxikimendurako eskuragarri bihurtzeko (Romaní *et al.*, 2012). Biofilmak ezinbestekoak dira disolbatutako materia organikoaren eta mantenugaien atxikipenean, metaketan eta transformazioan. Hori dela eta, atal gakoak izan daitezke ekosistemaren prozesu biogeokimikoetan

eta mantenugaien dinamika, ekoizpen gordina, CO₂ emisio edota materia organikoaren deskonposaketaren moduko prozesu gakoak erregulatu (Battin *et al.*, 2016). Esaterako, biofilm komunitateak erreka eta ibaietara heltzen den nitrogenoaren %50-75aren eta fosforoaren %30aren atxikipena eta transformazioa erregula dezake (Mulholland, 2004), zeinak jatorri urbanoa duten mantenugai-sarreren kalteak arintzen lagundu ditzakeen (Ribot *et al.*, 2013). Ondorioz, biofilm komunitateak ingurumen-estresoreekiko oso sentikorrik izan daitezke (Sabater *et al.*, 2007) eta hortaz, araztegiengoko isurketen ondoriozko kutsadurarekiko erantzun (Proia *et al.*, 2013).

Biofilm komunitateak oinarrizko kokapena du erreken eta ibaien bazka-sarean. Baino haren baliabideen eskuragarritasuna ekosistema-mailako beste zenbait prozesuk baldintzatu ohi dute, karbonoaren edo mantenugaien atxikimenduak, besteak beste (Rowe eta Richardson, 2001). Mantenugaien atxikimenduak, zehazki, uretan disolbatutako mantenugaiak ur-zutabetik atera eta partikula-forman immobilizatu edo forma-gaseoso bihurtzen dituen prozesu multzoari egiten dio erreferentzia, zeinak molekulek sistema iraunkorki uztea eragingo duen (Newbold, 1996). Atxikimendu gaitasunak ibaian behera garraiatzen diren mantenugaien kontzentrazioa murriztu dezake, eta horregatik, errekek eta ibaiek berez duten aratzketa gaitasunarekin estuki erlazionatutako prozesua da, sistema hauek eskain dezaketen zerbitzu ekosistemiko garrantzitsuenetariko bat, hain zuzen (Schlesinger eta Bernhardt, 2013). Ekosistema-mailako mantenugaien atxikimendua prozesu fisikoek, (uhertasunak edo hiporreoseko ur-emariak, adibidez), kimikoek (xurgapen edo desortzio prozesuak esaterako) edota biologikoek baldintza dezakete (Mulholland eta Webster, 2010). Gainera, ekosistemaren konpartimentu desberdinatan ere neur daiteke, hala nola, arroken gainean hazten den biofilm komunitatean, erreketan metatzen den orbelean, makrofito komunitateetan edota sedimentu finetan (Mulholland eta Webster, 2010). Horrela, konpartimentu hauetako bakoitzak ekosistema-mailako prozesuan duen eragina aztertzea baimentzen du (Hoellein *et al.*, 2009). Edonola, mantenugaien atxikimendua neuritzeko erabil daitezkeen bi hurbilketa horiek (ekosistema-mailan edo konpartimentu desberdinatan egin daitezkeenak, alegia) komunitate autotrofo eta heterotrofoen biomasa eta jardueraren araberakoak izango dira, baita uraren ezaugarri fisiko-kimikoen araberakoak ere, errekan emariaren edota mantenugaien kontzentrazioaren araberakoak, adibidez. Hortaz, mantenugaien atxikimendua oso sentikorra izan daiteke ingurumen-estresore desberdinekiko, hala nola, emariaren erregulazio eta uraren abstrakzioarekiko (Arroita *et al.*, 2016; von Schiller *et al.*, 2016), eraldatutako sedimentuen dinamika eta kolmatazioarekiko (Ryan *et al.*, 2007), uraren gazitzearekiko (Arce *et al.*, 2014) edota HUAetatiik eratortzen diren isurketekiko (Gücker *et al.*, 2006; Proia *et al.*, 2017). Orokorean, erreka eta ibaien mantenugaiak atxikitzezko gaitasuna altuagoa izan ohi da egoera ekologiko onaren adierazle diren baldintzen pean, baina gaitasun hori aise murriz daiteke uraren mantenugai-kontzentrazioa emendatuz doan heinean (Ensign eta Doyle, 2006).

Ekosistemaren metabolismoa ere jatorri urbanoa duten isurketekiko sentikorra izan daiteke. Ekosistema-mailako prozesu honek erreketan eta ibaietan ematen diren bizidunen jarduera metaboliko bateratua, energiaren transferentzia eta karbono organikoaren fluxuak islatzen ditu

(Battin *et al.*, 2008). Metabolismoak, orokorrean, barneratzen ditu ekoizpen primario gordina (*gross primary production*, GPP), eguzkitik eratorritako energiaz edota karbono iturri ez-organikoez baliatuz materia organiko berriaren sormenean oinarritzen dena, eta ekosistemaren arnasketa (*ecosystem respiration*, ER), energia eskuratzeko materia organikoaren oxidazioan oinarritzen dena (Odum, 1956). Ekoizpen primario gordina argiaren eskuragarritasunak (Hill *et al.*, 2001), tenperaturak (Gillooly *et al.*, 2001) edota mantenugaien kontzentrazioak (Mulholland *et al.*, 2001; Roberts *et al.*, 2007) baldintza dezakete; ekosistemaren arnasketa, aldiz, tenperaturak (Yvon-Durocher *et al.*, 2012) eta materia organikoaren eskuragarritasunak (Acuña *et al.*, 2004), gehienbat. Mantenugaien atxikimendua ahalbidetzen duen modu berean, metabolismoa ere ekosistemaren konpartimentu desberdinatan neur daiteke, arroken gainean hazten diren biofilm komunitateetan edota makrofito komunitateetan, kasu. Era berean, honek konpartimentu bakoitzak ekosistema-mailako prozesuan duen eragina aztertza ahalbidetzen du (Acuña *et al.*, 2011). Bi hurbilketek, bai ekosistema-mailakoak baita konpartimentu zehatzenak ere, funtsezko implikazioak dituztenez ekosistemen energia-fluxuan eta materialen birziklapenean, eta gainera erreka eta ibaietako komunitate biologikoen bizi-euskarria deskribatzen dutenez, egoera ekologikoaren adierazle onenetarikoak dira (Young *et al.*, 2008; Bunn *et al.*, 2010). Ur gezetako sistema gehienetan, fotosintesia eta arnasketa aerobikoa dira materia organikoa sintetizatzeko eta oxidatzeko dauden bide garrantzitsuenak. Bi prozesuek uraren oxigeno kontzentrazioan eragiten dute eta horregatik, erreka eta ibaien metabolismoa neurtzeko teknika eta metodo gehienak uretan ematen diren oxigeno-aldaketetan oinarritzen dira (Izagirre *et al.*, 2008; Demars *et al.*, 2015). Berezko ezaugarri guzti hauek metabolismoa hainbat ingurumen-estresorerekiko sentikorbihurtzen dute, emariaren erregulazioarekiko (Uehlinger, 2000; Hall *et al.*, 2015), lehortearrekiko (Timoner *et al.*, 2012), kanalizazio edota ibilguaren sinplifikazioarekiko (Hope *et al.*, 2014), eraldatutako sedimentuen dinamikarekiko (Young *et al.*, 2008) edota HUAetatik eratorritako isurketarekiko (Aristi *et al.*, 2015; Corcoll *et al.*, 2015). Horrez gain, ekosistemaren metabolismoa urtaroen, urteen edota erreken artean alda daiteke, ingurumen faktoreen berezko aldaketa naturalen ondorioz (Tank *et al.*, 2010; Bernhardt *et al.*, 2018). Aitzitik, gizakiaren jardueren efektu zuzen eta ez-zuzenek errekek eta ibaietako ekosistema-mailako zerbitzuak, mantenugaien asimilazio eta atxikimendua alegia, gauzatzeko duten gaitasuna eralda dezakete (Fellows *et al.*, 2006; Mulholland *et al.*, 2008), zeinak metabolismoak giza jarduerekiko duen sentikortasuna areagotu baitezakeen, GPP eta ERren magnitudea eta denborapatroiak eraldatuz (Arroita *et al.*, 2018; Bernhardt *et al.*, 2018). Hortaz, mantenugaien, materia organikoaren edota kutsatzaileen gehiegizko sarrerak ekosistemaren metabolismoan eragin gehien izan dezaketen faktore garrantzisuenetarikoak dira (Arroita *et al.*, 2018).

Azkenik, materia organikoaren deskonposizioa ere jatorri urbanoa duten sarrerekiko sentikorrenak diren prozesuen artean dago. Materia organiko larriaren deskonposaketa erreketan eta ibaietan energiarekin transferentzia eta mantenugaien birziklapenerako dagoen bide nagusienetariko bat da (Tank *et al.*, 2010). Erreketara heltzen den materia organikoak aldaketa konplexuen segida luze bat jasaten du azkenik materia ez-organikora deskonposatzen den arte eta hortaz, bide detritiko

hau ezinbestekoa da mantenugaien eta beste material askoren birziklapenerako (Gessner *et al.*, 2010). Materia organikoaren deskonposaketak prozesu biotiko eta abiotiko desberdinak barneratzen ditu, hala hola, disolbatutako konposatuuen lixibiazioa, onddoen eta bakterioen bidezko egokitzapena, eta ornogabeen edota abrasio fisikoaren bidezko zatiketa (Hieber eta Gessner, 2002), guztiak denboran zehar gainezar daitezkeelarik (Wantzen *et al.*, 2008). Orokorrean, materia organikoaren deskonposaketa neurteko aurretiaz pisatutako substratuak errekan inkubatu behar dira, denboran zehar jasaten duten masa-galdera estimatu ahal izateko (Benfield, 2006). Tradizionalki, “orbel poltsen metodoa” da gehien erabili izan den hurbilketa, baina azken urteotan bestelako substratu artifizialen erabilera arrakastatsua bihurtu da zientzialarien artean, egurrezko mihi-depresoreen edo kotoizko xingolen erabilpena adibidez, hurbilketa simpleagoak eta estandarragoak izateaz gain, orbelaren modu berdinean erantzuten baitute (Arroita *et al.*, 2012; Tiegs *et al.*, 2013). Esan bezala, materia organikoaren deskonposaketa prozesu erabat integratzailea da eta horregatik, ekosistemen egoera ekologikoaren adierazle onenetarikoa da (Young *et al.*, 2008). Ingurumen-estresore askorekiko sentikorra izan daiteke (Chauvet *et al.*, 2016), besteak beste, emariaren erregulazioarekiko (Arroita *et al.*, 2015), kanalizazio edota ibilguaren simplifikazioarekiko (Elosegi eta Sabater, 2013), lehortearrekiko (Datry *et al.*, 2011), uraren gazitzearekiko (Gómez *et al.*, 2016) edota HUAetatik eratorritako isurketekiko (Peters *et al.*, 2013; Ferreira *et al.*, 2015). Zenbait ikerlarik erakutsi izan dute mantenugai kontzentrazio altuek materia organikoaren deskonposaketa emenda dezaketela, hostoen palatabilitatea emendatzearren ondorioz (Ferreira *et al.*, 2015) edo ornogabeen dentsitatea handitzearen ondorioz (Pascoal *et al.*, 2003). Beste ikerlari batzuek, aitzitik, erakutsi dute beste kutsatzaile batzuek, metal astunak kasu, materia organikoaren deskonposaketa tasak murriztu ditzaketela (Niyogi *et al.*, 2001), errekursoak edota kontsumizaileen komunitateak txirotzearren ondorioz.

4. “*Hipotesi ederrak, gertaera itsusiak*”

1996. urtean Dennis Chitty nazioarteko ospea zuen biologoak, bere ibilbide profesionala laburbiltzeko “*Benetan lemingek beren buruaz beste egiten dute? Hipotesi ederrak, gertaera itsusiak*” izenburuko liburua argitaratu zuen (Chitty, 1996). Liburu horretan, Chitty irakasleak bere ibilbide profesionalean zehar karraskari txikien populazioetan, leming edo lursaguen populazioetan hain zuen, ematen ziren gorabeherak azaltzeko proposatu zituen hipotesiak testatzeko gauzatu zituen experimentu zenbatezinak deskribatzen zituen. Aldiro, proposatzen zuen “*hipotesi eder*” batek logikoa zirudien baina ez zen egi bihurtzen, eta esperimentuaren ebidentziek proposatutako hipotesiaren aurka egiten zuten. Suposatzen dut ekologian dihardutén ikerlari gehienek antzeko sentsazioak jasango zituztela haien ibilbideen momenturen batean. Nik jakina jasan izan ditudana! Baina sentsazio horiek izan dira, hain zuen ere, itxuraz akatsik gabeko hipotesien aurka doazen ebidentzien arrazoiei buruz pentsatzen bultzatu nautenak, zeintzuek antzeko baldintza esperimentalen behatutako kontrako emaitzak azaltzen lagun baitezaketen.

4.1. Kontrako emaitzen benetako arrazoiak

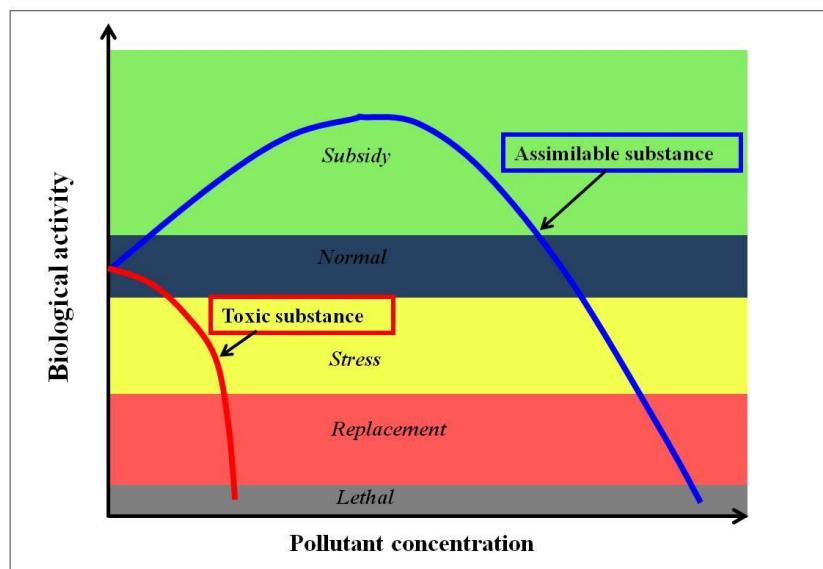
Nahiz eta azken urteotan esfortzu handiak egin kutsadura urbanoak ibai-ekosistemen funtzionamenduan eduki ditzakeen efektuak aztartzeko, oraindik ere ez daukagu efektuen inguruko irudi argi edo koherente bat (Peters *et al.*, 2013; Kaushal *et al.*, 2014, 2018; Ferreira *et al.*, 2018). Ikerketa asko egin dira jatorri urbanoa duten isurketak jasotzen dituzten ibai edo erreketan ekosistema-mailako prozesu desberdinak neurtuz, mantenugaien atxikimendu-gaitasuna, metabolismoa edota materia organikoaren deskonposaketa, alegia. Ikerketa hauetako askok, ordea, kontrako emaitzak erakutsi edo deskribatu ohi dituzte. Esate baterako, lan gehienek atxikimendu gaitasun murritzak deskribatzen dituzten bitartean bai fosforo eta bai nitrogenoarentzat (Martí *et al.*, 2004, 2009; Merseburger *et al.*, 2005, 2011; Kunz *et al.*, 2017), beste lan batzuek emendatutako atxikimendu tasak deskribatzen dituzte, batez ere amonioarentzat, jatorri urbanoa duten araztegiengi isurketak jasotzen dituzten erreketan (Ruggiero *et al.*, 2006; Stutter *et al.*, 2010). Eta beste lan batzuek, ordea, ez dute efektu esangarririk aurkitzen (Haggard *et al.*, 2001, 2005; Sánchez-Perez *et al.*, 2009). Era berean, lan gehienek emendatutako metabolismo tasak, bai ekoizpen primario gordina (GPP) baita arnasketa (ER) ere, deskribatzen dituzte isurketen sarreretatik behera (Izagirre *et al.*, 2008; Aristi *et al.*, 2015; Arroita *et al.*, 2018), baina lan batzuk erantzun metabolikoen murrizketak deskribatzen dituzte (Rodríguez-Castillo *et al.*, 2017) edota efektu ez-esangarriak (Sánchez-Perez *et al.*, 2009). Azkenik, kontrako emaitzak ere deskribatu izan dira materia organikoaren deskonposaketaren kasuan, zeina emendatu (Pascoal *et al.*, 2003; Ferreira *et al.*, 2015; Solagaistua *et al.*, 2018), murriztu (Lecerf *et al.*, 2006; Piscart *et al.*, 2009, 2011; Englert *et al.*, 2013) edota eragin esangarririk jasan gabe manten (Chadwick eta Huryn, 2003; Abelho eta Graça, 2006; Baldy *et al.*, 2007) daitekeen kutsadura urbanoaren eraginaren aurrean.

Kontrako emaitza hauek iradokitzen dute ekosistemaren funtzionamenduak kutsadura urbanoarekiko duen erantzuna beste faktore batzuen araberakoa ere izan daitekeela. Alde batetik, erreka eta ibai gehienak aldi berean eragiten duten estresore anitzen menpe daude (Sabater *et al.*, 2018), aldakortasun hidrologikoaren menpe (Ponsatí *et al.*, 2016), temperatura altuagoen menpe (Acuña *et al.*, 2008) edota kutsadura-iturri lausoaren menpe (Brett *et al.*, 2005) alegia, zeintzuek kutsadura kimikoaren efektuak estali baititzaketen (Stevenson eta Sabater 2010). Beste aldetik, araztegietatik erorritako isurketen efektuak ekosistema hartzalean duten kontzentrazioaren araberakoak izan daitezke, araztegiaren tamainak, hau da araztegiak zerbitzatzen duen populazio kopurua, eta erreka edo ibai hartzaleak duen diluzio-gaitasunak definituko dutena (Rice eta Westerhoff, 2017). Ekosistema hartzaleen diluzio-gaitasuna denboran zehar aldatzen da erreka edo ibai bakoitzaren erregimen hidrologikoarekiko, zeina eskualde klimatikoen (Martí *et al.*, 2009) eta urte-sasoien (Petrovic *et al.*, 2011) araberakoa den. Hortaz, araztegietatik erorritako isurketek ekosistema hartzalean duten amaierako kontzentrazioak tarte oso zabala barne hartu dezake. Adibidez, Gipuzkoan (Espainiako iparraldean) isurketek sistema hartzalean duten batez besteko kontzentrazioa %35 ingurukoa izan daiteke (Gipuzkoako Foru Aldundia, 2015). Eskualde mediterraneoetan, aitzitik, balio hauek %100era heldu ahal dira errekkak modu naturalean agortzen diren urte-sasoieta (Merseburger *et al.*, 2011), efektu ekologiko erabat desberdinei leku emanez.

Bestalde, efektuak ekosistema hartzailaren komunitate biologikoen konposizioaren araberakoak ere izan daitezke (Segner *et al.*, 2014). Hala ere, kutsadura kimikoaren efektuak ez dira bakarrik estres-ituriaren intentsitatearen arabera aldatuko; estresarekiko esposizio denboraren (Camargo eta Alonso, 2006) edota iraganeko isurketen legatu efektuen (Jarvie *et al.*, 2013) arabera ere aldatuko dira. Ildo horretatik, Arroitak eta lankideek (2018) erakutsi zuten HUA baten tratamendu egokiak erabat hobetu zituela erreko uraren kalitatea eta egoera ekologikoa, baina sistemaren erreperazioak denbora luzea har zezakeela. Azkenik, kutsadura urbanoaren efektuak ekosistemaren funtzionamenduan aztertzen dituzten lan gehienak araztegietatik erorritako isurketetik gora eta behera dauden tramuen arteko konparaketara mugatzen dira (Drury *et al.*, 2013), kontuan hartu gabe erreka urbanoetan dauden nahasketa-faktore desberdinek erantzunean izan dezaketen eragina.

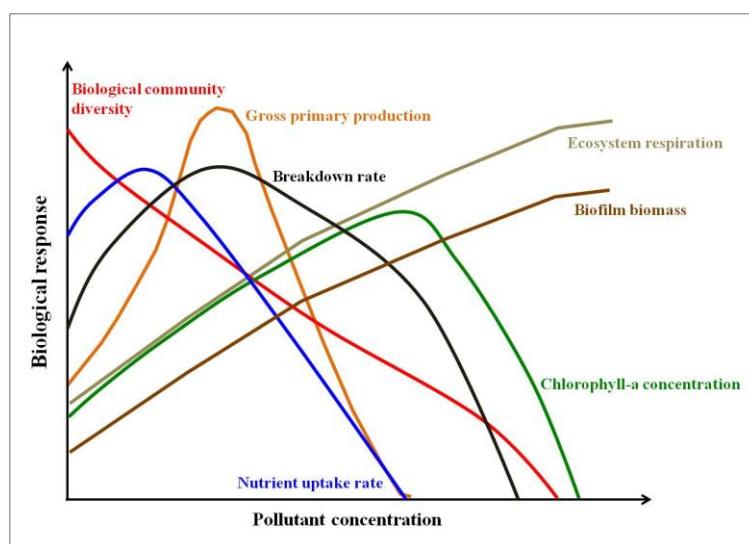
4.2. Subsidio-Estresaren Hipotesia

Aurretiaz aipatutako arrazoi guztien artean, ziur asko ekosistemaren funtzionamenduan behatutako kontrako emaitzak arrazoitzeko faktore garrantzitsuenetariko bat araztegietatik erorritako isurketek ekosistema hartzailean duten amaierako kontzentrazioa izango da. “Subsidio-Estresaren Hipotesi” klasikoaren arabera (Odum *et al.*, 1979), kutsatzaileak bi talde handitan bana daitezke komunitate biologikoetan dituzten eraginen arabera (9. irudia). Substantzia batzuek, mantenugaietako edo materia organikoak kasu, jarduera biologikoak bultzakete maximo edo atalase batera heldu arte, non ez baitiren gehiago asimilagarriak izango errekan komunitate biologikoentzako eta hortaz, toxiko bihurtu eta jarduera biologikoak murriztuko dituzte maila “normalaren” azpitik (Estresa). Beste substantzia batzuk, metal astunak edo pestizidak kasu, beti dira komunitate biologikoentzat kaltegarriak eta hortaz, jarduera biologikoak murriztu ohi dituzte kontzentrazioa baxuetan bada ere.



9. irudia: “Subsidio-Estresaren Hipotesia”. Irudia Odum *et al.* (1979) lanetik moldatutakoa da.

Edozein kasutan, konposatu asimilagarriek zein toxikoek ibai-ekosistemen funtzionamenduan eragina izan dezakete (Aristi *et al.*, 2015, 2016). Hala ere, haien proportzioen arabera eta ekosistema hartzalean duten kontzentrazioaren arabera, zailak dira aurresaten araztegietatik eratortzen diren isurketek ekosisteman eragingo dituzten efektuak, subsidioa edo estresa izan baitaitezke jarduera biologikoarentzat. Gainera, ziur asko kutsadurak efektu desberdinak izango ditu neurtutako jarduera biologikoaren arabera eta hortaz, jarduera biologiko desberdinek erantzun-patroi desberdinak erakuts ditzakete (10. irudia). Jarduera biologiko batzuentzat, komunitate biologikoen dibertsitatearentzat adibidez, kutsadura estres-iturria izango da eta ondorioz, prozesu hauen tasak kontzentrazio baxuenetatik murriztuko dira. Beste jarduera biologiko batzuentzat, ordea, kutsadura subsidio-iturria izango da eta prozesu hauen tasak emendatuko ditu, jarduera biologikoek erantzun-patroi desberdinak ere erakuts ditzaketen arren. Esate baterako, jarduera biologiko batzuek (mantenugaien atxikimenduak, deskonposaketa tasak, ekoizpen primario gordinak edota klorofila kontzentrazioak, esaterako) Subsidio-Estres moduko erantzun patroiak erakutsiko dituzte, hots, maximo batera arte emendatuko dira eta atalase horretatik aurrera, murriztu egingo dira maila “normalen” azpitik. Hala ere, jarduera biologiko horiek kontzentrazio desberdinetan ere bereganatzen dituzte haien jarduera maximoak eta ondorioz, jarduera batzuek kutsadura kontzentrazio baxuetan bereganatuko dituzte haien maximoak (mantenugaien atxikimendu-gaitasuna, esaterako) baina beste batzuek kontzentrazio altuagoetan bereganatuko dituzte maximo horiek (klorofila kontzentrazioa). Azkenik, beste aldagai biologiko batzuek, ekosistemaren arnasketak edo biofilmaren biomasak adibidez, ez dute Subsidio-Estres moduko erantzun-patrorik jarraituko eta aitzitik, etengabeko hazkuntza edo emendioa erakutsiko dute kutsadura kontzentrazioarekiko. Ondorioz, tesi honetan zehar ekosistema-mailako prozesu desberdinen erantzuna aztertu dut, prozesu bakar baten erantzuna deskribatu beharrean, kutsadura urbanoak ekosistema-mailako funtziotan eragin ditzakeen efektuen erantzunik ahalik eta argiena lortzeko.



10. irudia: HUAetatik eratorritako isurketek ekosistema hartzalean duten amaierako kontzentrazioaren arabera, ekosistema-mailako prozesuek erakuts ditzaketen erantzun-patroi desberdinen irudikapen eskematikoa. Hortaz, esperoko nuke isurketa urbanoek neurtutako erantzun biologikoetako batzuk murriztea (adibidez, komunitate

biologikoen dibertsitatea), beste batzuk emendatzea (esaterako, ekosistemaren arnasketa edota biofilmaren biomasa) eta beste batuetan, ordea, subsidio-estres moduko erantzun-patroiak eragitea (mantenugaien atxikimenduan, ekoizpen primario gordinean edota materia organikoaren deskonposizioan, alegia).

5. Helburuak

Tesi honek kutsadura urbanoak erreken eta ibaien funtzionamenduan sortzen dituen efektuak aztertzen ditu, bai behaketa eta bai manipulazio bidezko esperimentuak konbinatuz, landa zein laborategikoak, eta erantzun ekologikoak maila desberdinan neuritz, biofilm mailatik ekosistema osora. Zehazki, gure helburua ondorengo galdera zehatzei erantzutea izan da:

1. Zeintzuk dira kutsadura urbanoaren eta ur-eskasiaren arteko elkarrekintzen efektuak ibai-ekosistemen funtzionamenduan?
2. Zeintzuk dira modu egokian tratatutako eta oso diluitutako araztegi baten isurketaren efektuak ekosistemaren egitura eta funtzionamenduan?
3. Zelan erantzuten dute ekosistema-mailako prozesu desberdinek araztegien isurketaren kutsadura-kontzentrazio gradiente baten aurrean? Zeintzuk dira kutsadurak eduki ditzakeen legatu efektuak eta zelan eragin diezaiokete sistemaren errekuperazio gaitasunari?

Erreferentziak

- Abelho M. eta Graça M.A.S. (2006). Effects of nutrient enrichment on decomposition and fungal colonization of sweet chestnut leaves in an Iberian stream (Central Portugal). *Hydrobiologia*, 560 (1): 239–247. doi: 10.1007/s10750-005-9414-2
- Acuña V., Giorgi A., Muñoz I., Uehlinger U. eta Sabater S. (2004). Flow extremes and benthic organic matter shape the metabolism of a headwater Mediterranean stream. *Freshwater Biology*, 49: 960-971. doi: 10.1111/j.1365-2427.2004.01239.x
- Acuña, V., Muñoz, I., Giorgi, A., Omella, M., Sabater, F. eta Sabater, S. (2005). Drought and postdrought recovery cycles in an intermittent Mediterranean stream: structural and functional aspects. *Journal of the North American Benthological Society*, 24 (4): 919–933. doi: 10.1899/04-078.1
- Acuña V., Wolf A., Uehlinger U. eta Tockner K. (2008). Temperature dependence of stream benthic respiration in an Alpine river network under global warming. *Freshwater Biology*, 53 (10): 2076-2088. doi: 10.1111/j.1365-2427.2008.02028.x
- Acuña V., Vilches C. eta Giorgi A. (2011). As productive and slow as a stream can be - the metabolism of a Pampean stream. *Journal of the North American Benthological Society*, 30 (1): 71-83. doi: 10.1899/09-082.1
- Altenburger R., Ait-Aissa S., Antczak P., Backhaus T., Barceló D., Seiler T.B., Brion F., Busch W., Chipman K., López de Alda M., de Aragão Umbuzeiro G., Escher B.I., Falciani F., Faust M., Focks A., Hilscherova K., Hollender J., Hollert H., Jäger F., Jahnke A., Kortenkamp A., Krauss M., Lemkine G.F., Munthe J., Neumann S., Schymanski E.L., Scrimshaw M., Segner H., Slobodnik J., Smedes F., Kughathas S., Teodorovic I., Tindall A.J., Tollesen K.E., Walz K.H., Williams T.D., Van den Brink P.J., van Gils J., Vrana B., Zhang X. eta Brack W. (2015). Future water quality monitoring - adapting tools to deal with mixtures of pollutants in water resource management. *Science of the Total Environment*, 512-513: 540-551. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.12.057
- Ameta S.C. (2018). Introduction. In: *Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment. Emerging Green Chemical Technology*. (Eds. Ameta S.C. eta Ameta R.), Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 1-12 (Chapter 1). ISBN: 978-0-12-810499-6. doi: 10.1016/C2016-0-00384-4
- Arce M.I., von Schiller D. eta Gómez R. (2014). Variation in nitrate uptake and denitrification rates across a salinity gradient in Mediterranean semiarid streams. *Aquatic Sciences*, 76 (2): 295–311. doi: 10.1007/s00027-014-0336-9
- Aristi I., von Schiller D., Arroita M., Barceló D., Ponsatí L., Carcía-Galán M.J., Sabater S., Elosegi A. eta Acuña V. (2015). Mixed effects of effluents from a wastewater treatment plant on river ecosystem metabolism: subsidy or stress? *Freshwater Biology*, 60: 1398-1410. doi:10.1111/fwb.12576

- Aristi I., Casellas M., Elosegi A., Insa S., Petrovic M., Sabater S. eta Acuña V. (2016). Nutrients versus emerging contaminants – Or a dynamic match between subsidy and stress effects on stream biofilms? *Environmental Pollution*, 212: 208-215. doi: 10.1016/j.envpol.2016.01.067
- Arroita M., Aristi I., Flores L., Larrañaga A., Díez J., Mora J., Romaní A.M. eta Elosegi A. (2012). The use of wooden sticks to assess strea ecosystem functioning: Comparison with leaf breakdown rates. *Science of the Total Environment*, 440: 115-122. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.07.090
- Arroita M., Aristi I., Díez J., Martinez M., Oyarzun G. eta Elosegi A. (2015). Impact of water abstraction on storage and breakdown of coarse organic matter in mountain streams. *Science of the Total Environment*, 503: 233–240. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.06.124
- Arroita M., Flores L., Larrañaga A., Martínez A., Martínez-Santos M., Pereda O., Ruiz-Somera E., Solagaistua L. eta Elosegi A. (2016). Water abstraction impacts stream ecosystem functioning via wetted-channel contraction. *Freshwater Biology*, 62(2): 243-257. doi: 10.1111/fwb.12864
- Arroita M., Elosegi A. eta Hall R.O. (2018). Twenty years of daily metabolism show riverine recovery following sewage abatement. *Limnology eta Oceanography*, 64: S77-S92. doi: 10.1002/lno.11053
- Aymerich I., Acuña V., Ort C., Rodríguez-Roda I. eta Corominas Ll. (2017). Fate or organic microcontaminants in wastewater treatment and river systems: An uncertainty assessment in view of sampling strategy, and compound consumption rate and degradability. *Water Research*, 125: 152-161. doi: 10.1016/j.watres.2017.08.011
- Baldy V., Gobert V., Guerold F., Chauvet E., Lambrigot D.eta Charcosset J.Y. (2007). Leaf litter breakdown budgets in streams of various trophic status: effects of dissolved inorganic nutrients on microorganisms and invertebrates. *Freshwater Biology*, 52: 1322–1335. doi: 10.1111/j.1365-2427.2007.01768.x
- Battin T.J., Kaplan L.A., Findlay S., Hopkinson C.S., Martí E., Packman A.I., Newbold J.D. eta Sabater F. (2008) Biophysical controls on organic carbon fluxes in fluvial networks. *Nature Geoscience*, 1: 95–100. doi: 10.1038/ngeo101
- Battin T.J., Besemer K., Bengtsson M.M., Romaní A.M. eta Packmann A.I. (2016). The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 14: 251-263. doi: 10.1038/nrmicro.2016.15
- Benfield E.F. (2006). Decomposition of leaf material. In: *Methods in Stream Ecology* (Eds. Hauer F.R. eta Lamberti G.A.), Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 711–720. ISBN: 978-0-12-332908-0. doi: 10.1016/B978-0-12-332908-0.X5001-3
- Bernhardt E.S., Heffernan J.B., Grimm N.B., Stanley E.H., Harvey J.W., Arroita M., Appling A.P., Cohen M.J., McDowell W.H., Hall R.O., Read J.S., Roberts B.J., Stets E.G. eta Yackulic C.B. (2018). The metabolic regimes of flowing waters. *Limnology eta Oceanography*, 63 (S1): S99-S118. doi: 10.1002/lno.10726

Berthelsen A., Atalah J., Clark D., Goodwin E., Patterson M. eta Sinner J. (2018). Relationships between biotic indices, multiple stressors and natural variability in New Zealand estuaries. *Ecological Indicators*, 85: 634-643. doi: 10.1016/j.ecolind.2017.10.060

Beyene A., Legesse W., Triest L. eta Kloos H. (2009). Urban impact on ecological integrity of nearby rivers in developing countries: the Borkena River in highland Ethiopia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 153 (1-4): 461-476. doi: 10.1007/s10661-008-0371-x

Birk S., Bonne W., Borja A., Brucet S., Courrat A., Poikane S., Solimini A., van de Bund W., Zampoukas N. eta Hering D. (2012). Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecological Indicators*, 18: 31-41. doi: 10.1016/j.ecolind.2011.10.009

Birk S. eta Hering D. (2018). Hering D., Birk S., Jeppesen E., Borja A., Schmutz S., Kodeš V., Ormerod S., Hanganu J., Kuijper M., Buijse T., Nöges T., Venohr M., Cardoso A.C., Argillier C., Beklioğlu M., Carvalho L., Solheim A.L., Panagopoulos Y., Järvinen M., Globenvik L., Ferreira T., Alves H., Mühlmann H., Schinegger R. Pitt J.A., Höld E., Boscornea C. eta collaborators. MARS Project: Managing Aquatic ecosystems and water Resoruces under multiple Stress. Final Report, April 2018.

Borja A., Barbone E., Basset A., Borgersen G., Brkljacic M., Elliott M., Garmendia J.M., Marques J.C., Mazik K., Muxika I., Neto J.M., Norling K., Rodríguez J.G., Rosati I., Rygg B., Teixeira H. eta Trayanova A. (2011). Response of single benthic metrics and multi-metric methods to anthropogenic pressure gradients, in five distinct European coastal and transitional ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, 62 (3): 499-513. doi: 10.1016/j.marpolbul.2010.12.009

Boyle T.P. eta Fraleigh J.H.D. (2003). Natural and anthropogenic factors affecting the structure of the benthic macroinvertebrate community in an effluent-dominated reach of the Santa Cruz River, AZ. *Ecological Indicators*, 3:93-117. doi: 10.1016/S1470-160X(03)00014-1

Brack W., Klamer H.J.C., López de Alda M. eta Barceló D. (2007). Effect-directed analysis of key toxicants in European river basins. A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 14 (1): 30-38. doi: 10.1065/espr2006.08.329

Brett M.T., Arhonditsis G.B., Mueller S.E., Hartley D.M., Frogge J.D. eta Funke D.E. (2005). Non-point-source impacts on stream nutrient concentration along forest to urban gradient. *Environmental Management*, 35 (3): 330-342. doi: 10.1007/s00267-003-0311-z

Brooks B.W., Riley T.M. eta Taylor R.D. (2006). Water quality of effluent-dominated ecosystems: Ecotoxicological, hydrological and management considerations. *Hydrobiologia*, 556 (1): 365-379. doi: 10.1007/s10750-004-0189-7

Bunn S.E., Abal E.G., Smith M.J., Choy S.C., Fellows C.S., Harch B.D., Kennard M.J. eta Sheldon F. (2010). Integration of science and monitoring of river ecosystem health to guide investments in catchment protection and rehabilitation. *Freshwater Biology*, 55: 223-240. doi: 10.1111/j.1365-2427.2009.02375.x

- Camargo J.A. eta Alonso A. (2006). Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*, 32: 831-849. doi: 10.1016/j.envint.2006.05.002
- Canobbio S., Mezzanotte V., Sanfilippo U. eta Benvenuto F. (2009). Effect of multiple stressors on water quality and macroinvertebrate assemblages in an effluent-dominated stream. *Water, Air and Soil Pollution*, 198: 359-371. doi: 10.1007/s11270-008-9851-4
- Cardinale B.J., Duffy J.E., Gonzalez A., Hooper D.U., Perrings C., Venail P., Narwani A., Mace G.M., Tilman D., Wardle D.A., Kinzig A.P., Daily G.C., Loreau M., Grace J.B., Larigauderie A., Srivastava D.S. eta Naeem S. (2012). Biodiversity loss and its impacts on humanity. *Nature*, 486: 59-67. doi: 10.1038/nature11148
- Carey R.O. eta Migliaccio K.W. (2009). Contribution of Wastewater Treatment Plant Effluents to Nutrient Dynamics in Aquatic Systems: a Review. *Environmental Management*, 44: 205-217. doi: 10.1007/s00267-009-9309-5
- Carreiro M.M., Sinsabaugh R.L., Repert D.A. eta Parkhurst D.F. (2000). Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition. *Ecology*, 81 (9): 2359-2365. doi: 10.1890/0012-9658(2000)081[2359:MESELD]2.0.CO;2.
- Chadwick M.A. eta Huryn A.D. (2003). Effect of a whole-catchment N addition on stream detritus processing. *Journal of the North American Benthological Society*, 22 (2): 194–206. doi: 10.2307/1467992
- Chauvet E., Ferreira V., Giller P.S., McKie B.G., Tiegs S.D., Woodward G., Eloegi A., Dobson M., Fleituch T., Graça M.A.S., Gulis V., Hladyz S., Lacoursière J.O., Lecerf A., Pozo J., Preda E., Riipinen M., Rîşnoveanu G., Vadineanu A., Vought L.B.M. eta Gessner M.O. (2016). Litter decomposition as an indicator of stream ecosystem functioning at local-to-continental scales: insights from the European RivFunction project. *Advances in Ecological Research*, 55: 99-182. doi: 10.1016/bs.aecr.2016.08.006
- Chitty D. (1996). Do lemmings commit suicide? Beautiful hypotheses and ugly facts. Oxford University Press., USA. pp. 268. ISBN: 978-0-19-509786-3.
- Corcoll N., Casellas M., Huerta B., Guasch H., Acuña V., Rodríguez-Mozaz S., Serra-Compte A., Barceló D. eta Sabater S. (2015). Effects of flow intermittency and pharmaceutical exposure on the structure and metabolism of stream biofilms. *Science of the Total Environment*, 503-504: 159-170. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.06.093
- Dafforn K.A., Johnston E.L., Ferguson A., Humphrey C.L., Monk W., Nichols S.J., Simpson S.L., Tulbure M.G. eta Baird D.J. (2016). Big data opportunities and challenges for assessing multiple stressors across scales in aquatic ecosystems. *Marine and Freshwater Research*, 67 (4): 393-413. doi: 10.1071/MF15108

Datry T., Corti R., Claret C. et al Philippe M. (2011). Flow intermittence controls leaf litter breakdown in a French temporary alluvial river: the “drying memory”. *Aquatic Sciences*, 73 (4): 471–483. doi: 10.1007/s00027-011-0193-8

Demars B.O.L., Thompson J. et al Manson J.R. (2015). Stream metabolism and the open diel oxygen method: principles, practice, and perspectives. *Limnology and Oceanography. Methods*, 13: 356-374. doi: 10.1002/lom3.10030

de Solla S.R., Gilroy È.A.M., Klinck J.S., King L.E., McInnis R., Struger J., Backus S.M. et al Gillis P.L. (2016). Bioaccumulation of pharmaceuticals and personal care products in the unionid mussel *Las�igona costata* in a river receiving wastewater effluent. *Chemosphere*, 146: 486-496. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.12.022

Drury B., Rosi-Marshall E. et al Kelly J.J. (2013). Wastewater treatment effluent reduces the abundance and diversity of benthic bacterial communities in urban and suburban rivers. *Applied and Environmental Microbiology*, 79 (6): 1897-1905. doi: 10.1128/AEM.03527-12

Dudgeon D., Arthington A.H., Gessner M.O., Kawabata Z.I., Knowler D.J., Lèvèque C., Naiman R.J., Prieur-Richard A.H., Soto D., Stiassny M.L.J. et al Sullivan C.A. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews*, 81 (2): 163-182. doi: 10.1017/S1464793105006950

Dudgeon D. (2010). Prospects for sustaining freshwater biodiversity in the 21st century: linking ecosystem structure and function. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 2 (5-6): 422-430. doi: 10.1016/j.cosust.2010.09.001

Dudgeon D. (2013). Anthropocene extinctions: global threats to riverine biodiversity and the tragedy of the freshwater commons. In: *River Conservation: Challenges and opportunities* (Eds. Sabater S. et al Elosegi A.), pp. 129-165. Fundación BBVA, Bilbao. ISBN: 978-84-92937-47-9

EC - European Commission (1991). Council Directive 91/271/ EEC of 21 May 1991 concerning urban waste-water treatment. *Official Journal of European Communities*, L 135/40 30.

EC - European Commission (2000). Establishing a framework for community action in the field of water policy. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council. *Official Journal of the European Communities*, 327: 1-72.

EC - European Commission (2008). Priority Substances Daughter Directive. European Parliament and Council Directive 2008/105/EC of 16 December 2008 on Environmental Quality Standards in the Field of Water Policy.

EC - European Commission (2012). European Parliament and Council Directive Proposal Amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as Regards Priority Substances in the Field of Water Policy.

EC - European Commission (2015). The water framework directive and the floods directive: action towards the “good status” of EU water and to reduce flood risks, COM (2015), 120.

EEA - European Environmental Agency (2012). European Waters – Current Status and Future Challenges. EEA Report No. 9/2012, Synthesis. EEA Report.

Elosegi A. eta Sabater S. (2013). Effects of hydromorphological impacts on river ecosystem functioning: a review and suggestions for assessing ecological impacts. *Hydrobiologia*, 712 (1): 129–143. doi: 10.1007/s10750-012-1226-6

Englert D., Zubrod J.P., Schulz R. eta Bunschuh M. (2013). Effects of municipal wastewater on aquatic ecosystem structure and function in the receiving stream. *Science of the Total Environment*, 454-455 (1): 401-410. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.03.025

Ensign S.H. eta Doyle M.W. (2006). Nutrient spiraling in streams and river networks. *Journal of Geophysical Research*, 111: G04009. doi: 10.1029/2005JG000114

EUROSTAT, 2017. Water statistics. Technical Report. European statistics, European Union.

Fellows C.S., Clapcott J.E., Udy J.W., Bunn S.E., Harch B.D., Smith M.J. eta Davies P.M. (2006). Benthic metabolism as an indicator of stream ecosystem health. *Hydrobiologia*, 572 (1): 71-87. doi: 10.1007/s10750-005-9001-6

Ferreira V., Castagnayrol B., Koricheva J., Gulis V., Chauvet E. eta Graça M.A. (2015). A meta-analysis of the effects of nutrient enrichment on litter decomposition in streams. *Biological Reviews*, 90: 669-688. doi: 10.1111/brv.12125

Ferreira C.S.S., Walsh R.P.D. eta Ferreira A.J.D. (2018). Degradation in urban areas. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 5: 19-25. doi: 10.1016/j.coesh.2018.04.001

Foley J.A., DeFries R., Asner G.P., Barford C., Bonan G., Carpenter S.R., Chapin F.S., Coe M.T., Daily G.C., Gibbs H.K., Helkowski J.H., Holloway T., Howard E.A., Kucharik C.J., Monfreda C., Patz J.A., Prentice I.C., Ramankutty N. eta Snyder P.K. (2005). Global Consequences of Land Use. *Science*, 309 (5734): 570-574. doi: 10.1126/science.1111772

Frissell C.A., Liss W.J., Warren C.E. eta Hurley M.D. (1986). A hierarchical framework for stream habitat classification: viewing streams in a watershed context. *Environmental Management*, 10 (2): 199-214. doi: 10.1007/BF01867358

Gerba C.P. eta Pepper I.L. (2015). Municipal Wastewater Treatment. In: *Environmental Microbiology (Third edition)*. (Eds. Pepper I.L., Gerba C.P. eta Gentry T.J.), Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 583-606 (Chapter 25). ISBN: 978-0-12-394626-3. doi: 10.1016/C2011-0-05029-9

Gessner M.O., Swan C.M., Dang C.K., McKie B.G., Bardgett R.D., Wall D.H. eta Hättenschwiler S. (2010). Diversity meets decomposition. *Trends in Ecology and Evolution*, 25 (6): 372–380. doi: 10.1016/j.tree.2010.01.010

Gillooly J.F., Brown J.H., West G.B., Savage V.M. eta Charnov E.L. (2001). Effects of size and temperature on Metabolic rate. *Science*, 293 (5538): 2248-2251. doi: 10.1126/science.1061967

Gómez R., Asencio A.D., Picón J.M., Del Campo R., Arce M.I., Sánchez-Montoya M., Suárez M.L. eta Vidal-Abarca M.R. (2016). The effect of water salinity on wood breakdown in semiarid Mediterranean streams. *Science of the Total Environment*, 541: 491–501. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.09.040

Grant S.B., Saphores J.D., Feldman D.L., Hamilton A.J., Fletcher T.D., Cook P.L.M., Stewardson M., Sanders B.F., Levin L.A., Ambrose R.F., Deletic A., Brown R., Jiang S.C., Rosso D., Cooper W.J. eta Marusic I. (2012). Taking the “waste” out of “wastewater” for human water security and ecosystem sustainability. *Science*, 337 (6095): 681-686. doi: 10.1126/science.1216852

Grimm N.B., Faeth S.H., Golubiewski N.E., Redman C.L., Wu J., Bai X. eta Briggs J.M. (2008). Global Change and the Ecology of Cities. *Science*, 319 (5864): 756-760. doi: 10.1126/science.1150195

Grizzetti B., Pistocchi A., Liquete C., Udiás A., Bouraoui F. eta van de Bund W. (2017). Human pressures and ecological status of European rivers. *Scientific Reports*, 7 (1): 1-11. doi: 10.1038/s41598-017-00324-3

Gücker B., Brauns M. eta Pusch M.T. (2006). Effects of wastewater treatment plant discharge on ecosystem structure and function of lowland streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 25 (2): 313-329. doi: 10.1899/0887-3593(2006)25[313:EOWTPD]2.0.CO;2

Haggard B.E., Storm D.E. eta Stanley E.H. (2001). Effect of a point source input on stream nutrient retention. *Journal of the American Water Resources Association*, 37 (5): 1291–1299. doi: 10.1111/j.1752-1688.2001.tb03639.x

Haggard B.E., Stanley E.H. eta Storm D.E. (2005). Nutrient retention in a point-source-enriched stream. *Journal of the North American Benthological Society*, 24 (1): 29–47. doi: 10.1899/0887-3593(2005)024<0029:NRIAPS>2.0.CO;2

Hall R.O., Yackulic C.B., Kennedy T.A., Yard M.D., Rosi-Marshall E.J., Voichick N. eta Behn K.E. (2015). Turbidity, light, temperature, and hydropeaking control primary productivity in the Colorado River, Grand Canyon. *Limnology and Oceanography*, 60 (2): 512–526. doi: 10.1002/lo.10031

Hieber M. eta Gessner M.O. (2002). Contribution of stream detritivores, fungi, and bacteria to leaf breakdown based on biomass estimates. *Ecology*, 83 (4): 1026-1038. doi: 10.1890/0012-9658(2002)083[1026:COSDFA]2.0.CO;2

Hill W.R., Mulholland P.J. eta Marzolf E.R. (2001). Stream ecosystem responses to forest leaf emergence in spring. *Ecology*, 82 (8): 2306-2319. doi: 10.2307/2680233

Hoellein T.J., Tank J.L., Rosi-Marshall E.J. eta Entrekin S.A. (2009). Temporal variation in substratum-specific rates of N uptake and metabolism and their contribution at the stream-reach scale. *Freshwater Science*, 28 (2): 305–318. doi: 10.1899/08-073.1

Holeton C., Chambers P.A. eta Grace L. (2011). Wastewater release and its impacts on Canadian waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 68(10): 1836-1859. doi: 10.1139/f2011-096

- Hope A.J., McDowell W.H. eta Wollheim W.M. (2014). Ecosystem metabolism and nutrient uptake in an urban, piped headwater stream. *Biogeochemistry*, 121 (1): 167–187. doi: 10.1007/s10533-013-9900-y
- Hubbard L.E., Keefe S.H., Kolpin D.W., Barber L.B., Duris J.W., Hutchinson K.J. eta Bradley P.M. (2016). Understanding the hydrologic impacts of wastewater treatment plant discharge to shallow groundwater: before and after plant shutdown. *Environmental Science: Water Research eta Technology*, 2 (5): 864-874. doi: 10.1039/c6ew00128a
- Jackson M.C., Loewen C.G., Vinebrooke R.D. eta Chimimba C.T. (2016). Net effects of multiple stressors in freshwater ecosystems: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 22: 180-189. doi: 10.1111/gcb.13028
- Izagirre O., Agirre U., Bermejo M., Pozo J. eta Elosegi A. (2008). Environmental controls of whole-stream metabolism identified from continuous monitoring of Basque streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 27 (2): 252-268. doi: 10.1899/07-022.1
- James A.B.W., Dewson Z.S. etaDeath R.G. (2008). The effect of experimental flow reductions on macroinvertebrate drift in natural and streamside channels. *River Research and Applications*, 24: 22–35. doi: 10.1002/rra.1052
- Jarvie H.P., Sharpley A.N., Withers P.J., Scott J.T., Haggard B.E. eta Neal C. (2013). Phosphorus mitigation to control river eutrophication: Murky waters, inconvenient truths, and “Postnormal” science. *Journal of Environmental Quality*, 42 (2): 295–304. doi:10.2134/jeq2012.0085
- Jax K. (2010). Ecosystem Functioning. Cambridge University Press, Cambdrige, UK. ISBN: 978-0-511-78121-6. doi: 10.1017/CBO9780511781216
- Johnston E.L., Mayer-Pinto M. eta Crowe T.P. (2015). Chemical contaminant effects on marine ecosystem functioning. *Journal of Applied Ecology*, 52 (1): 140-149. doi: 10.1111/1365-2664.12355
- Jones B. eta O'Neill B.C. (2016). Spatially explicit global population scenarios consistent with the Shared Socioeconomic Pathways. *Environmental Research Letters*, 11: 084003. doi: 10.1088/1748-9326/11/8/084003
- Kaushal S.S. eta Belt K.T. (2012). The urban watershed continuum: Evolving spatial and temporal dimensions. *Urban Ecosystems*, 15 (2): 409-435. doi: 10.1007/s11252-012-0226-7
- Kaushal S.S., Mayer P.M., Vidon P.G., Smith R.M., Pennino M.J., Newcomer T.A., Duan S., Welty C. eta Belt K.T. (2014). Land use and climate variability amplify carbon, nutrient and contaminant pulses: a review with management implications. *Journal of the American Water Resources Association*, 50 (3): 585-614. doi: 10.1111/jawr.12204
- Kaushal S.S., Likens G.E., Pace M.L., Haq S., Wood K.L., Galella J.G., Morel C., Doody T.R., Wessel B., Kortelainen P., Räike A., Skinner V., Utz R. eta Jaworski N. (2018). Novel “chemical cocktails” in inland waters are a consequence of the freshwater salinization syndrome. *Philosophical Transactions of the Royal Society B, Biological Sciences*, 374 (1764). doi: 10.1098/rstb.2018.0017

- Krausmann F., Gingrich S., Eisenmenger N., Erb K.H., Haberl H. eta Fischer-Kowalski M. (2009). Growth in global materials use, GDP and population during the 20th century. *Ecological Economics*, 68 (10): 2696-2705. doi: 10.1016/j.ecolecon.2009.05.007
- Kunz J.V., Hensley R., Bräse L., Borchardt D. eta Rode M. (2017). High frequency measurements of reach scale nitrogen uptake in a fourth order river with contrasting hydromorphology and variable water chemistry (Weiße Elster, Germany). *Water Resources Research*, 53 (1): 328-343. doi: 10.1002/2016WR019355
- Kuster M., López de Alda M.J., Hernando M.D., Petróvic M., Martín-Alonso J. eta Barceló D. (2008). Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). *Journal of Hydrology*, 358: 112-123. doi: 10.1016/j.jhydrol.2008.05.030
- Lecerf A., Usseglio-Polatera P., Charcosset J.Y., Bracht B. eta Chauvet E. (2006). Assessment of functional integrity of eutrophic streams using litter breakdown and benthic macroinvertebrates. *Archiv für Hydrobiologie*, 165 (1): 105–126. doi: 10.1127/0003-9136/2006/0165-0105
- Lock M.A. (1993). Attached microbial communities in rivers. In: *Aquatic Microbiology: an Ecological Approach*, (Eds. Ford T.E.). Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, pp. 113–138. ISBN: 978-0-86-542225-4.
- Madlener R. eta Sunak Y. (2011). Impacts of urbanization on urban structures and energy demand: What can we learn for urban energy planning and urbanization management? *Sustainable Cities and Society*, 1 (1): 45-53. doi: 10.1016/j.scs.2010.08.006
- Martí E., Aumatell J., Godé L., Poch M. eta Sabater F. (2004). Nutrient retention efficiency in streams receiving inputs from wastewater treatment plants. *Journal of Environmental Quality*, 33: 285-293. doi: 10.2134/jeq2004.0285
- Martí E., Riera J.L. eta Sabater F. (2009). Effects of wastewater treatment plants on stream nutrient dynamics under water scarcity conditions. In: Sabater S., Barceló D. (eds). Water scarcity in the Mediterranean. *The Handbook of Environmental Chemistry*, 8: 173-195. Springer, Berlin, Heidelberg. ISBN: 978-3-642-03971-3. doi: 10.1007/698_2009_33
- McNeill J. (2000). Something new under the sun: An environmental history of the twentieth century. *The Global Century Series* (Eds. Norton W.W. Y Company), pp. 448. ISBN: 978-0-39-332183-8.
- Merbt S.N., Auguet J.C., Blesa A., Martí E. eta Casamayor E.O. (2015). Wastewater treatment plant effluents change abundance and composition of ammonia-oxidizing microorganisms in Mediterranean urban stream biofilms. *Microbial Ecology*, 69 (1): 66-74. doi: 10.1007/s00248-014-0464-8
- Merseburger G.C., Martí E. eta Sabater F. (2005). Net changes in nutrient concentrations below a point source input in two streams draining catchments with contrasting land uses. *Science of the Total Environment*, 347: 217-229. doi: 10.1016/j.scitotenv.2004.12.022

Merseburger G. C., Martí E., Sabater F. eta Ortiz J.D. (2011). Point-source effects on N and P uptake in a forested and an agricultural Mediterranean streams. *Science of the Total Environment*, 409: 957-967. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.11.014

Meyer J.L., Paul M.J. eta Taulbee W.K. (2005). Stream ecosystem function in urbanizing landscapes. *Journal of the North American Benthological Society*, 24 (3): 602-612. doi: 10.1899/04-021.1

MEA - Millennium Ecosystem Assessment (2005). Ecosystems and human well-being: biodiversity synthesis. World Resources Institute.

Miserendino M.L., Brand C. eta Di Prinio C.Y. (2008). Assessing urban impacts on water quality, benthic communities and fish in streams of the Andes Mountains, Patagonia (Argentina). *Water, Air and Soil Pollution*, 194 (1-4): 91-110. doi: 10.1007/s11270-008-9701-4

Mulholland P.J., Fellows C.S., Tank J.L., Grimm N.B., Webster J.R., Hamilton S.K., Martí E., Ashkenas L., Bowden W.B., Dodds W.K., McDowell W.H., Paul M.J. eta Peterson B.J. (2001). Inter-biome comparison of factors controlling stream metabolism. *Freshwater Biology*, 46: 1503-1517. doi: 10.1046/j.1365-2427.2001.00773.x

Mulholland P.J. (2004). The importance of in-stream uptake for regulating stream concentrations and outputs of N and P from a forested watershed: evidence from long-term chemistry records for Walker Branch Watershed. *Biogeochemistry*, 70 (3): 403 - 426. doi: 10.1007/s10533-004-0364-y

Mulholland P.J., Helton A.M., Poole G.C., Hall R.O., Hamilton S.K., Peterson B.J., Tank J.L., Ashkenas L.R., Cooper L.W., Dahm C.N., Dodds W.K., Findlay S.E.G., Gregory S.V., Grimm N.B., Johnson S.L., McDowell W.H., Meyer J.L., Valett H.M., Webster J.R., Arango C.P., Beaulieu J.J., Bernot M.J., Burgin A.J., Crenshaw C.L., Johnson L.T., Niederlehner B.R., O'Brien J.M., Potter J.D., Sheibley R.W., Sobota D.J. eta Thomas S.M. (2008). Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading. *Nature*, 452: 202-206. doi: 10.1038/nature06686

Mulholland P.J. eta Webster J.R. (2010). Nutrient dynamics in streams and the role of J-NABS. *Freshwater Science*, 29 (1): 100–117. doi: 10.1899/08-035.1

Newbold J.D. (1996). Cycles and spirals of nutrients. In: *River Flows and Channel Forms* (Eds. Calow P. eta Petts G.). Blackwell Publishing, Oxford, UK, pp. 130–159.

Niyogi D.K., Lewis W.M. eta McKnight D.M. (2001). Litter breakdown in mountain streams affected by mine drainage: biotic mediation of abiotic controls. *Ecological Applications*, 11: 506-516. doi: 10.1023/A:1020131414738

Northington R.M. eta Hershey A.E. (2006). Effects of stream restoration and wastewater treatment plant effluent on fish communities in urban streams. *Freshwater Biology*, 51: 1959-1973. doi: 10.1111/j.1365-2427.2006.01626.x

Odum H.T. (1956). Primary production in flowing waters. *Limnology and Oceanography*, 1 (2): 102-117. doi: 10.4319/lo.1956.1.2.0102

- Odum E.P., Finn J.T. eta Franz E.H. (1979). Perturbation theory and the subsidy-stress gradient. *Bioscience*, 29: 349-352. doi: 10.2307/1307690
- O'Brien A.L., Dafforn K.A., Chariton A.A., Johnston E.L. eta Mayer-Pinto M.M. (2019). After decades of stressor research in urban estuarine ecosystems the focus is still on single stressors: A systematic literature review and meta-analysis. *Science of the Total Environment, In Press*. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.02.131
- Ortiz J.D. eta Puig M.A. (2007). Point source effects on density, biomass and diversity of benthic macroinvertebrates in a Mediterranean stream. *River Research and Applications*, 23: 155-170. doi: 10.1002/rra.971
- Palmer M.A. eta Febria C.M. (2012). The heartbeat of ecosystems. *Science*, 336: 1393-1394. doi: 10.1126/science.1223250
- Pascoal C., Pinho M., Cássio F. eta Gomes P. (2003). Assessing structural and functional ecosystem condition using leaf breakdown: studies on a polluted river. *Freshwater Biology*, 48: 2033-2044. doi: 10.1046/j.1365-2427.2003.01130.x
- Perrings C., Naeem S., Ahrestani F., Bunker D.E., Burkill P., Canziani G., Elmquist T., Ferrati R., Fuhrman J., Jaksic F., Kawabata Z., Kinzig A., Mace G.M., Milano F., Mooney H., Prieur-Richard A.H., Tschirhart J. eta Weisser W. (2010). Ecosystem services for 2020. *Science*, 330 (6002): 323-324. doi: 10.1126/science.1196431
- Peters K., Bundschuh M. eta Schäfer R.B. (2013). Review on the effects of toxicants on freshwater ecosystem functions. *Environmental Pollution*, 180: 324-329. doi: 10.1016/j.envpol.2013.05.025
- Petrovic M., Hernando M.D., Díaz-Cruz M.S. eta Barceló D. (2005). Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *Journal of Chromatography A*, 1067 (1-2): 1-14. doi: 10.1016/j.chroma.2004.10.110
- Petrovic M., Ginebreda A., Acuña V., Batalla R.J., Elosegi A., Guasch H., de Alda M.L., Marce R., Muñoz I., Navarro-Ortega A., Navarro E., Vericat D., Sabater S. eta Barceló D. (2011). Combined scenarios of chemical and ecological quality under water scarcity in Mediterranean rivers. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30 (8): 1269-1278. doi: 10.1016/j.trac.2011.04.012
- PetrovicM., Ginebreda A., Muñoz I. eta Barceló D (2013). The river drugstore: Threats of emerging pollutants to river conservation. In: *River Conservation: Challenges and opportunities* (Eds. Sabater S. eta Elosegi A.), pp. 105-126. Fundación BBVA, Bilbao. ISBN: 978-84-92937-47-9
- Piscart C., Genoel R., Doledec S., Chauvet E. eta Marmonier P. (2009). Effects of intense agricultural practices on heterotrophic processes in streams. *Environmental Pollution*, 157 (3): 1011–1018. doi: 10.1016/j.envpol.2008.10.010
- Piscart C., Navel S., Maazouzi C., Montuelle B., Cornut J., Mermilliod-Blondin F., Chatelliers M.C., Somin L. eta Marmonier P. (2011). Leaf litter recycling in benthic and hyporheic layers in agricultural

streams with different types of land use. *Science of the Total Environment*, 409 (20): 4373–4380. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.06.060

Ponsatí L., Corcoll N., Petrovic M., Picó Y., Ginebreda A., Tornés E., Guasch H., Barceló D. eta Sabater S. (2016). Multiple-stressor effects on river biofilms under different hydrological conditions. *Freshwater Biology*, 61: 2102–2115. doi: 10.1111/fwb.12764

Posthuma L., Eijackers H., Koelmans J.P.A. eta Vijver M.G. (2008). Ecological effects of diffuse mixed pollution are site-specific and require higher-tier risk assessment to improve site management decisions: a discussion paper. *Science of the Total Environment*, 406 (3): 503-517. doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.06.065

Proia L., Osorio V., Soley S., Köck-Schulmeyer M., Pérez S., Barceló D., Romaní A.M. eta Sabater S. (2013). Effects of pesticides and pharmaceuticals on biofilms in a highly impacted river. *Environmental Pollution*, 178: 220-228. doi: 10.1016/j.envpol.2013.02.022

Proia L., Romaní A.M. eta Sabater S. (2017). Biofilm phosphorus uptake capacity as a tool for the assessment of pollutant effects in river ecosystems. *Ecotoxicology*, 26 (2): 271-282. doi: 10.1007/s10646-017-1761-z

Province Government of Gipuzkoa. (2015). Estudio de la calidad biológica de los ríos de Gipuzkoa. Technical report. Province Government of Gipuzkoa.

Ribot M., von Schiller D., Peipoch M., Sabater F., Grimm N.B. eta Martí E. (2013). Influence of nitrate and ammonium availability on uptake kinetics of stream biofilms. *Freshwater Science*, 32 (4): 1155-1167. doi: 10.1899/12-209.1

Ribot M., von Schiller D., Sabater F. eta Martí E. (2015). Biofilm growth and nitrogen uptake responses to increases in nitrate and ammonium availability. *Aquatic Sciences*, 77(4): 695-707. doi: 10.1007/s00027-015-0412-9

Rice J. eta Westerhoff P. (2017). High levels of endocrine pollutants in US streams during low flow due to insufficient wastewater dilution. *Nature Geoscience*, 10:587-591. doi: 10.1038/ngeo2984

Ripple W.J., Wolf C., Newsome T. M., Galetti M., Alamgir M., Crist E., Mahmoud I. M., Laurance W. F. eta 15,364 scientist signatories from 184 countries (2017). World Scientists' Warning to Humanity: A Second Notice. *BioScience*, 67 (12): 1026–1028. doi: 10.1093/biosci/bix125

Roberts B.J., Mulholland P.J. eta Hill W.R. (2007). Multiple scales of temporal variability in ecosystem metabolism rates: results from 2 years of continuous monitoring in a forested headwater stream. *Ecosystems*, 10 (4): 588-606. doi: 10.1007/s10021-007-9059-2

Rodríguez-Castillo T., Barquín J., Álvarez-Cabria M., Peñas F.J. eta Álvarez C. (2017). Effects of sewage effluents and seasonal changes on the metabolism of the Atlantic rivers. *Science of the Total Environment*, 599-600: 1108-1118. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.05.067

- Rodríguez-Mozaz S., Chamorro S., Martí E., Huerta B., Gros M., Sàncchez-Melsió A., Borrego C.M., Barceló D. eta Balcázar J.L. (2015). Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. *Water Research*, 69: 234-242. doi: 10.1016/j.watres.2014.11.021
- Romaní A.M., (2010). Freshwater biofilms. In *Biofouling* (Eds. Dürr S. eta Thomason J.C.). Blacwell Publishing Ltd., Oxford, UK, pp. 137–153. ISBN: 978-1-4051-6926-4
- Romaní A.M., Artigas J. eta Yilla I. (2012). Extracellular enzymes in aquatic biofilms: Microbial interactions versus water quality effects in the use of organic matter, pp. 153-174. In Lear G. eta Lewis G.D. [eds.], from *Microbial biofilms: Current research and applications*. Caister Academic Press, U.K.. ISBN: 978-1-904455-96-7.
- Romero F., Sabater S., Timoner X. eta Acuña V. (2018). Multistressor effects on river biofilms under global change conditions. *Science of the Total Environment*, 627: 1-10. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.161
- Rosi-Marshall E.J., Snow D., Bartelt-Hunt S.L., Paspalof A. eta Tank J.L. (2015). A review of ecological effects and environmental fate of illicit drugs in aquatic ecosystems. *Journal of Hazardous Materials*, 282: 18-25. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.06.062
- Rowe L. eta Richardson J.S. (2001). Community responses to experimental food depletion: resource tracking by stream invertebrates. *Oecologia*, 129 (3): 473–480. doi: 10.1007/s004420100748
- Ruggiero A., Solimini A.G. eta Carchini G. (2006). Effects of a waste water treatment plant on organic matter dynamics and ecosystem functioning in a Mediterranean stream. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, 42 (2): 97-107. doi: 10.1051/limn/2006014
- Ryan R.J., Packman A.I. eta Kilham S.S. (2007). Relating phosphorus uptake to changes in transient storage and streambed sediment characteristics in headwater tributaries of Valley Creek, an urbanizing watershed. *Journal of Hydrology*, 336 (3-4): 444-457. doi: 10.1016/j.jhydrol.2007.01.021
- Sabater S., Guasch H., Ricart M., Romaní A.M., Vidal G., Klünder C. eta Schmitt-Jansen M. (2007). Monitoring the effect of chemicals on biological communities. The biofilm as an interface. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387 (4):1425-1434. doi: 10.1007/s00216-006-1051-8
- Sabater S., Donato J.C., Giorgi A., eta Elosegi A. (2009). El río como ecosistema. In: *Conceptos y técnicas de la ecología fluvial* (Eds. Sabater S. eta Elosegi A.), pp. 23-37. Fundación BBVA, Bilbao. ISBN: 978-84-96515-87-1
- Sabater S., Barceló D., De Castro-Catalá N., Ginebreda A., Kuzmanovic M., Petrovic M., Picó Y., Ponsatí L., Tornés E. eta Muñoz I. (2016). Shared effects of organic microcontaminants and environmental stressors on biofilms and invertebrates in impaired rivers. *Environmental Pollution*, 210: 303-314. doi: 10.1016/j.envpol.2016.01.037

- Sabater S., Elosegi A. eta Ludwig R. (2018). Multiple stressors in river ecosystems. *Status, impacts and prospects for the future*. (Eds. Sabater S., Elosegi A eta Ludwig R.), Elsevier, pp. 404. ISBN: 978-0-12-811713-2. doi: 10.1016/C2016-0-01770-9
- Sánchez-Perez J.M., Gerino M., Sauvage S., Dumas P., Maneux É., Julien F., Winterton P. eta Vervier P. (2009). Effects of wastewater treatment plant pollution on in-stream ecosystems functions in an agricultural watershed. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, 45: 79-92. doi: 10.1051/limn/2009011
- Sandin L. eta Solimini A.G. (2009). Freshwater ecosystem structure-function relationships: from theory to application. *Freshwater Biology*, 54: 2017-2024. doi: 10.1111/j.1365-2427.2009.02313.x
- Schlesinger W.H. eta Bernhardt E.S. (2013). Biogeochemistry: An analysis of global change. Third edition. Academic Press, Elsevier, pp. 688. ISBN: 978-0-12-385874-0.
- Segner H., Schmitt-Jansen M. eta Sabater S. (2014). Assessing the impacts of multiple stressors on aquatic biota: The receptor's side matters. *Environmental Science eta Technology*, 48: 7690-7696. doi: 10.1021/es405082t
- Serrano A. (2007). Plan Nacional de Calidad de las Aguas 2007-2015. *Ambienta*, 69: 6-13.
- Solagaistua L., de Guzmán I., Barrado M., Mijangos L., Etxebarria N., García-Baquero G., Larrañaga A., von Schiller D. eta Elosegi A. (2018). Testing wastewater treatment plant effluent effects on microbial and detritivore performance: A combined field and laboratory experiment. *Aquatic Toxicology*, 203: 159-171. doi: 10.1016/j.aquatox.2018.08.006
- Spähhoff B., Bischof R., Böhme A., Lorenz S., Neumeister K., Nöthlich A. eta Küsel K. (2007). Assessing the impact of effluents from a Modern waste water treatment plan on breakdown of coarse particulate organic matter and benthic macroinvertebrates in a lowland river. *Water, Air eta Soil Pollution*, 180: 119-129. doi: 10.1007/s11270-006-9255-2
- Steffen W., Richardson K., Rockström J., Cornell S.E., Fetzer I., Bennett E.M., Biggs R., Carpenter S.R., de Vries W., de Wit C.A., Folke C., Gerten D., Heinke J., Mace G.M., Persson L.M., Ramanathan V., Reyers B. eta Sörlin S. (2015). Planetary boundaries: Guiding human development on changing planet. *Science*, 347 (6223): 1259855. doi: 10.1126/science.1259855
- Stevenson R.J. eta Sabater S. (2010). Understanding global change in river ecosystems: science to support policy in a changing world. *Hydrobiologia*, 657 (1): 3-18. doi: 10.1007/s10750-010-0392-7
- Stutter M.I., Demars B.O.L. eta Langan S.J. (2010). River phosphorus cycling: Separating biotic and abiotic uptake during short-term changes in sewage effluent loading. *Water Research*, 44 (15): 4425-4436. doi: 10.1016/j.watres.2010.06.014
- Subirats J., Triadó-Margarit X., Mandaric L., Acuña V., Balcázar J.L., Sabater S. eta Borrego C.M. (2017). Wastewater pollution differently affects the antibiotic resistance gene pool and biofilm

bacterial communities across streambed compartments. *Molecular Ecology*, 26 (20): 5567-5581. doi: 10.1111/mec.14288

Tank J.L., Rosi-Marshall E.J., Griffiths N.A., Entrekin S.A. eta Stephen M.L. (2010). A review of allochthonous organic matter dynamics and metabolism in streams. *Freshwater Science*, 29 (1): 118–146. doi: 10.1899/08-170.1

Tiegs S.D., Clapcott J.E., Griffiths N.A. etaBoulton A.J. A standardized cotton-strip assay for measuring organic matter decomposition in streams. *Ecological Indicators*, 32: 131-139. doi: 10.1016/j.ecolind.2013.03.013

Tilman D., Isbell F. eta Cowles J.M. (2014). Biodiversity and ecosystem functioning. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 45: 471-473. doi: 10.1146/annurev-ecolsys-120213-091917

Timoner X., Acuña V., von Schiller D. eta Sabater S. (2012). Functional responses of stream biofilms to flow cessation, desiccation and rewetting. *Freshwater Biology*, 57: 1565–1578. doi: 10.1111/j.1365-2427.2012.02818.x

Uehlinger U. (2000). Resistance and resilience of ecosystem metabolism in a flood-prone river system. *Freshwater Biology*, 45 (3): 319-332. doi: 10.1111/j.1365-2427.2000.00620.x

UNE – United Nations Environment (2019). Global Environmental Outlook – GEO-6: Healthy Planet, Healthy People. Nairobi (Kenya). Cambridge University Press, Cambridge, UK ISBN: 978-1-108-70766-4. doi: 10.1017/9781108627146.

von Schiller D., Bernal S., Sabater F. eta Martí E. (2015). A round-trip ticket: the importance of release processes for in-stream nutrient spiraling. *Freshwater Science*, 34 (1): 20-30. doi: 10.1086/679015

von Schiller D., Aristi I., Ponsatí L., Arroita M., Acuña V., Elosegi A. eta Sabater S. (2016). Regulation causes nitrogen cycling discontinuities in Mediterranean rivers. *Science of the Total Environment*, 540: 168–177. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.07.017

von Schiller D., Acuña V., Aristi I., Arroita M., Basaguren A., Bellin A., Boyero L., Butturini A., Ginebreda A., Kalogianni E., Larrañaga A., Majone B., Martínez A., Monroy S., Muñoz I., Paunović M., Pereda O., Petrovic M., Pozo J., Rodríguez-Mozaz S., Rivas D., Sabater S., Sabater F., Skoulikidis N., Solagaistua L., Vardakas L. eta Elosegi A. (2017). River ecosystem processes: A synthesis of approaches, criteria of use and sensitivity to environmental stressors. *Science of the Total Environment*, 596-597: 465-480. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.04.081

Vörösmarty C.J., McIntyre P.B., Gessner M.O., Dudgeon D., Prusevich A., Green P., Glidden S., Bunn S.E., Sullivan C.A., Reidy Liermann C. eta Davies P.M. (2010). Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature*, 555-561. doi: 10.1038/nature09440

Waiser M.J., Tumber V. eta Holm J. (2011). Effluent-dominated streams. Part I: presence ad effects of excess nitrogen and phosphorus in Wascana Creek, Saskatchewan, Canada. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30 (2): 496-507. doi: 10.1002/etc.399

Wakelin S.A., Colloff M.J. eta Kookana R.S. (2008). Effect of wastewater treatment plant effluent on microbial function and community structure in the sediment of a freshwater stream with variable seasonal flow. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (9): 2659-2668. doi: 10.1128/AEM.02348-07

Walsh C.J., Roy A.H., Feminella J.W., Cottingham P.D., Groffman P.M. eta Morgan II R.P. (2005). The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. *Journal of the North American Benthological Society*, 24 (3): 706-723. doi: 10.1899/04-028.1

Wantzen K.M., Yule C.M., Mathooko J.M. eta Pringle C.M. (2008). Organic matter processing in tropical streams. In: *Tropical stream ecology* (Eds. Dudgeon D.), pp 43–64. Elsevier Inc., USA. doi: 10.1016/B978-012088449-0.50005-4

Waters C.N., Zalasiewicz J., Summerhayes C., Barnosky A.D., Poirier C., Galuszka A., Cearreta A., Edgeworth M., Ellis E.C., Ellis M., Jeandel C., Leinfelder R., McNeill J.R., Richter D. Deb., Steffen W., Syvitski J., Vidas D., Wagreich M., Williams M., Zhisheng A., Grinevald J., Odada E., Oreskes N. eta Wolfe A.P. (2016). The Anthropocene is functionally and stratigraphically distinct from the Holocene. *Science*, 351 (6269): aad2622. doi: 10.1126/science.aad2622

WHO (World Health Organization) eta UNICEF (United Nations Children's Foundation) (2017). Progress on drinking water, sanitation and hygiene: 2017 update and SDG baselines. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. ISBN: 978-92-4-151289-3.

Young R.G., Matthaei C.D. eta Townsend C.R. (2008). Organic matter breakdown and ecosystem metabolism: functional indicators for assessing river ecosystem health. *Freshwater Science*, 27 (3): 605-625. doi: 10.1899/07-121.1

Yvon-Durocher G., Caffrey J.M., Cescatti A., Dossena M., del Giorgio P., Gasol J.M., Montoya J.M., Pumpanen J., Staehr P.A., Trimmer M., Woodward G. eta Allen A.P. (2012). Reconciling the temperature dependence of respiration across timescales and ecosystem types. *Nature*, 487: 472-476. doi: 10.1038/nature11205

Zoppini A., Ademollo N., Amalfitano S., Capri S., Casella P., Fazi S., Marxsen J. eta Patrolecco L. (2016). Microbial responses to polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in temporary river sediments: Experimental insights. *Science of the Total Environment*, 541: 1364–1371. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.09.144

2. KAPITULUA

**Kutsadura urbanoaren eta aldaketa hidrologikoen arteko
elkarreragina erreka Mediterraneoen funtzionamenduan**

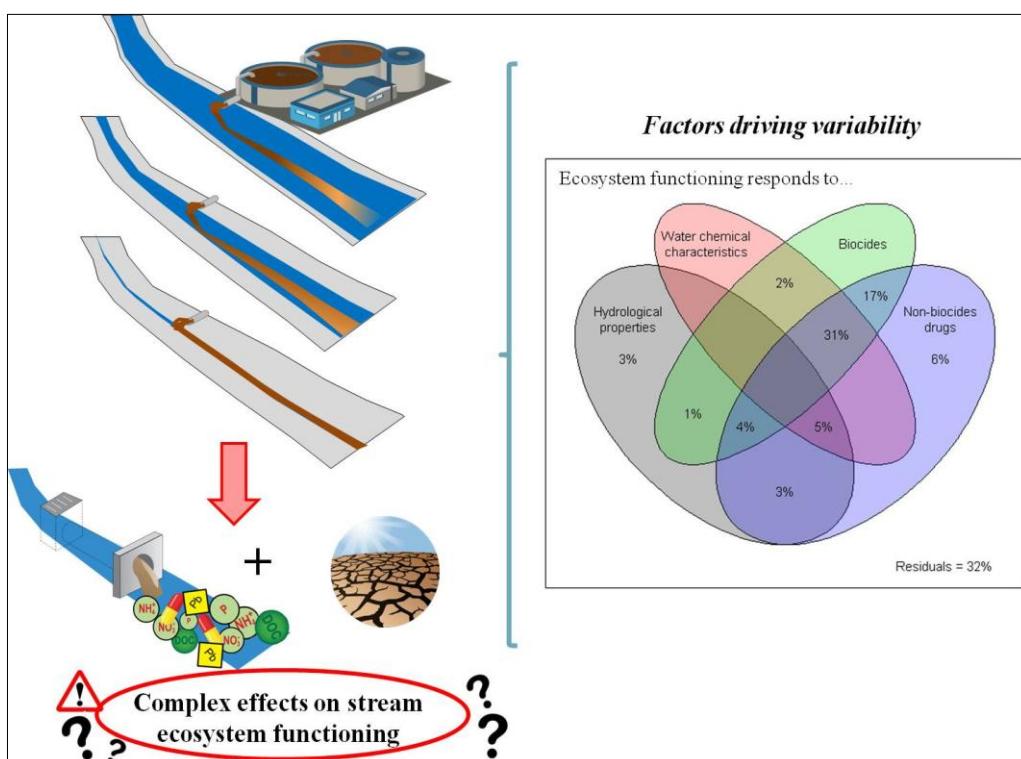
Olatz Pereda, Daniel von Schiller, Gonzalo García-Baquero, Jordi-René Mor,
Vicenç Acuña, Sergi Sabater eta Arturo Elosegi

Laburpena

Erreka urbanoak kutsaduraren eta aldaketa hidrologikoen eraginaren pean daude, zeintzuek aldi berean sistema horien diluzio-gaitasuna eta kutsatzaleen amaierako kontzentrazioa baldintzatzen baitituzten. Guk kutsadura urbanoaren eta ur-eskasiaren arteko eragin bateratuak aztertu genituen, diluzio-gaitasun tarte zabala estaltzen zuten 13 erreka mediterraneotan. Erreka horietako bakoitzean kontrol eta impaktu tramu bana ezarri genituen, hondakin-uren sarreretik gora eta behera, hurrenez hurren. Tramuetako bakoitzean biofilmaren hazkuntza tasa eta mantenugaien atxikimendu-gaitasuna, materia organikoaren deskonposizioa eta tramu-mailako mantenugaien atxikimendua eta metabolismoa neurtu genituen. Hondakin-uren isurketek erantzun konplexuak eragin zitzuten ekosistemaren funtzionamenduan. Orokorean, prozesu funtzional gehienak emendatu zitzuten, materia organikoaren deskonposizioa eta biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasuna izan ezik, azken hauek kutsatzale kontzentrazioaren emendioarekiko murriztu baitziren. Prozesu gehienek erantzun-patroi linealak jarraitu zitzuten kutsadura gradientearekiko, eta prozesu batek ere ez zuen esperotako subsidio-estres moduko erantzun-patroirik erakutsi. Erreken funtzionamenduan behatutako aldakortasunaren erantzule nagusiak uraren ezaugarri kimikoak izan ziren, batez ere droga desberdinaren kontzentrazioa, nahiz eta erantzun-patroiak aztertutako prozesuaren araberakoak izan ziren. Oro har, ibai-ekosistemen funtzionamenduak kutsadura urbanoarekiko erakutsi zuen erantzuna, batez ere, hondakin-uren isurketen izaeraren eta isurketek erreka hartzalean jasaten duten diluzioaren araberakoa izan zen.

Keywords: Wastewater; nutrients; pharmaceutically active compounds (PhACs); hydrology; subsidy-stress; ecosystem functioning.

Laburpen grafikoa



Sarrera

Urbanizazioaren emendioak eta giza populazioaren hazkuntzak erreka urbanoen funtzionamendua kaltetzen dute eta uraren kalitatean ondorio lazgarriak dituzte (Kaushal *et al.*, 2015). Herri- eta hiriguneek biologikoki aktiboak diren substantzia eta konposatu desberdinaren nahasketa konplexuak isurtzen dituzte etengabe ur ingurunetara (Rice eta Westerhoff, 2017). Orokorean, herrialde garatuetan ekoiztutako hondakin-urak araztegietan (Hondakin-uren araztegiak, HUA) tratatzen diren bitartean, herrialde azpigaratuetan ekoiztutako hondakin-uren bi heren baino gehiago isurtzen dira, oraindik ere, erreka eta ibaietara inolako tratamendurik gabe (EEA, 2018). HUAek ingurunera hel daitezkeen mantenugaiak, materia organikoa eta patogenoak nabarmenki murrizten dituzte, baina ez dira gai erabat desagerrazteko eta hortaz, haien isurketek oraindik ere kutsatzaile desberdin asko barneratzen dituzte, hala nola, mantenugaiak eta materia organikoa (Carey eta Migliaccio, 2009), metal astunak (Deycard *et al.*, 2014), eta mikro-kutsatzaile organikoak, adibidez, pestizidak, garbiketa eta zaintza-produktuak edota konposatu farmazeutikoki aktiboak (KFAk) (Kuzmanovic *et al.*, 2015; Mandaric *et al.*, 2018). Substantzia horietako batzuk, metal astunak kasu, toxikoak dira eta orokorean jarduera biologikoak murrizten dituzte. Beste substantzia batzuek, aitzitik, mantenugaiak esaterako, jarduera biologikoak atalase batera arte emenda ditzakete (subsidioa), baina kontzentrazio altuagoetan jarduera biologikoak murriztuko dituzte (estresa), Subsidio-Estres gisa ezagutzen den erantzun-patroia emanez (Odum *et al.*, 1979).

Kutsaduraren efektuak areagotu daitezke aldi berean estresore anitzen eraginaren pean dauden erreketan, esaterako, emendatutako tenperaturen edo aldaketa hidrologikoen pean dauden erreketan (Sabater *et al.*, 2018). Estresore anitzen artean, estres hidrologikoak berebiziko garrantzia dauka; batez ere, erreka iraunkorrik iragankor bihurtzen dituenean, aldaketa klimatikoaren edota ur-abstrakzioaren ondorioz (Acuña *et al.*, 2014). Eskualde lehor eta erdilehorrek, Mediterraneoa kasu, estres hidrologikoaren ondorioz gehien mehatxatutako eskualdeak dira eta ondorioz, haien gehiegizko andeaketak ingurumen-arazo larriak eragin ditzake. Baldintza naturaletan, erreka mediterraneoak urtaroen arteko emari aldaketa handiak erakusten dituzte, zehazki, udazkenean eta udaberrian zehar ematen diren uholde handiak eta udan jasaten dituzten emariaren murrizketa gogorrak (Sabater eta Tockner, 2010), erreka hauen diluzio-gaitasuna larriki kaltetu egiten denean, alegia. Etorkizunerako aurresandako aldaketa globalaren baldintzen pean, HUAen isurketek erreka hartziale askoren emarian kontribuzio handiagoa izango dutela uste da (Döll eta Schmied, 2012; Rice eta Westerhoff, 2017). Hortaz, sistema hauetan ezartzen den ur-errekursoen erabilera eta kudeaketak bereziki sentikor bihurtzen ditu erreka mediterraneoak estresore kimiko eta hidrologikoen elkarreraginarekiko (Skoulidakis *et al.*, 2017).

Uraren kutsadurak eta aldaketa hidrologikoek komunitate biologikoengen dituzten eraginak nahiko aztertuta izan diren arren (adibidez, Sabater *et al.*, 2016; Rodríguez-Castillo *et al.*, 2017; Romero *et al.*, 2018; Tornés *et al.*, 2018), oraindik ez dago argi zeintzuk diren ondorioak

ekosistemen funtzionamenduan. Ekosistemaren funtzionamenduaak ekosistemetan ematen diren materia eta energiarene fluxuak adierazten ditu, baina orain arte erreken eta ibaien egoera ekologikoa ebaluatu duten monitorizazio lan gehienek modu isolatuan baino ez dute aztertu (von Schiller *et al.*, 2017). Hori dela eta, kutsadura kimikoak erreken funtzionamenduan duen eragina azterzeko orain arte egindako lan gehienek emaitza kontrajarriak baino ez dituzte deskribatu. Adibidez, kutsadurak erreken metabolismoa eragin ditzakeen efektuak aztertzen dituzten lanen artean, gehienek emendatutako jarduera metabolikoak deskribatzen dituzte hondakin uren isurketetatik behera (adibidez, Aristi *et al.*, 2015), baina badaude beste lan batzuk ere murrizketak (adibidez, Rodríguez-Castillo *et al.*, 2017) edota efektu ezak (adibidez, Sánchez-Pérez *et al.*, 2009) deskribatzen dituztenak. Era berean, kutsadura urbanoaren eraginak erreken mantenugaien dinamikan aztertzen dituzten lan gehienek hondakin uren isurketetatik behera murriztutako atxikimendu-gaitasunak deskribatzen dituzten arren (adibidez, Martí *et al.*, 2004), badaude beste lan batzuk emendatutako (Stutter *et al.*, 2010) edota aldaketarik gabeko (adibidez, Haggard *et al.*, 2005) atxikimendu-gaitasunak ere deskribatzen dituztenak. Ildo horretatik, emaitza desberdinak ere deskribatu izan dira materia organikoaren deskomposizioari dagokiola, emendatutako (adibidez, Pascoal *et al.*, 2003), murriztutako (adibidez, Englert *et al.*, 2013) edota eragin esangarririk jasan gabe mantendutako (adibidez, Baldy *et al.*, 2007) deskomposizio-tasak deskribatuz. Hori dela eta, sendotasunik gabeko emaitza kontrajarri horiek isurketen izaeraren, sistema bakoitzaren diluzio-gaitasunaren edota ekosistemaren funtziobakoitzak duen erantzunaren araberakoak izan daitezke, prozesuetako batzuk emendatu eta beste batzuk murriztu daitezkeelako (Pereda *et al.*, 2019).

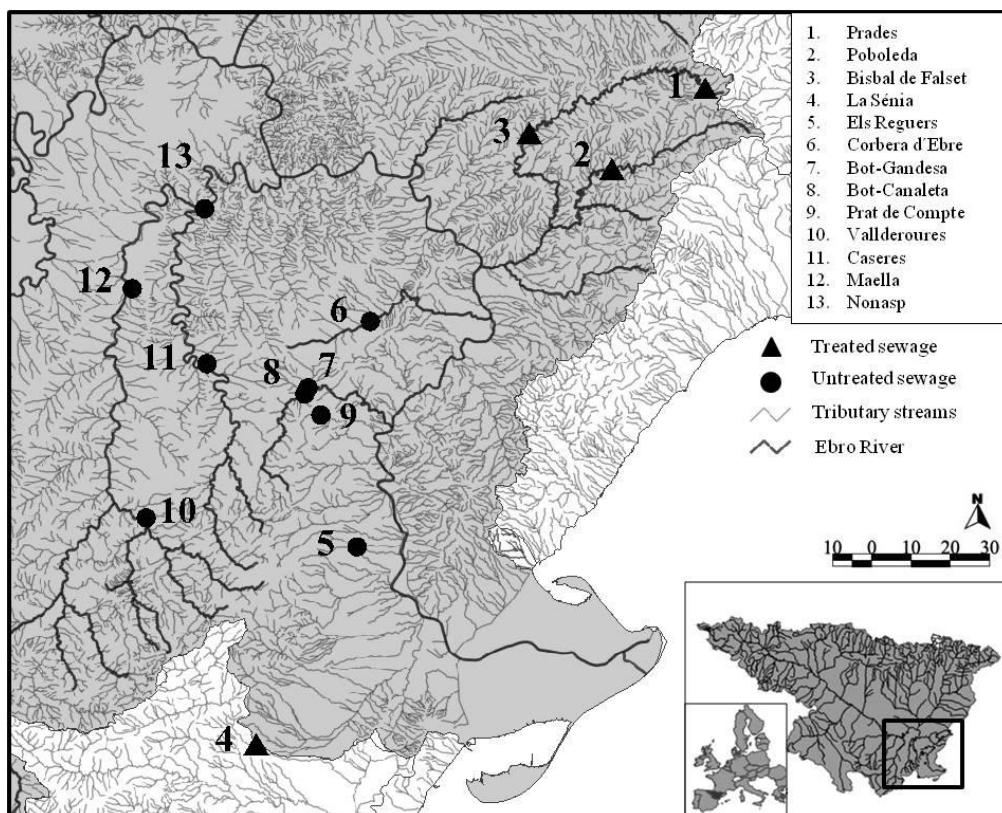
Ondorioz, esperimentu honetan kutsadura urbanoaren eta aldaketa hidrologikoaren arteko elkarreragina aztertu genuen ibai-ekosistemen funtzionamenduan. Helburu horrekin, 13 erreka mediterraneo aukeratu genituen, HUAetan tratatutako edo inolako tratamendurik gabeko efluenteak jasotzen zituztenak, eta diluzio-gaitasun desberdina aurkezten zutenak. Guk aurresan genuen bai efluente motak baita efluente bakoitzak sistema hartzalean zuen amaierako kontzentrazioak ere, kutsadura urbanoak erreka bakoitzean eragingo zuen inpaktu definituko zuela. Ondorioz, esperimentuan iragarri edo aurresan genuen (i) hondakin uren isurketek uraren ezaugarri fisiko-kimikoak kaltetuko zituztela eta kutsatzaileen kontzentrazioak emendatuko zituztela, (ii) uraren ezaugarri kimikoetan emandako aldaketa horiek ekosistemen funtzionamendua eraldatuko zutela hondakin uren efluenteetatik behera, tasa metabolikoak, deskomposizioa edota biofilmaren hazkuntza emendatuz, baina mantenugaien atxikimendu-gaitasuna murriztuz, eta (iii) kutsadura urbanoaren eta aldaketa hidrologikoaren arteko elkarreraginak azalduko zuela erreken funtzionamenduan deskribatutako aldakortasuna.

Material eta metodoak

Ikerketa-area eta esperimentuaren diseinua

Ikerketa hau Ebro Ibaiaaren behealdeko ibaiadar txikietan burutu genuen (Iberiar Penintsulako ipar-ekialdean) (1. irudia). 2 eta 4 ordenen arteko 13 erreka aukeratu genituen, basoak eta lehorreko nekazal jarduerak nabarmentzen ziren kareharriz osatutako drainatze-arroetatik igarotzen zirenak. Erreka guztiak urtaroen arteko emariaren aldakortasun gogorra jasaten zuten klima mediterraneoaren, uraren abstrakzioaren edota lurpeko uren ustiapenaren ondorioz. Erreketako bakoitzean bi tramu definitu genituen, bat efluente urbanoen sarreratik gora (kontrola) eta beste bat behera (inpaktu). Ikerketarako errekkak 2015eko udazkenetik 2016ko udaberriera aztertu genituen.

Esperimentuak errepikatutako bloke osoen berezko diseinua jarraitu zuen (EBO, Casella, 2008), non aztertutako 13 errekek blokeak adierazten zituzten, erreka bakoitzean ezarritako bi tramuak esperimentuaren manipulazioa eta burututako bi laginketek denboran zehar errepikatutako neurketak. Uraren ezaugarri kimikoak, hots, aldagai fisiko-kimikoak, mantenugaiak eta konposatu farmazeutikoki aktiboak (KFAk), bi laginketetan (2015eko udazkena eta 2016ko udaberria) neurtu genituen bitartean, hidrologia eta erantzun funtzionalak bigarren laginketan baino ez genituen aztertu. Erreka bakoitzean, kontrol eta inpaktu tramuak elkarrengandik ahalik eta gertuen ezarri genituen eta hortaz, haien arteko distantzia ehunaka metro gutxi batzuetatik kilometro batzuetara arte aldatzen zen sistema txiki eta handienetan, hurrenez hurren. Arreta berezia ipini genuen aukeratutako tramuetaan presarik edo beste ibaiadarren baten sarrerarik ez egoteko, horrelako nahasketa faktoreek kutsadura urbanoaren efektuak estal ditzaketelako. Azkenik, inpaktu tramuak 500 eta 7.000 biztanle baliokideren arteko herri txikietatik eratortzen ziren araztegietan tratatutako edo inongo tratamendurik gabeko efluenteak jasotzen zituzten (1. irudia).



1. Irudia. Ebro Ibaiaren behealdeko laginketa-puntuak. Triangelu beltzek HUAetan tratatutako efluenteak jasotzen dituzten puntuak adierazten dituzte eta puntuak, ordea, inolako tratamendurik gabeko efluenteak jasotzen dituzten errekak. Lodiera handiagoa duen lerroak Ebro Ibaia adierazten du, eta lodiera txikiagoa dutenek ibaiadarrak. Irudiaren behealdeko eskumako aldean gehitutako mapek laginketa-puntuen kokapena adierazten dute Ebro Ibaiaren arroan, eta Europan.

Uraren ezaugarri kimikoak

Tenperatura (T), pH-a, eroankortasun elektrikoa (EE) eta uraren oxigeno disolbatuaren (OD) kontzentrazioa eskuko zundak erabiliz neurtu genituen (WTW Multi 350i and WTW 340i SET, WTW Wissenschaftlich, Weilheim, Alemania; YSI ProODO handled; YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, AEB). Bestalde, tramu bakoitzean hartutako ur-laginak zuzenean iragazi genituen (0.7 μm -ko poro-tamaina zuten aurretiaz erraututako filtroen bidez, Whatman GF/F, Whatman International Ldt., Kent, Erresuma Batua) eta izoztu, zegozkien analisiak burutu arte. Uretan disolbatutako fosforo errektiboaren (DFE) kontzentrazioa [molibdatoaren metodoa (Murphy eta Riley, 1962)] eskuz neurtu genuen argi-iturri bikoitza zuen UV-1800 UV-Vis espektrofotometroa erabiliz (Shimadzu, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonia). Anioi [nitrato (N-NO_3^-) eta nitrito (N-NO_2^-)] eta katioi [amonio (N-NH_4^+)] nagusien kontzentrazioa, ordea, kromatografia bidez aztertu genuen Dionex ICS-5000 ioi kromatografo baten bidez (Dionex Corporation, Sunnyvale, AEB). Azkenik, uretan disolbatutako karbono organikoaren (DKO) kontzentrazioa oxidazio katalitiko bidez neurtu genuen, TNM-1 modulu batera akoplaturako Shimadzu TOC-V CSH analizatzaile bat erabiliz (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonia).

Bestalde, konposatu farmazeutikoki aktiboen (KFAk) kontzentrazioa ere neurtu genuen, ur urbanoetan dauden mikrokutsatzaila ugarienetakoak kontsideratuak baitira. Orokorean, konposatu horiek kutsatzaile sasi erresistentzat hartzen dira, ur-inguruneetan edota komunitate biologikoetan kalte larriak eragin ditzaketelako (Ellis, 2006). KFAen konposatuuen analisiak Gros eta lankideek (2012) deskribatutako metodologiari jarraiki burutu genituen. Laburki azalduta, analisiak konexiorik gabeko fase edo egoera solidoen erauzketari jarraiki, ioiak atxikitzeko tandem masa espektrometriei (UHPLC-QqLIT-MS2) bateratutako zehaztasun altuko irudikapena ahalbidetzen duen kromatografia likidoaren bidez egin genituen. Alde batetik, banaketa kromatografikoak 5500 QTRAP hibrido hirukoitzak ioiak atxikitzeko lau errenkadako masa espektrometroari bateratutako, uraren ezaugarrien azterketarako zehaztasun altuko irudikapena baimentzen zuen kromatografia likidoan oinarritzen zen sistemaren bidez egin genituen (Applied Biosystems, Foster City, CA, AEB), ioien iturri azkarra zen aerosol bat erabiliz. Bestalde, kuantifikazioa isotopoien diluzioaren bidez egin genuen. Azkenik, analisietan lortutako datu guztiak Analyst 1.5.1 softwarea erabiliz lortu eta prozesatu genituen. Konposatu farmazeutiko aktiboen (KFAk) analisiak egiteko jarraitutako metodologiaren informazio zehatzagoa Mandaric eta lankideek (2018) egindako lanean aurki daiteke.

Hidrologia

Erreken parametro hidraulikoak kalkulatzeko, uraren batez besteko abiadura eta emaria hain zuen, tramu bakoitzean NaCl gatzaren bat-bateko adizioak egin genituen, eta denboran zehar eroankortasun elektrikoak (EE) marrazten zuen kurbak erabiltzen genituen. Kontrol eta inpaktu tramu bakoitzaren datuak egun berdinean lortzen genituen. Uraren batez besteko abiadura kalkulatzeko ($m s^{-1}$), aukeratutako tramuaren distantzia eroankortasun maximoak tramu amaierara heltzeko behar zuen denboragatik zatitzen genuen. Uraren emaria kalkulatzeko masa-balantzearen hurbilketa erabili genuen, zeinetan eroankortasun elektrikoaren datuak kloruro kontzentrazioaren baliokide bezala erabili baikenituen (Martí eta Sabater, 2009). Gainera, tramuetako bakoitzean habitat fisikoa ere deskribatu genuen, ibilgu bustiaren zabalera neurtuz 10 metrotik behin. Horrez gain, tramu bakoitzean uraren maila neurtzeko zundak kokatu genituen (Solinst Levelogger Edge 3001; Solinst Canada Ltd., Georgetown, AEB), esperimentuak iraun bitartean presio absolutua eta uraren tenperatura neurtzeko. Ondoren, datu horiek presio atmosferikoarenkiko zuzentzen genituen, tramuetako batzuetan kokatutako beste zunda batzuek erregistratutako datuen bidez (Barologger, Solinst Levelogger Edge 3001). Azkenik, datu horiek erabilita estres hidrologikoaren hurbilketa bat kalkulatu genuen tramu bakoitzeko, uraren maila 5 cm-tik behera mantendu zeneko egun kopuru totalaren bidez (Acuña *et al.*, 2005).

Erantzun-aldagaiak

Erreken erantzun funtzionala habitat eta ekosistema-mailako prozesu desberdinak neurtuz aztertu genuen. Alde batetik, habitat-mailako erantzunak biofilmaren jardueraren, biomasaren hazkuntza tasa eta uretan disolbatutako fosforo erreaktiboa atxikitzea gaitasuna neurtuz, eta komunitate mikrobiar heterotrofoaren jardueraren bidez aztertu genituen, materia organikoa deskonposatzeko zuten gaitasuna neurtuz. Beste aldetik, ekosistema-mailako erantzuna tramu-mailako zenbait prozesu-gako neurtuz aztertu genuen, tramu-mailako mantenugai-atxikimenduaren eta metabolismoaren bidez, alegia.

Biofilmaren funtzionamendua

Biofilmaren jarduera biomasaren hazkuntza-tasaren eta uretan disolbatutako fosforo erreaktiboa (DFE) atxikitzea gaitasunaren bidez neurtu genuen biofilm-eraamaileak izeneko substratu artifizialak erabiliz. Biofilm-eraamaileak azalera-bolumen erlazio oso altua duten substratu artifizial txiki batzuk dira, orokorrean akuarioetan erabiltzen direnak biofilmaren atxikimendua errazteko. Horregatik, erreketan egindako beste ikerketa batzuetan ere, substratu estandar gisa erabiliak izan dira (Baldwin *et al.*, 2003; Elosegi *et al.*, 2018). Guk esperimentuan plastikozko eraamaile kubikoak erabili genituen (2.5 cm-ko kuboak, SERA GmbH D52518, Heinsberg, Alemania). Lehenengo laginketan, tramu bakoitzean 5 biofilm-eraamaile kokatu genituen zoriz aukeratutako bost lekuetan (2015eko udazkena), pitaren bidez zuhaitzen sustraiei edota metalezko barrei lotuta. Biofilmaren

hazkuntza ahalbidetzeko 6 hilabetez utzi genituen errekan inkubatzen eta denbora hori igaro ondoren, jaso genituen (2016ko udaberria). Jaso ondoren, errekako urarekin mantentzen genituen plastikozko pote ilunetan eta laborategira garraiatzen genituen, non, zuzenean entsegu bat burutzen baikuenen biofilmak uretan disolbatutako fosforo erreaktiboa atxikitzea zuen gaitasuna neurtzeko. Behin entseguam aituta, biofilm-eraamaileak plastikozko poltsa txikietan banaka izozten genituen ondorengo biomasaren neurketarako.

Biofilmaren uretan disolbatutako fosforo erreaktiboaren atxikimendu-gaitasuna aztertzeko (DFEAG, $\mu\text{g P h}^{-1}$), lehenik eta behin biofilm-eraamaileak aklimataziorako sortutako soluzio baten 200 mL-tan inkubatu genituen agitatzale orbital baten bidez (inkubaziorako baldintzak: 30 min, 100 bira minutuko agitazio-abiadura, 20 °C eta argia $\sim 180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Agitator-Incubator INF-66123 Multitron Standard, BIOGEN Científica S.L., Madril, Spainia), mikromantenuagaien eskuragarritasuna bermatzeko diseinatu genuena [1:5 karbonatutako Perrier ur-minerala (Nestlé, Vergèze, Frantzia): desionizatutako ura]. Aklimatazioaren ondoren, biofilm-eraamaileak banaka murgiltzen genituen soluzio berdinaren 60 mL-tan baina fosforoa gehitura (K_2HPO_4 , 10 mM = 310 mg P L⁻¹), 5 μM -eko amaierako kontzentrazioa lortzeko (155 $\mu\text{g P L}^{-1}$), eta baldintza berdineta inkubatzen genituen beste ordubetez. Amaierako kontzentrazio hori aukeratu genuen biofilmarentzako asebetetze-baldintzak ziurtatzeko baina aldi berean, inkubazioan zehar mantenugaien beherakada ikusi eta mantenugaien atxikimendua kalkulatu ahal izateko. Inkubazioaren ondoren, pote bakoitzetik 10 mL ur iragazten genituen pote bakoitzetik (0.7 μm -ko poro-tamaina, Whatman GF/F) eta laginak izoztuta mantentzen genituen zegozkien analisiak burutu arte. Kolonizatutako substratuekin batera, kontrol tratamenduak edo zuriak ere inkubatzen genituen kolonizatu gabeko biofilm-eraamaileak erabiliz (n = 3 inkubazioko). Azkenik, biofilmaren fosforoaren atxikimendu-gaitasuna zurien eta kolonizatutako substratu artifizialen arteko batez besteko fosforo kontzentrazioaren diferenciaren bidez kalkulatu genuen, betiere inkubaziorako erabilitako ur-bolumena (L) eta denbora (h) kontutan hartuta.

Biofilm-eraamaileak errekan inkubatzen egon ziren 6 hilabeteetan emandako biomasaren hazkuntza-tasak kalkulatzeko (BHT, $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$), eraamaileetan hazitako biofilma erautzten genuen. Horretarako, eraamaileak 100 mL ur desionizatuan sartzen genituen eta zelulak apurtzeko erabili ohi den ultrasoinuen Brandson sonikadore baten bidez (Branson Ultrasonic TM, Branson Ultrasonic Corporation, Emerson Electric, AEB) biofilma banatzen genuen, pultsuen hiru minutu (%70eko anplitudean) eta amplitude berdinean baina modu konstantean aplikatutako bi minutu konbinatzu. Eraamaile bakoitzetik lortutako nahasketak (“biofilm-zopa”) aurretxi pisatutako beira-zuntzezko filtroetan iragazten genuen (0.7 μm -ko poro-tamaina, Whatman GF/F), lehortu (70 °C, 72 h), pisatu, errauztu (500 °C, 5 h) eta berriro ere pisatzen genituenak errautsik gabeko pisu lehorra kalkulatzeko (EGPL). Ondoren, errautsik gabeko pisu lehorren balioak substratu artifizialen azaleragatik eta errekan inkubatzen egon zireneko egun kopuruagatik zuzentzen genituen, lortutako emaitzak azalera unitateko eta egun bakoitzean emandako hazkuntzagatik adierazteko.

Materia organikoaren deskonposizioa

Materia organikoaren deskonposizioa (MOD) makal kanadarraren tratatu gabeko egurrarekin (*Populus nigra x canadensis*, Moench) egindako mihi-depresoreak (makiltxoak, 15 x 1.8 x 0.2 cm) erabiliz neurtu genuen (Arroita *et al.*, 2012). Egurrezko makiltxoak banaka identifikatu, zulatu, lehortu (70°C, 72 h) eta pisatu genituen. Mihi-depresore bakoitzta pitarekin lotu genuen eta erreka bakoitzeko tramuetako bakoitzean zoriz aukeratutako 5 lekuetan kokatu genituen, pitaren bidez zuhaitzen sustraiei edota metalezko barrei lotuta. Makiltxoak errekan 6 hilabetez inkubatzen egon ondoren, jaso genituen. Behin errekatik ateratzean, makiltxoak laborategiko iragazki-paperean banaka gorde genituen eta laborategira eraman. Laborategian makiltxoak urarekin garbitu genituen haien gainazalean gera zitezkeen partikula mineralak kentzeko, lehortu (70°C, 72 h), pisatu, erraustu (500°C, 5 h) eta berriro ere pisatu genituen errautsik gabeko pisu lehorra kalkulatzeko (GPL). Esperimentuan erabilitako makiltxo guztien hasierako pisu lehorra lixibiazioagatik zuzendu genuen, Arroitak eta lankideek (2012) deskribatutako prozedura berdinari jarraiki. Horrez gain, esperimentuan zehar makiltxoetako batzuk apurtu egin ziren eta kasu horietan, errekuperatu genituen makil zatien azalera erreferentzia gisa erabilita, mihi-depresoreen masa totala estimatu genuen. Materia organikoaren deskonposizio tasak eredu esponentzial negatiboari jarraiki kalkulatu genituen (Petersen eta Cummins, 1974). Hala ere, aztertutako errekek desberdintasun handiak erakutsi zituztenez temperaturari dagokiola, gradu-egunetan oinarritutako koefizienteak erabili genituen ($k_{\text{gradu-egun}}$), datuak temperaturaren efektuagatik zuzentzeko (Cummins *et al.*, 1989). Gradu-egunen kalkulurako, makiltxoak errekan inkubatzen egon artean 0°C-tik gorako gradu-egunen temperatuaren batura egin genuen (hau da, makiltxoak errekan inkubatzen egon zireneko tartean, uraren eguneko batez besteko temperaturak gehitu genituen uraren maila neurtzeko zundek erregistratutako datuen bidez).

Tramu-mailako mantenugaien atxikimendua

Tramu mailako mantenugaien atxikimendua amonioarentzat (NH_4^+ , NH_4Cl moduan) eta uretan disolbatutako fosforo errektiboarentzat (DFE, KH_2PO_4 moduan) neurtu genuen bat-bateko adizioen bidez (Martí eta Sabater, 2009). Bi mantenugaia errekako uraren 30 litrotan disolbatu genituen NaCl gatzarekin batera, trazataile kontserbadore hidrologiko gisa erabiltzen genuena (Bencala *et al.*, 1987). Aztertutako tramuen artean, hirutan ezin izan genuen mantenugaien atxikimenduaren kalkulurako adiziorik egin, tramuak erabat lehor baitzeuden edota erabat gelditutako uren deskonektatutako ur-putzu isolatuak baino ez baitzituzten erakutsi. Laginketa bakoitzean, prestatutako soluzioa bat-batean askatzen genuen errekkako tramu bakoitzaren goialdean, errekkako urarekin nahasketa azkarra ziurtatzen zen lekuetan. Tramu abkoitzaren amaieran, eroankortasun elektrikoaren (EE) balioak 10 segundoro automatikoki hartzenten genituen EE neurtzeko eskuko zunda baten bidez (WTW 340i SET), adizioaren hasieratik baldintza basalak itzuli arte. Errekan askatutako ur-masa gazia tramuaren amaieratik igarotzen zen heinean, 25 ur-lagin hartzen genituen mantenugai

bakoitzarentzat, zuzenean iragazten genituen ($0.7 \mu\text{m}$ -ko poro-tamaina, Whatman GF/F) eta izotzta mantentzen genituen zegozkien analisiak burutu arte. Azkenik, mantenugaien atxikimenduaren metrikak kalkulatzeko masa-balantza erabili genuen, eta mantenugaien atxikimendu-gaitasuna azalera unitateko adierazi genuen (U , $\mu\text{g min}^{-1} \text{ m}^{-2}$), bai uretan disolbatutako fosforo erreaktiboarentzat (DFEAA) baita amonioarentzat (NH₄AA) ere. Horrela, ur-zutabeak azalera eta denbora unitateko atxikitzen duen mantenugaien masa edo kantitatea kalkulatu genuen (Martí eta Sabater, 2009)

Tramu-mailako metabolismoa

Ekosistema-mailako metabolismoa ibilgu irekiaren hurbilketa erabiliz neurtu genuen, egunean zehar uretan emandako uraren oxigeno disolbatuaren aldaketen bidez (Odum, 1956). Lehenik eta behin, aztertutako erreken tramuetako bakoitzean hidraulikoki homogeneoak ziren azpi-tramuak ezarri genituen. Horrela, azpi-tramuak bakoitzean oxigeno disolbatua (OD) eta tenperatura neurtu genituen 5 minututik behin 24 orduko tarteetan, tramu bakoitzaren hasieran eta amaieran kokatu genituen oxigeno-zunda optikoak erabiliz (YSI 6150 connected to YSI 600 OMS; YSI Inc., Yellow Springs, OH, AEB). Azpi-tramu bakoitzaren baldintza hidraulikoen arabera, emaitzak estazio bateko edo bi estazioko metodoaren bidez aztertu genituen. Guztira, estazio bateko metodoa uraren abiaduraren (v) eta berraireztapen koefizientearen (k) arteko erlazioa 3 aldiz baino luzeagoak ziren 5 azpi-tramutan erabili genuen ($3v k^{-1}$), eta bi estaziodun metodoa, ordea, gainerako tramuetan (Reichert *et al.*, 2009). Mendiko neurketen aurretik eta ondoren, zunda guztiak batera murgiltzen genituen aireztatutako urarekin betetako ontzi batean, zundak haien artean kalibratu ahal izateko. Berraireztapen koefizienteak (k) kalkulatzeko gaueko erregresioaren metodoa jarraitu genuen (Hornberger eta Kelly, 1975). Ahal izan genuen kasu guztieta gau osoko datuak erabili genituen erregresioaren kalkulurako, baina lortutako emaitzak estatistikoki esangarriak ez baziren, ilunabarraren ondorengo denbora-tarte desberdinak erabili genituen (5 edo 3 ordu, adibidez) erregresioaren balioak hobetzeko. Bestalde, uraren bidaiatze-denbora (T , min) kalkulatzeko, azpi-tramu osoak barneratzeko egin genituen ondoz ondoko gatz adizioen eroankortasun maximoak tramu amaierara heltzeko behar zuen denboragatik zatitzen genuen neurten genuen (Hubbard *et al.*, 1982). Azkenik, egunean ematen ziren uraren oxigeno disolbatuaren (OD) gorabeheren bidez ekosistemaren arnasketa (EA), metabolismo garbia (EMG) eta ekoizpen primario gordina (EPG) kalkulatu genituen ($\text{g O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). Ekosistemaren arnasketa gauen zehar emandako oxigeno disolbatuaren ekoizpenaren eta egunean zehar emandako oxigeno disolbatuaren arnasketaren bidez kalkulatu genuen, zeina aztertu nahi genuen egunaren aurreko ilunabarraren eta ondorengo egunsentziaren arteko metabolismo garbiaren balioen interpolazio zuzenaren bidez kalkulatzen genuen. Ekosistemaren metabolismo garbia aztertutako 24 ordu horietan emandako metabolismo garbiaren baturaren bidez kalkulatu genuen. Eta azkenik, ekoizpen primario gordina arnasketaren eta metabolismo garbiaren arteko diferenciaren bidez kalkulatu genuen.

Datuene analisia

Aurretiaz aipatutako informazioa erabilita, sei datu-matrizetan sortu genituen. Lehenengo matrizetan uraren zortzi ezaugarri kimikoak barneratzen zituen (hots, pH-a, eroankortasun elektrikoa (EE), oxigeno disolbatua (OD) eta amonio, nitrito, nitrato, disolbatutako fosforo erreaktiboaren eta karbono organikoaren kontzentrazioak). Bestalde, ur-laginetan detektatutako 80tik gorako konposatu farmazeutiko aktiboak (KFAk) haientzat egitura kimikoaren eta akzio-mekanismo zehatzaren arabera sailkatu genituen, eta horrela, beste aldagai berri batzuk sortu genituen haien kontzentrazioen baturaren bidez (S1 Taula, S1 Apendizearen barnean). Ondorioz, bigarren datu-matrizetan biozida moduan sailkatu genituen 8 konposatu farmazeutiko aktiboen taldeak barneratzen zituen (hala nola, AbMakrolidoak, Metronidazola, Ofloxazinoa, Ronidazola, Sulfametoxazola, Tiabendazola, Trimetropina eta Lebamisola), eta hirugarren datu-matrizetan, aitzitik, droga ez-biozida gisa sailkatu genituen 21 konposatu farmazeutiko aktiboen taldeak barneratzen zituen (Azetaminofena, ARBak, Benzodiazepina, β -Blokeaitzaileak, Karbazepamina, CCBak, Klopidoogrela, Fibratea, Glibenklamidea, H₂Antagonistak, Iopromida, Henle-lakioko diuretikoak, Loratadinea, NSAIDak, Opioideak, Salbutamola, SSRIak, Statina, Tamsulosina, Trazodonea eta Benlafaxinea). Bestalde, laugarren datu-matrizetan sei ezaugarri hidrologiko barneratzen zituen (zehazki, Temperatura, Uraren emaria, Bustitako perimetroaren zabalera, Uraren batez besteko abiadura, Ibilguaren sakonera eta Estres hidrologikoa). Bosgarren datu-matrizetan neurtutako zazpi erantzun funtzionalak barneratzen zituen (hau da, biofilmaren biomasaren hazkuntza-tasa (BHT) eta uretan disolbatutako fosforo erreaktiboa atxikitzeko gaitasuna (DFEAG), materia organikoaren deskonposizioa (MOD), tramu-mailako mantenugaien atxikimendua uretan disolbatutako fosforo erreaktiboarentzat (DFEAA) eta amonioarentzat (NH4AA) eta ekosistema-mailako metabolismoa (ekoizpen primario gordina, EPG, eta ekosistemaren arnasketa, EA). Azkenik, seigarren datu-matrizetan laginketa-puntuen kokapen geografikoa barneratzen zuen (latitudea eta longitudea, hain zuzen).

Behin datuen forma eta kolinalitatea aztertu genuela (Tukey, 1977), aldagai bakarreko edota aldagai anitzeko analisiak burutu genituen Tratamenduaren efektuak aztertzeko (Kontrola vs. Inpaktua). Gainera, bi laginketetan neurtu genituen uraren ezaugarri kimikoei zegozkien aldagaietan (aldagai fisiko-kimikoak, eta mantenugaiak, bioziden eta droga ez-bioziden kontzentrazioak, hain zuzen) Denboraren efektu ere aztertu genuen (Udazkera vs. Udaberria), uraren ezaugarri kimikoen differentziak urtaroen arabera aldatzen ziren edo ez ikusteko. Aitzitik, denboraren efektu ezin izan genuen aztertu erreken ezaugarri hidrologikoetan ezta erantzun funtzionaletan ere, bigarren laginketan (2016ko udaberrian) baino ez baikenituen neurtu.

Dimentsio anitzeko eskalamendu ez-metrikoa (DAEeM, Legendre eta Legendre, 2012), erreferentziarik gabeko ordenamendurako teknika, erabili genuen uraren ezaugarri kimikoen, hidrologiaren eta erreken erantzun funtzionalaren gradiente nagusiak distantzia Euklideoen bidez aztertzeko (2. irudia). Bariantzaren aldagai anitzeko analisia (Anderson, 2001; McArdle eta

Anderson, 2001) erabili genuen, distantzia Euklideoetan oinarrituta ere, Tratamenduaren eta Denboraren efektu nagusiak, baita haien arteko interakzioaren efektuak ere, aztertzeko (2. taula). Bi pausuak Rko “vegan” paketearen metaMDS() eta adonis2() funtziot zehatzak erabilita burutu genituen (Oksanen *et al.*, 2018); *p*-balioak 9999 permutazio erabiliz kalkulatu genituen. Aldagai bakarreko analisien kasuan, aldagai anitzeko analisieta aztertutako efektu berdinene eragina aztertzeko, efektu mistoen ereduak erabili genituen (Pinheiro eta Bates, 2000), zegozkien efektuaren tamainak ere kalkulatuz (1. taula). Efektuaren tamainen balioak ingurumen aldagai eta aldagai funtzional indibidualei ezarritako eredu mistoen osteko parametroen estimaren bidez kalkulatu genituen. Azken analisi horiek Rko “nlme” paketearen lme() funtzia erabiliz burutu genituen (Pinheiro *et al.*, 2018). Horrez gain, MuMIn (Barton, 2018) eta sjPlot (Lüdecke, 2018) paketeak ere erabili genituen, R^2 -aren balio estatistikoak eta irudikapen grafikoak lortzeko, hurrenez hurren.

Azkenik, erreken erantzun funtzionalaren eta uraren ezaugarri kimikoen edota hidrologikoen arteko erlazioak aztertzeko, aldagai anitzeko eta aldagai bakarreko analisiak burutu genituen. Aldagai anitzeko analisien kasuan, erredundantzia-analisiak (EDA, Legendre eta Legendre, 2012) erabili genituen, pausuz pausuko aldagaien aukeraketarekin eta bariantzaren partizioarekin konbinatuz (Borcard *et al.*, 1992). Hala ere, erreken erantzun funtzionalak eskala desberdineta neurtu genituenez, analisiak egin baino lehen datuak batez besteko balioa kenduz eta desbiderapen estandarrarengatik zatitz estandarizatu genituen. Horrez gain, aldagai funtzionalak espazialki auto-korrelatuta zeudenez, analisiak egin baino lehen datuek erakusten zuten tendentzia espaziala kendum genuen (auto-korrelazio espazialak asko eragiten baitu eredu aukeraketa-prozesuan). Alabaina, erantzun-aldagaien tendentzia espaziala kendum genuenez, aldagai esplikatzaileen beste datu-matrizetan ere kendum genuen. Aldagaien pausuz pausuko aukeraketa bi urratsetan aplikatu genuen. Alde batetik, pausuz pausuko prozedura aplikatu genuen (lau) eredu partzial onenak aukeratzeko, hau da, erreken erantzun funtzionalaren aldagai anitzeko aldakortasuna hobeto azaltzen zuten ereduak aukeratzeko. Horretarako, uraren ezaugarri fisiko-kimikoak, biozidak, droga ez-biozidak eta hidrologia, bakoitzaz bere aldetik aztertu genituen. Hortaz, eredu esplikatzaile horiek EDA eredu partzial (independente) bezala izendatu genituen (3. taula). Prozedura horietako bakoitzean aukeratutako aldagaiak konbinatuz, ekosistemaren funtzionamendua azaltzen zuen eredu ez-zuhurra lortu genuen, lau aldagai-taldeen artean 13 aldagai esplikatzaile baino ez barneratzen zituen (ikus 3. taulan). Aurretiaz deskribatutako prozedura honek talde bakoitzaren aldagaien arteko auto-korrelazioa kontutan hartzen zuen (bioziden artekoa, ezaugarri hidrologikoen artekoa, ...), baina ez zuen kontutan hartzen, ordea, talde desberdineta sailkatutako aldagaien artean egon zitekeena. Hori dela eta, bariantzaren inflazio faktoreek eta ondoren egindako bariantzaren partizioak (3. irudia), erakusten zuten sortutako EDA eredu ez-zuhurak auto-korrelazio espazialaren iturri desberdinak eduki zitzakeela. Ondorioz, bigarren urratsean, pausuz pausuko aldagaien aukeraketa osagarria burutu genuen aurretiaz aukeratutako 13 aldagai esplikatzaileetan. Horri esker EDA eredu zuhurra lortu genuen (4. taula eta 4-5. irudiak). Azkenik, aldagai bakarreko analisien kasuan, eredu zuzen orokortuak (EZO) aplikatu genituen (Madsen eta Thyregod, 2010) (5. taula eta 6. irudia).

Datu analisi guztiak burutzeko R software askea erabili genuen (R Core Team 2017).

Gainera, garatutako R kodea (S2 Apendizea) eta datuak (S3 Apendizea) lan honekiko osagarriki eskaintzen ditugu jarraitutako metodoak guztiz errepikatu ahal izateko.

Emaitzak

Uraren ezaugarri kimikoak

Hondakin uren efluentek esangarriki kaltetu zituzten uraren ezaugarri kimikoak hamahiru erreketako Inpaktu tramuetan (2A.1 Taula, S3 Taula eta S1 Irudia). Efluenteen sarretatik behera pH-a eta uraren oxigeno disolbatua (OD) esangarriki murriztu ziren, nahiz eta eroankortasun elektrikoa (EE) ez zen esangarriki aldatu Kontrol eta Inpaktu tramuen artean (1A.1 Taula, S4-S5 Taulak). Efluentek, gainera, esangarriki emendatu zituzten mantenugai gehienetan kontzentrazioa, nitrito, amonio, disolbatutako fosforo errektiboaren eta karbono organikoaren kontzentrazioak alegia, nitratoaren kontzentrazioa izan ezik, ez baitzen esangarriki aldatu aztertutako Kontrol eta Inpaktu tramuen artean (1A.1 Taula, S4-S5 Taulak). Horrez gain, ezaugarri kimiko horietako batzuk bi laginketa-sasoien artean aldatu ziren, nahiz eta tratamenduaren eta denboraren arteko interakzioa ez izan estatistikoki esangarria, tratamenduen arteko diferentziak ez zirela denboraren araberakoak erakutsiz (2A.1 Taula, S4-S5 Taulak). Alabaina, uraren oxigeno disolbatuaren (*doitutako R²* = %37), pH-aren (*doitutako R²* = %24) eta nitritoaren (*doitutako R²* = %94) kasuan ezin ezik, hondakin uren efluentek edota denboran zehar errepikatutako laginketek uraren ezaugarrietan azaltzen zuten aldakortasuna minimoa izan zen.

1. Taula. Hondakin uren efluenteen (Tratamendua) eta laginketa-sasoien (Denbora) efektuaren tamaina, bai aldagai esplikatzairen baita funtzionalentzat ere. Emaitzak Kontrolekiko alderatuz Inpaktu tramuetan eta udazkenekiko udaberrian behatutako aldaketaren portzentaje gisa adierazten dira. Denboraren efektuaren tamaina (udazkena vs. udaberria) *Uraren Ezaugarri kimikoentzat* baino ez genuen kalkulatu, gainontzeko aldagaiak behin bakarrik neurtu baikenituen (udaberrian). Tratamenduak eta Denborak eragin esangarriek ez badute, efektuaren tamainak ez dira erakusten (gidoiaren bidez adierazita). Tratamenduak eta Denborak eragin esangarria badaukate, ordea, efektuaren tamainak dagozkienean balioekin adierazten dira. Kasu horietan, gezi berdeek aldaketa positiboak adierazten dituzte eta gezi gorriek, ordea, aldaketa negatiboak.

Erantzuna	Efektuaren Tamaina _{Tratamendua} (%)	Efektuaren Tamaina _{Denbora} (%)
A) Uraren ezaugarri kimikoak		
1) <i>Ezaugarri fisiko-kimikoak eta mantenugaiak</i>		
pH	↓ 3	↑ 2
EE (μS cm ⁻¹)	-	↓ 11
OD (mg L ⁻¹)	↓ 40	↑ 25
NO ₃ ⁻ (mg N L ⁻¹)	-	-
NO ₂ ⁻ (mg N L ⁻¹)	↑ 1000	-
NH ₄ ⁺ (mg N L ⁻¹)	↑ 107	↓ 0.3
DFE (mg P L ⁻¹)	↑ 48	↓ 3

DKO (mg C L ⁻¹)	↑ 59	-
2) Bioziden kontzentrazioa		
AbMakrolidoak (ng L ⁻¹)	↑ 259	-
Lebamisola (ng L ⁻¹)	↑ 3071	-
Metronidazola (ng L ⁻¹)	-	↓ 31500
Oflloxazina (ng L ⁻¹)	↑ 730	↓ 48
Ronidazola (ng L ⁻¹)	-	-
Sulfametoxazola (ng L ⁻¹)	-	↓ 87
Tiabendazola (ng L ⁻¹)	-	-
Trimetropina (ng L ⁻¹)	-	-
3) Droga ez-bioziden kontzentrazioa		
Azetaminofena (ng L ⁻¹)	↑ 23629	↑ 93
ARBak (ng L ⁻¹)	↑ 2369	-
Benzodiazepinak (ng L ⁻¹)	↑ 471	-
B-Blokeatzaileak (ng L ⁻¹)	↑ 19840	-
Karbazepamina (ng L ⁻¹)	↑ 1242	-
CCBak (ng L ⁻¹)	↑ 370	-
Klopidotogrela (ng L ⁻¹)	↑ 2000	↓ 100
Fibrateak (ng L ⁻¹)	↑ 3836	-
Glibenklamida (ng L ⁻¹)	-	-
H ₂ Antagonistak (ng L ⁻¹)	-	-
Iopromida (ng L ⁻¹)	↑ 800	↑ 767
Henle-lakioko diuretikoak (ng L ⁻¹)	↑ 1545	-
Loratadinea (ng L ⁻¹)	-	-
NSAIDak (ng L ⁻¹)	↑ 2210	-
Opiodeak (ng L ⁻¹)	↑ 4833	-
Salbutamola (ng L ⁻¹)	-	↑ 600
SSRIak (ng L ⁻¹)	-	-
Statina (ng L ⁻¹)	↑ 912	-
Tamsulosina (ng L ⁻¹)	-	-
Trazodonea (ng L ⁻¹)	↑ 2000	-
Venlafaxina (ng L ⁻¹)	↑ 1350	-
B) Hidrologia		
Tenperatura (°C)	-	-
Uraren emaria (m ³ s ⁻¹)	-	-
Zabalera (m)	-	-
Batez besteko abiadura (m s ⁻¹)	-	-
Sakonera (m)	-	-
Estres hidrologikoa (egunak)	-	-
C) Ekosistemaren funtzionamendua		
Biofilmaren biomasaren hazkuntza-tasa (g m ⁻² d ⁻¹)	↑ 83	-
Biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasuna (μg P h ⁻¹)	↓ 111	-
Tramu-mailako fosforo atxikimendu-azalera (μg P m ⁻² min ⁻¹)	-	-
Tramu-mailako amonio atxikimendu-azalera (μg N m ⁻² min ⁻¹)	↑ 11650	-
Ekoizpen primario gordina (mg O ₂ m ⁻² d ⁻¹)	-	-

Hondakin uren efluenteeek (Tratamendua), laginketa-sasoiek (Denbora), eta Tratamenduaren eta Denboraren arteko interakzioak, uraren bioziden kontzentrazioan eragin esangarria izan zuten (2A.2 Taula, S7 Taula and S3 Irudia). Biozideetako batzuek, Metronidazola, Ronidazola, Sulfametoxazola, Tiabendazola eta Trimetoprima alegia, ez zuten desberdintasun esangarriak erakutsi tramuen artean, baina beste batzuk esangarriki emendatu ziren Inpaktu tramuetan, hala nola, AbMakrolidoak, Lebamisola eta Ofloxazina (1A.2 Taula, S8-S9 Taulak). Horrez gain, bioziden kontzentrazioa esangarriki aldatu zen laginketa-sasoien arabera, eta tratamenduaren eta denboraren arteko interakzioa ere estatistikoki esangarria izan zen (2A.2 Taula, S8-S9 Taulak), bioziden kontzentrazioa laginketa-sasoien arabera alda zitekeela erakutsiz. Lebamisola, Metronidazola eta Ofloxazinaren kasuan, hondakin uren efluenteeek eta laginketa-sasoiek behatutako aldakortasunaren %90a baino gehiago azaldu zuten.

2. Taula. Ingurumen-aldagai esplikatzaileei eta aldagai funtzionalei aplikatutako bariantzaren permutazio-bidezko aldagai anitzeko analisiak. Kasu bakoitzean, aldagai anitzeko aldakortasuna distantzia Euklideoen matrizearen bidez adierazi genuen, zeina Tratamendu (Kontrol vs. Inpaktu), Denbora (2015eko udazkena vs. 2016 udaberria) eta haien arteko interakzioaren arabera banandu genuen. Lagindutako erreken artean, bi ez ziren analisia barneratu (La Sènia eta Els Reguers), faltan zituztelako datuetako batzuk (teknika honek ezin baitio datuen desorekari aurre egin). Hortaz, analisi honetarako 11 erreka baino ez ziren kontutan hartu. Azkenik, askatasun-graduak aldakorrak izan daitezke, aldagietako bakoitzak eskura dituen laginketa-sasoien arabera (bat vs. bi).

Iturria	n, d.f.	MS	F-balioa	p-balioa	R ² (%)
A) Uraren ezaugarri kimikoak					
1) Ezaugarri fisiko-kimikoak eta mantenugaiak					
Tratamendua	1, 43	44,67	8,92	0,014	13
Denbora	1, 43	11,21	4,10	0,004	3
Tratamendua x Denbora	1, 43	1,83	0,67	0,637	-
2) Bioziden kontzentrazioa					
Tratamendua	1, 43	17,87	3,05	0,110	-
Denbora	1, 43	14,54	3,03	0,001	6
Tratamendua x Denbora	1, 43	9,35	1,99	0,021	4
3) Droga ez-bioziden kontzentrazioa					
Tratamendua	1, 43	115,17	4,60	0,058	13
Denbora	1, 43	22,19	2,28	0,041	3
Tratamendua x Denbora	1, 43	21,67	2,23	0,046	2
B) Hidrologia					
Tratamendua	1, 21	178,60	1,06	0,331	-
Denbora	-	-	-	-	-

C) Ekosistemaren funtzionamendua

Tratamendua	1, 21	19,31	4,76	0,002	16
Denbora	-	-	-	-	-

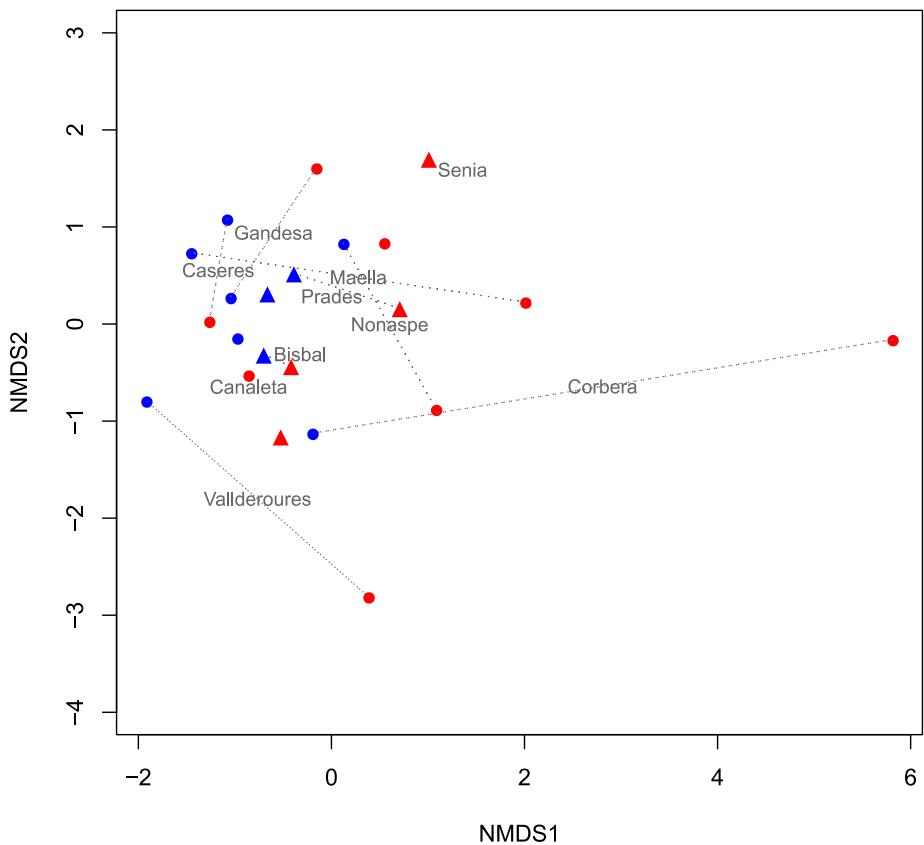
Droga ez-bioziden kontzentrazioa esangarriki altuagoa zen Inpaktu tramuetan (2A.3 Taula, S11 Taula eta S5 Irudia). Nahiz eta droga ez-biozida gehienak Inpaktu tramuetan esangarriki emendatu ziren, bereziki nabarmena izan zen Azetaminofenaren, ARBen, β -Blokeatzailleen, Fibratoen, Henle-lakioko diuretikoen eta NSAIDen kontzentrazioen kasuan (1A.3 Taula, S12-S13 Taulak). Hala ere, droga ez-biozida ez ziren esangarriki aldatu tramuen arabera, hala nola, Glibenklamidak, H₂Antagonistak, Loratidinea, Salbutamola, SSRIak eta Tamsulosina (1A.3 Taula, S12-S13 Taulak). Horrez gain, laginketa-sasoiak (Denbora) baita Tratamenduaren eta Denboraren arte interakzioak ere, eragin estatistikoki esangarria izan zuten (2A.3 Taula, S12-S13 Taulak), tramuen arteko desberdintasunak laginketa-sasoien araberakoak izan daitezkeela erakutsiz.

Hidrologia

Erreken ezaugarri hidrologikoak aldaketarik jasan gabe mantendu ziren hondakin uren efluenteen aurrean, Inpaktu tramuetako uraren batez besteko abiadura, emaria, temperatura, ibilgu hezearen zabalera, sakonera eta estres hidrologikoa, alegia (2B Taula, S16-S17 Taulak). Hortaz, hondakin uren efluenteek ez zuten eragin esangarrik izan erreken hidrologian (2B Taula, S15 Taula eta S7 Irudia).

Ekosistemaren funtzionamendua

Hondakin uren efluenteek eragin esangarria izan zuten erreken funtzionamenduan, nahiz eta efektuak askoz ere nabarmenagoak ziren errekok tratatu gabeko efluenteak jasotzen zituztenean (2C Taula, 2. irudia and S19 Taula). Hala ere, efektuaren noranzkoa esangarriki aldatu zen aztertutako prozesuen arabera. Biofilmaren biomasaren hazkuntza, tramu-mailako amonioaren atxikimendua eta ekosistemaren arnasketa esangarriki emendatu ziren bitartean, biofilmaren disolbatutako fosforo erreaktiboa atxikitzeko gaitasuna esangarriki murriztu zen. Gainerako prozesuak, ordea, eragin esangarrik jasan gabe mantendu ziren, hala nola, tramu-mailako fosforoaren atxikimendua, ekoizpen primario gordina eta materia organikoaren deskonposizioa (1C Taula, S20-S21 Taulak).



2. Irudia. Baix Ebreko eskualdeko gradiente nagusiak ibai-ekosistemen funtzionamenduari dagokiola, dimensio anitzeko eskalamendu ez-metrikoaren (DAEeM) bidez deskribatutakoak. Inpaktu tramuak kolore gorriaz daude adierazita eta kontrol tramuak, ordea, urdinez. Ikusi HUAetan tratatutako efluentek (triangeluak) eta tratatu gabeko efluentek (borobilak) jasotzen dituzten erreken arteko desberdintzapena ere eginda dagoela. Estresa = 0,12; ordenazioaren doikuntzaren egokitasun ez-metrikoa: $R^2 = 0,987$; ordenazioaren doikuntzaren egokitasun lineala: $R^2 = 0,961$. Pobleda eta La Bisbal errekok (irudian ez dira haien izenak erakusten pilaketa ulergaitzak ekiditeko) Prat de Compte eta Prades erreketatik oso gertu daude, hurrenez hurren.

Erreken funtzionamendua aurresateko eta azaltzeko emaitzak: EDA eredu ez-zuhurrak

Aldagaien aukeraketarako prozedura independenteak aplikatuz, lau EDA eredu partzial (independenteak) eraiki genituen erreken funtzionamenduaren aldagai anitzeko aldakortasuna azaltzeko, (A) bakarrik uraren ezaugarri kimikoentzako (3A Taula; *doitutako R²* = 14%, bi ingurumen aldagai baino ez erabiliz: uretan disolbatutako fosforo erreaktiboa eta karbono organikoa), (B) bakarrik biozidentzako (3B Taula; *doitutako R²* = 52%, lau ingurumen aldagai erabiliz: AbMakrolidoak, Tiabendazola, Ofloxazina eta Sulfametoazola), (C) bakarrik droga ez-biozidentzako (3C Taula; *doitutako R²* = 64%, bost ingurumen aldagai erabiliz: Opioideak, Iopromida, Salbutamola, NSAIDak eta SSRIak), eta (D) bakarrik hidrologiarentzako (3D Taula; *doitutako R²* = 34%, bi ingurumen aldagai baino ez erabiliz: Uraren batez besteko emaria eta perimetro bustiaren zabalera). Eraikitako eredu partzial hauek, zeintzuek ingurumen aldagai guztien artean gutxi batzuk baino ez zituzten erabili, desberdintasun handiak erakutsi zituzten bakoitzak

ekosistemaren funtzionamendua azaltzeko zuen gaitasunaren arabera eta eredu bakoitzean aukeratutako aldagai kopuruaren arabera (3. taula).

Lau eredu partzialen adizioaren bidez eraikitako EDA eredu ez-zuhurraren bidez lortutako bariantzaren partizioak (3. irudia), ekosistemaren funtzionamenduan behatutako aldakortasunaren %70a azaldu zuen, 13 ingurumen aldagai baino ez erabiliz. Erreken funtzionamenduaren aldakortasunean ekarpenik handiena ezaugarri fisiko-kimikoek, mantenugaietako eta bioziden eta droga ez-bioziden kontzentrazioek partekatutako frakzioari zegokion (*doitutako R²* = %31). Halaber, biozidek eta droga ez-biozidek partekatutako frakzioak azaldutako ekarpena ere altua zen (*doitutako R²* = %17).

3. Taula. Erredundantzia analisi (EDA) partzialen (independenteak) ereduek erreken funtzionamenduan behatutako aldakortasuna azaltzen dute bakarrik uraren ezaugarri kimikoak (A), bioziden kontzentrazioaren (B), droga ez-bioziden kontzentrazioaren (C) eta hidrologiaren (D) bidez. Kasu guztietan, erantzun-matrizea tendentzia espazialik gabeko eta estandarizatutako aldagai berdinez osatuta dago. Kasu bakoitzean (A-D), neurritako ingurumen aldagai guztietatik egindako aukeraketa pausuz pausuko proceduren bidez egin zen. *p*-balioak permutazio-testen bidez kalkulatu genituen (9999 permutazio).

Iturria	d.f.	Bariantza	F-balioa	p-balioa	Bariantzaren inflazioa
<i>A. Uraren ezaugarri fisiko-kimikoentzako eta mantenugaintzako eredu</i>					
DFE	1	1,847	10,4	< 0,0001	1,8
DKO	1	0,408	2,3	0,060	1,8
Hondarra	19	3,360			
Totala	21	5,616			
Doitutako R^2 = 34%					
<i>B. Biodizen kontzentrazioarentzako eredu</i>					
AbMakrolidoak	1	1,888	14,7	< 0,0001	1,2
Tiabendazola	1	0,657	5,1	0,009	1,2
Ofloksazina	1	0,471	3,7	0,048	1,1
Sulfametoxazola	1	0,418	3,3	0,030	1,3
Hondarra	17	2,181			
Totala	21	5,616			
Doitutako R^2 = 52%					
<i>C. Droga ez-bioziden kontzentraziorako eredu</i>					
Opioideak	1	2,305	23,6	< 0,0001	3,5
Iopromida	1	0,323	3,3	0,042	1,5
Salbutamola	1	0,460	4,7	0,016	4,8
NSAIDak	1	0,472	4,8	0,018	4,6
SSRIak	1	0,493	5,0	0,003	5,6
Hondarra	16	1,563			

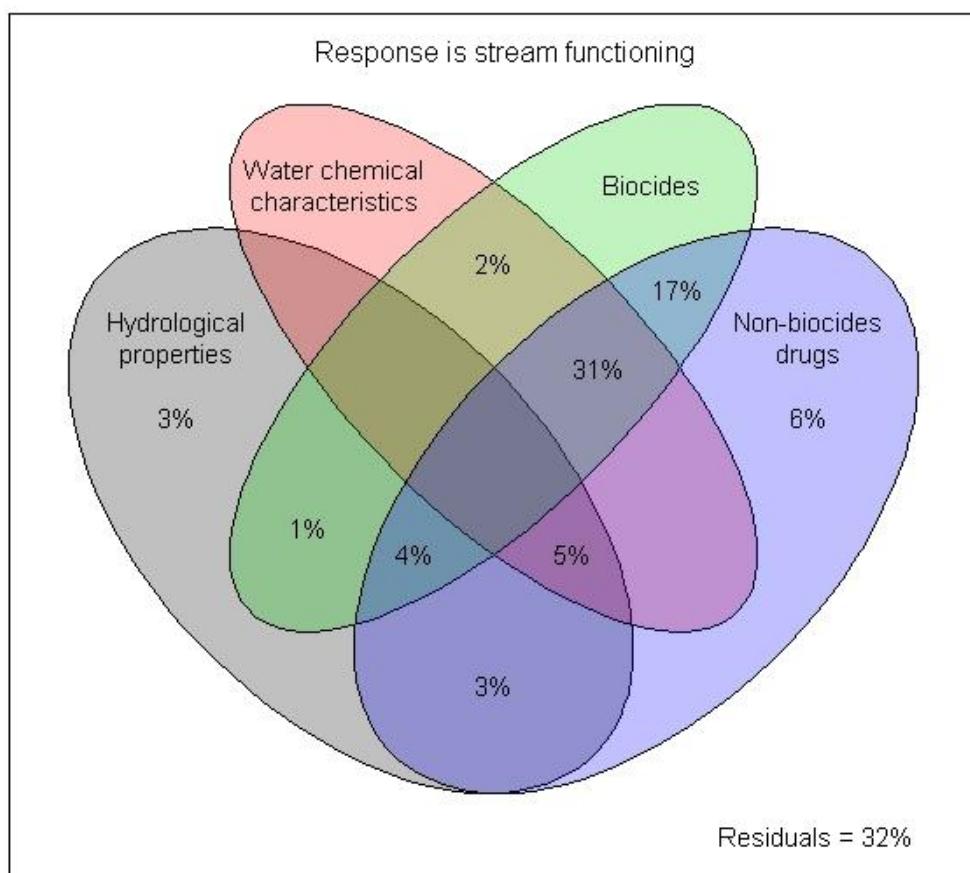
Totala	21	5,616
--------	----	-------

Doitutako $R^2 = 64\%$

D. Hidrologiarentzako ereduak

Emaria	1	0,611	2,7	0,050	1,3
Zabalera	1	0,646	2,8	0,036	1,3
Hondarra	19	4,359			
Totala	21	5,616			

Doitutako $R^2 = 14\%$



3. Irudia. Erreken funtzionamenduaren aldakortasunaren dimentsio anitzeko partizioa islatzen duen Venn diagrama, aldagai hidrologikoekin, kimikoekin, bioziden (antibiotikoak, antifungikoak eta antiparasitarioak barne) eta droga ez-bioziden (biozidak ez ezik, gainerako droga farmazeutikoak) adizioaren bidez. Venn diagraman erakusten diren balioak doitutako R^2 -ei (%) dagozkie. Erudu ez-zuhur honek dimentsio anitzeko aldakortasunaren %70a baino gehiago azaltzen du, lau eredu partzialen adizioaren bidez (zehaztasunak 3. taulan). Osagai hidrologikoak uraren emaria eta perimetro bustiaren zabalera barneratzen ditu. Osagai kimikoak disolbatutako fosforo erreaktiboaren eta karbono organikaoren kontzentrazioak. Bioziden osagaiak barneratzen ditu antibiotiko AbMakrolidoak (Klaritromizina eta Eritromizina, hain zuzen), Ofloxazina eta Sulfametoxazola, eta Tiabendazol antifungiko eta antiparasitarioa. Azkenik, droga ez-bioziden osagaiak Opioideak (Oxikodona eta Kodeina), Iopromida (kontrasterako medioa), Salbutamola (β_2 -adrenergikoaren hartzailaren agonista), NSAIDak (Diklofenakoa, Ibuprofenoa, Indometazinea, Ketoprofenoa, Naproxenoa, Piroxicama, Azido salizilikoa eta Fenazona) eta SSRIak (Seproxetina,

Fluoxetina eta Zitaloprama) barneratzen ditu. AbMakrolidoen, Opioideoen, NSAIDen eta SSRIen aldagai berriak parentesi artean agertzen diren drogen kontzentrazioak gehituz definitu genituen.

Erreken funtzionamendua aurrezten: EDA eredu zuhurra

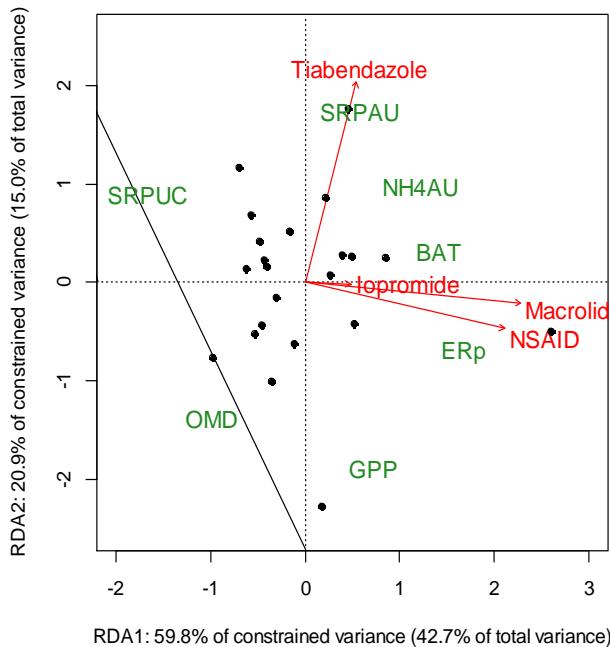
Aurreko ereduak (3.irudia) aurrestan, eta nolabait azaldu ere, egin zuen erreken funtzionamenduan behatutako aldagai anitzeko aldakortasuna 13 ingurumen aldagai baino ez erabiliz (hasieran neurtu genituen 100 ingurumen aldagai esplikatzaleetik abiatuta). Hala ere, eredu hori ez zen guzitiz zuhurra eta gainera, talde desberdinetan sailkatu genituen ingurumen aldagaien artean zenbait kolinealitate iturri erakutsi zituen (adibidez, droga biozida eta ez-bioziden artean). Hori dela eta, Baix Ebreko erreken funtzionamenduan behatutako aldagai anitzeko aldakortasuna metodo zuhur baten bidez aurrezateko, bigarren eredu bat eraiki genuen (zuhurra).

Ondoren aplikatutako aldagaien bigarren aukeraketarako prozedurak EDA eredu zuhurra eraikitza eraman gintuen (4. taula, 4-5. irudiak), zeinak erreken funtzionamenduan behatutako aldakortasunaren %65a azaltzen baitzuen. Eredu hau lau ingurumen-aldagai esplikatzaleetan baino ez zen oinarritzen, bi droga biozidetan (AbMakrolidoak, mikroorganismoen proteinen sintesia eragozten duen antibiotiko mota bat, eta Tiadendazole antifungikoa) eta bi ez-biozidetan (Iopromida, informatizatutako tomografia eskanerretan erabili ohi den kontraste-medioa, eta NSAIDak, zeinak droga anti-inflamatorio ez esteroideo oso ohikoak barneratzen dituen, hala nola, Diklofenakoa edota Ibuprofenoa), hain zuzen. Deskribatutako erlaziorik estuenak ondorengoak izan ziren: AbMakrolidoen kontzentrazioaren eta ekosistemaren arnasketaren (positiboa), biomasaren hazkuntzaren (positiboa) eta biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasunaren (negatiboa) artean; NSAIDen kontzentrazioaren eta ekosistemaren arnasketaren (positiboa) eta biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasunaren artean (negatiboa); eta Tiabendazol kontzentrazioaren eta tramu-mailako fosforo atxikimenduaren artean (positiboa). Behin lau aldagai hauek ereduaren bidez aukeratu genituenean, aurretiaz lau eredu partzialetan agertu ziren beste aldagai guztiak, kasu honetan estatistikoki ez-esangarriak bihurtu ziren. Oro har, eredu zuhurrean bi aldagai multzoek partekatutako frakzioa alde batera uztean (*doitutako R² = %6*), biozidek droga ez-biozidek baino aldakortasun handiagoa azaldu zuten erreken funtzionamenduan (*doitutako R² = %34 vs. doitutako R² = %25*, hurrenez hurren; 5. irudia).

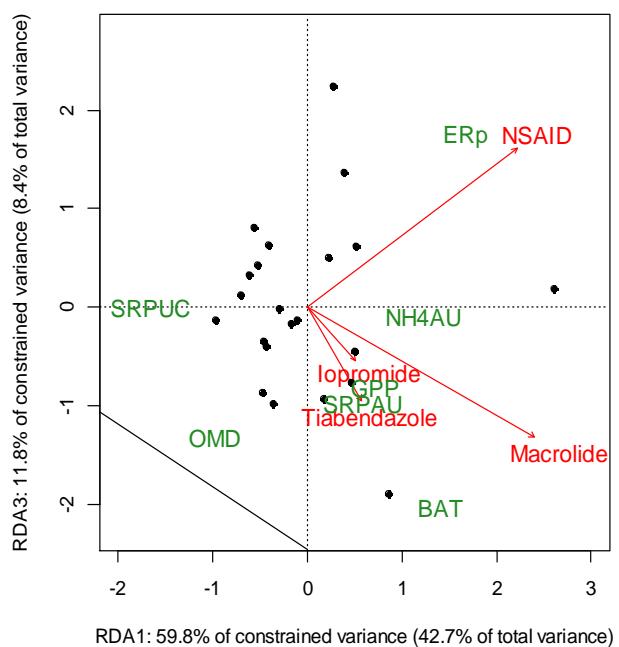
4. Taula. Erredundantzia analisi (EDA) zuhurraren modeloak erreken funtzionamenduan behatutako aldagai anitzeko aldakortasuna adierazten du lau aldiz eginiko pausuz pausuko aldagaien aukeraketaren bidez lortutako ingurumen aldagai esplikatzaleen bidez: Tiabendazola eta AbMakrolidoak (biozidak), eta NSAIDak eta Iopromida (droga ez-biozidak). Erantzun-matrizea tendentzia espazialik gabeko eta estandarizatutako aldagaien osatzen dute. Ingurumen aldagaien aukeraketa pausuz pausuko bigarren aldagaien aukeraketaren bidez egin zen, aurretiaz EDA eredu partzialetan aukeratutako hamahiru aldagaien multzotik hasita (disolbatutako fosforo erreaktiboa (DFE), disolbatutako karbono organikoa (DKO), AbMakrolidoak, Tiabendazola, Ofloxazina, Sulfametoxazola, Opioideak, Iopromida, Salbutamola, NSAIDak, SSRIak, Uraren emaria eta Zabalera; 3. taula).

Iturria	d.f.	Bariantza	F-balioa	p-balioa	Bariantzaren inflazioa
NSAIDak	1	1,701	18,0	< 0,0001	,4
Tiabendazola	1	0,896	9,5	< 0,0001	,8
Makrolidoak	1	0,917	9,7	< 0,0001	,4
Iopromida	1	0,492	5,2	0,014	,6
Hondarra	17	1,610			
Totala	21	5,616			
Doitutako R^2		= 65%			

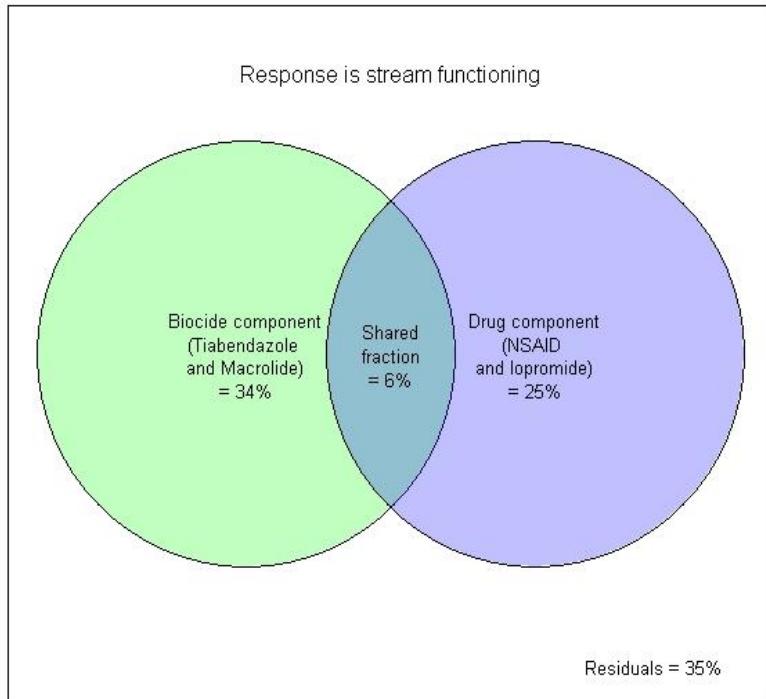
(a) RDA Parsimonious model: axes 1 and 2



(b) RDA Parsimonious model: axes 1 and 3



4. Irudia. 4. Taulan laburtutako eredu zuhurren erredundantzia-analisi (EDA) dagozkien grafiko bikoitzak: (a) 1. ardatza vs. 2. ardatza; (b) 1. ardatza vs. 3. ardatza. Erlaziorik sendo edo indartsuenak honako aldagaien artean eman ziren: 1) AbMakrolidoen eta ekosistemaren arnasketaren (positiboa), biofilmaren biomasaren hazkuntza-tasaren (positiboa), eta uretan disolbatutako fosforo errektiboa atxikitzeo gaitasunaren (negatiboa) artean; 2) NSAIDen eta ekosistemaren arnasketaren (positiboa) eta biofilmaren uretan disolbatutako fosforo errektiboa atxikitzeo gaitasunaren (negatiboa) artean; eta 3) Tiabendazol eta tramu-mailako fosforo atxikimenduaren (positiboa) artean. Irudian erreken funtzionamenduari dagozkion prozesu desberdinak izendatzeko erabilitako akronimoek honako esan nahi dute: BAT = BHT = biofilmaren biomasaren hazkuntza-tasa, SRPUC = DFEAG = biofilmaren uretan disolbatutako fosforo errektiboa atxikitzeo gaitasuna, SRPAU = DFEAA = tramu-mailako disolbatutako fosforo errektiboaren atxikimendua azalera unitateko, NH4AU = NH4AA = tramu-mailako disolbatutako amonioaren atxikimendua azalera unitateko, GPP = EPG = ekoizpen primario gordina, ER = EA = ekosistemaren arnasketa, eta OMD = MOD = materia organikoaren deskonposizioa. Ikus aldakortasunaren partizioari dagokion 5. irudia.



5. Irudia. Erreken funtzionamenduaren aldakortasunaren dimentsio anitzeko partizioa islatzen duen Venn diagrama, bioziden eta droga ez-bioziden kontzentrazioaren bidez baino ez. Irudiak erakusten diren balioak doitutako R^2 -ei (%) dagozkie. Modelo zuhur hau, dimentsio anitzeko aldakortasunaren %65a azaltzen duena, modelo ez-zuhurrean aukeratutako aldagaien aukeraketa osagarri baten bidez lortu genuen. Bioziden osagaiaiak antibiotiko AbMakrolidoak eta Tiabendazol antifungiko eta antiparasitarioa baino ez ditu barneratzen. Era berean, droga ez-bioziden osagaiaiak Iopromida eta NSAIDak (Diklofenakoa, Ibuprofenoa, Indometazinea, Ketoprofenoa, Naproxenoa, Piroxicama, Azido salizilikoa eta Fenazona) baino ez ditu barneratzen. AbMakrolidoen eta NSAIDen aldagai berriak parentesi artean agertzen diren bioziden eta drogen kontzentrazioak gehituz definitu genituen.

Aurrezandako banakako ekosistema-mailako prozesuak vs. banakako ingurumen adierazleak

Neurtutako zazpi aldagai funtzionalen eta aukeratutako lau ingurumen aldagaien arteko erlazioen forma eta indarra eredu zuzen orokortuak aplikatuz aztertu genituen (5. taula). Erlazio estatistikoki esangarrienek eredu zuzenak erakutsi zituzten (Z), AbMakrolidoen kontzentrazioaren eta biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasunaren eta ekosistemaren arnasketaren artean deskribatutako erlazioak izan ezik. Azken erlazio hauek kurba formako erantzunak erakutsi zituzten (K), baina ez guk espero genuen subsidio-estres motakoa. Gainera, deskribatutako erlazio gehienak positiboak ziren, neurtutako prozesu gehienak emendatutako kutsatzaile kontzentrazioekiko handitu zirela adieraziz. Hala ere, deskribatutako erlazioetako batzuk negatiboak ere izan ziren (hain zuzen ere, materia organikoaren deskomposizioaren eta NSAIDen arteko, biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasunaren eta AbMakrolidoen artekoa, eta tramu-mailako fosforoaren atxikimenduaren eta NSAIDen artekoa). Erlazio horiek azaldutako bariazioek, aitzitik, aldakortasun handia erakutsi zuten, AbMakrolidoen eta ekoizpen primario gordinaren arteko erlazioak azaldutako %17ko

bariaziotik, Tiabendazolaren eta tramu-mailako fosforo atxikimenduaren arteko erlazioak azaldutako %83ko bariaziora.

5. Taula. Erabilitako eredu zuzen orokortuen laburpena erreken funtzionamenduaren aldagaien eta EDA zuhurrean aukeratutako ingurumen aldagai esplikatzileen arteko erlazioak aztertzeko. Iku erantzun mota ere zehaztuta dagoela, hau da, zuzena (Z) edo kurba (K) formakoa bada, eta positiboa (+) edo negatiboa (-) bada. Taulan erlazio estatistikoki esangarriak baino ez dira adierazten.

Ald. Funtzionalak	Ald. Esplikatzileak	Desbideratze nulua (d.f.)	Hondarraren desbideratzea (d.f.)	R ² _{EZO} (%)	p-balioa	Forma
NH ₄ atxikimendu-azalera	AbMakrolidoak	11,3 (21)	7,4 (20)	34	0,001	Z+
NH ₄ atxikimendu-azalera	NSAIDak	11,3 (21)	8,3 (20)	27	0,007	Z+
NH ₄ atxikimendu-azalera	Tiabendazola	11,3 (21)	6,9 (20)	39	<0,0001	Z+
NH ₄ atxikimendu-azalera	Iopromida	11,3 (21)	8,8 (20)	22	0,018	Z+
Biofilmaren fosforo atxikimendua	AbMakrolidoak	19,2 (21)	6,3 (19)	67	<0,0001	K-
Biofilmaren fosforo atxikimendua	NSAIDak	19,2 (21)	9,8 (20)	49	<0,0001	Z-
Ekosistemaren arnasketa	AbMakrolidoak	19,4 (21)	9,5 (19)	51	<0,0001	K+
Ekosistemaren arnasketa	NSAIDak	19,4 (21)	3,5 (20)	82	<0,0001	Z+
Biofilmaren hazkuntza-tasa	AbMakrolidoak	20,9 (21)	6,8 (20)	67	<0,0001	Z+
Ekoizpen primario gordina	AbMakrolidoak	18,2 (21)	15,0 (20)	17	0,040	Z+
Materia organikoaren deskonposizioa	NSAIDak	18,9 (21)	14,3 (20)	24	0,011	Z-
Fosforoaren atxikimendu- azalera	Tiabendazola	10,0 (21)	1,7 (20)	83	<0,0001	Z+
Fosforoaren atxikimendu- azalera	Iopromida	10,0 (21)	7,6 (20)	24	0,012	Z+

Eztabaida

Uraren ezaugarri kimikoak: aldakortasunaren erantzule nagusiak

Kutsadura eta aldaketa hidrologikoak Europako erreka gehienak mehatxatzen dituzten presio-iturri garrantzitsuenetarikoak dira (EC, 2015). Haien artean, hondakin uren efluentek estres-faktore ohikoenetako bat dira, nahiz eta batzuetan zaila den ekosistema hartzaileetan eragingo dituzten efektuak aurresatea, erreka gehienak aldi berean eragiten duten estresore anitzen menpean daudelako (Sabater *et al.*, 2018). Hala ere, gure emaitzek erakutsi zuten hondakin uren efluentek esangarri eralda dezaketela ekosistemen funtzionamendua, batez ere uraren ezaugarri kimikoetan ematen diren aldaketen bidez. Zehazki, bi aldagai fisiko-kimikok (disolbatutako fosforo errektiboa (DFE) eta karbono organikoa (DKO), alegia) eta gehienbat, bederatzi bioziden (antibiotiko AbMakrolidoak eta

Tiabendazol antifungikoa barne) eta droga ez-bioziden (Iopromida eta NSAIDak barne) kontzentrazioek erreken funtzionamenduan behatutako aldakortasun gehiena (%70 inguru) azaldu zuten, eta gainera neurtutako prozesu ekologiko gehienekiko oso erlazio estuak erakutsi zituzten. EDA eredu ez-zuhur horretan, aldagai hidrologikoek erreken funtzionamenduaren aldakortasunaren azalpenean izandako kontribuzioa minimoa izan zen.

Horrez gain, behaketa-bidezko landa esperimentu horretan lortutako datuak eredu zuhurra eta ekosistemaren funtzionamenduaren aldakortasuna aurresteko balio zuen EDA eredu eraikitzeko ere erabili genituen. Eraikitako bigarren EDA eredu honek, zeinak ez baitzuen jada inolako kolínealitate arazorik, erreken funtzionamenduaren aldakortasunaren %65a inguru azaltzen zuen, bakarrik lau ingurumen aldagai erabiliz (AbMakrolidoak, Tiabendazola, Iopromida eta NSAIDak), hasieran neurtu genituen 100 aldagaietik abiatuta. Iragarpenak ez direnez azalpenen gauza bera, eraikitako bigarren EDA eredu zuhur honek ez du esan nahi erreken funtzionamendua lau ingurumen aldagairen bidez azaldu daitekeenik, hau da, eredu honek ez du esan nahi aukeratutako lau ingurumen aldagaietik erreken funtzionamenduaren aldakortasunaren %65a eragin zutenik. Eredauak, aitzitik, zeinak azaldutako aldagai anitzeko aldakortasuna hobesten duen iragarpenerako erabiltzen diren aldagaien kopurua murriztuz, bakarrik esan nahi du aukeratutako lau aldagai hauek, batera hartuta, hasieran neurtu genituen 100 aldagaien iragarpena laburtu eta hobetsi dezaketela. Hori dela eta, eredu honen bidez egindako hobetsitako iragarpena baino ez da, kausa azalpen zehatzik gabekoa.

Hondakin uren efluentek esangarriki emendatu zituzten mantenugaien eta kutsatzaileen kontzentrazioak, “*Erreka Urbanoen Sindromearen*” eraginaren pean dauden kutsatutako erreka urbanoetan gertatu ohi den bezala (Walsh *et al.*, 2005; Brack *et al.*, 2007). Efluente urbanoek pH-a eta uraren oxigeno disolbatuaren kontzentrazioa esangarriki murriztu zituzten, erreketako batzuk baldintza anoxikoak jasatera arte ere heldu zirelarik ($< 1 \text{ mg L}^{-1}$). Aldi berean, ordea, efluentek disolbatutako karbono organikoaren (DKO) eta mantenugaien kontzentrazioak emendatu zituzten, batez ere disolbatutako fosforo errektiboarenak (DFE) eta amonioarenak, balio maximoak 51,2 eta 22 mg L^{-1} -ra arte emendatu baitziren, hurrenez hurren. Emaitza hauek efluente urbanoen eraginak aztertzen dituzten beste lan batzuek aurkitutako emaitzak bat datozen, zeintuetan pH-a (Englert *et al.*, 2013) eta oxigeno disolbatua (Walsh *et al.*, 2005) esangarriki murrizten baitiren, nahiz eta materia organikoaren eta mantenugaien kontzentrazioak emendatzen diren (Carey eta Migliaccio, 2009); batez ere, fosforo eta nitrogeno kontzentrazioak (Waiser *et al.*, 2011). Erreketako batzuetan neurtutako kontzentrazioak Europan zehar neurtutako kontzentrazio altuenen artean zeuden (Grizzetti *et al.*, 2017). Horrez gain, hondakin uren isurketek esangarriki emendatu zituzten konposatu farmazeutiko aktiboen (KFAk) kontzentrazioak, batez ere droga ez-biozidenak. Biozidek, aitzitik, ez zuten desberdintasun esangarririk erakutsi Kontrol eta Inpaktu tramuen artean, kontzentrazio altuak ere erakutsi baitzitzuten aztertutako Kontrol tramu batzuetan (Mandaric *et al.*, 2018). Erreketan neurtutako KFA ugarienak Ofloxazinak ziren biozidei dagokiela, eta NSAIDak

droga ez-biozidei dagokiela. Haien kontzentrazioak ng L^{-1} gutxi batzuetatik $9 \mu\text{g L}^{-1}$ -ra arte aldatzen ziren, nahiz eta hondakin uretan KFA konposatuengen agerpena eta kontzentrazioa aztertu dituzten beste lan batzuek deskribatutako tarte berdineta dauden (Gros *et al.*, 2012; Verlicchi *et al.*, 2012). Kutsatzailen nahasketa konplexu hauek erreken ezaugarri fisiko-kimikoak kalte ditzakete eta beste hainbat efektu lazgarri eragin (Proia *et al.*, 2013). Esaterako, efluente urbanoek oxigenoarekiko eskakizun biologikoa emenda dezakete eta hortaz, oxigeno disolbatuaren gabezia oraindik ere gehiago areagotu (Calapez *et al.*, 2017). Horrez gain, efluenteen baldintza erreduzitzailen ezarpena erraztu dezakete eta horrekin bat, mikrobiar komunitate sulfato erreduktore edota metanogenikoen zabalkundea eragin (Atashgahi *et al.*, 2015). Edonola, efektu ez-zuzen hauek efluenteen eragin zuzenak gaindi ditzakete eta hortaz, kutsadura urbanoak erreka hartzaileetan eragin ditzakeen efektuak oraindik ere gehiago nabarmendu.

Ikerketa honetan aztertutako erreken arteko aldakortasunaren ondorioz, efluenteek ez zuten eragin esangarriren izan erreken ezaugarri hidrologikoetan, beste ikerketa batzuetan deskribatu izan diren emaitzetan ez bezala (adibidez, Merseburger *et al.*, 2011). Aztertutako erreketako batzuetan, Els Reguers, Prat de Compte edota La Sènian alegia, hondakin uren efluenteek erreka iragankorrik iraunkor bihurtu zituzten. Baino aztertutako beste erreka handiagoetan, Caseres, Nonaspe, Maella edota Vallderouresren, efluenteen isurketak ez zuen inolako aldaketa esangarriren eragin sistema hartzaileen hidrologian.

erreka hartzaileen diluzio-gaitasunak eta erreketara askatutako hondakin uren efluenteen izaerak, ekosistemaren funtzionamenduan deskribatutako efektuak baldintzatu zituzten. Hori dela eta, Kontrol eta Impaktu tramuen erantzun funtzionalen arteko aldaketak txikiagoak ziren, efluente urbanoak HUAetan tratatuak zirenean eta erreka handiagoetara askatzen zirenean. Gure emaitzek, ordea, erakutsi zuten uraren ezaugarri kimikoek hidrologiak baino garrantzia handiagoa zutela funtzionamenduaren aldakortasuna deskribatzerako orduan. Emaitzak hauek beste ikerketa batzuetan deskribatutako emaitzezin bat datozen, non emergentzia-kutsatzailen garrantzia azpimarratzen den (Kuzmanovic *et al.*, 2015) eta kutsadura urbanoa kalte larriak eragiteagatik deskribatzen den komunitate biologikoen egituraren (Karaouzas *et al.*, 2018), ibai-oheetan hazten den biofilmaren funtzionamenduan (Proia *et al.*, 2013), edota ekosistema-mailako prozesuetan, mantenugaien atxikimenduan, kasu (Marcé *et al.*, 2018).

Erreken funtzionamenduaren aldakortasuna aurresaten

Hondakin uren efluenteek erantzun konplexu eta espezifikoak eragin zituzten ekosistemaren funtzionamenduan. Hala ere, neurtutako prozesu batek ere ez zuen esperotako subsidio-estres moduko erantzun-patroia jarraitu eta aitzitik, prozesu gehienak modu zuzenean emendatu ziren kutsadura gradientearako. Esaterako, tramu-mailako amonioaren atxikimendua esangarriki emendatu zen hondakin uren efluenteen sarreren azpiko tramueta, eta positiboki erlazionatuta zegoen drogen kontzentrazioarekiko. Oro har, hondakin uren efluenteak emergentzia-kutsatzaila

askoren iturri dira, hala nola, materia organiko eta mantenugaiena, eta batez ere, nitrogeno eta fosforoarena (Waiser *et al.*, 2011). Gure esperimentuan, efluenteek 3.5 mg N L^{-1} -ra arte emendatu zituzten uraren amonio kontzentrazio basalak. Balio hori, ordea, efluente urbanoen eraginaren pean dauden erreketan deskribatutako beheko tartean dago ($0.1\text{-}10 \text{ mg N L}^{-1}$) eta hortaz, oraindik ere sistemaren saturaziotik nahiko urrun egon daiteke (Bernal *et al.*, 2017). Hori dela eta, nitrogeno inorganikoaren sarrera hauek, agian, errekako nitrifikazio prozesuak kitzikatu zituzten, efluente urbanoen sarreren azpian amonioaren tramu-mailako atxikimendua bultzatuz (Merbt *et al.*, 2015; Bernal *et al.*, 2017). Bestalde, hondakin uren efluenteek ez zuten eragin esangaririk izan Inpaktueta tramu-mailako fosforoaren atxikimenduan. Hala ere, erantzun funtzionalen eta ingurumen aldagaien arteko banakako erlazioak aztertzean, iragarri zitekeen tramu-mailako fosforoaren atxikimendua droga zehatz batzuen kontzentrazioaren emendioarekiko emenda zitekeela, biozidekiko esaterako. “Efizientzia-galeraren hipotesiaren” arabera (O’Brien *et al.*, 2007; Mulholland *et al.*, 2008), lan gehienek murriztutako fosforo atxikimendu-tasak deskribatzen dituzte hondakin uren efluenteak jasotzen dituzten erreketan, inguruneko kontzentrazioak handitu ahala, fosforoarekiko eskakizuna murrizten baita (Haggard *et al.*, 2001, 2005; Martí *et al.*, 2004; Merseburger *et al.*, 2005; Gibson eta Meyer, 2007). Gainera, tramu-mailan emendatutako fosforoaren atxikimenduak biofilm-mailan behatutako erantzunekin ere kontrajartzen dira, kutsatzaileek larriki kaltetu baitzuten biofilmaren gaitasuna fosforoa atxikitzeo. Ondorioz, gure emaitzek iradoki dezakete tramu-mailako fosforoaren atxikimendua konpentsatua izan zitekeela, eta hortaz handitu, ekosistemaren beste konpartimentu edo komunitate biologiko batzuengatik (Withers eta Jarvie, 2008). Zehazki, sedimentu finek (Withers eta Jarvie, 2008) edota makrofito komunitateek (Riis *et al.*, 2012), bai ibilgu nagusian baita ibaiertzean hazten zirenak ere, diferentzia horiek ikustearen erantzule nagusiak izan zitezkeela uste dugu.

Hondakin uren efluenteek ekosistema-mailako metabolismoa ere emendatu zuten. Ekosistemaren arnasketa esangarriki emendatu zen efluente urbanoen isurketetatik behera zeuden tramuetan eta gainera, ekosistema-mailako prozesuen eta ingurumen aldagaien arteko erlazioek iragarri zuten positiboki erlazionatuta egon zitekeela emendatutako drogen kontzentrazioarekiko. Ekoizpen primario gordina, ordea, ez zen esangarriki aldatu hondakin uren efluenteen azpiko tramuetan, eta banako erlazioek erlazio positibo oso ahul bat baino ez zuten iragarri droga zehatz batzuen kontzentrazioarekiko, biozidekiko kasu. Oro har, nahiko ondo ezagutzen da mantenugaiak eta materia organikoak ekosistemaren arnasketa emenda dezaketela (Bernhardt *et al.*, 2018), baina oraindik ez dago argi kutsatzaile asimilagarri hauek konposatu toxikoekin duten elkarreragina, metal astun edota produktu farmazeutikoekin, alegia. Beste lan batzuetan deskribatu bezala (Izagirre *et al.*, 2008; Aristi *et al.*, 2015), gure kasuan ere ekosistemaren arnasketa handitutako kutsatzaile kontzentrazioarekiko emendatu zen. Hortaz, esan genezake ekosistemaren arnasketa emenda daitekeela bai produktu farmazeutikoen esposizioarekiko (Corcoll *et al.*, 2015) baita konposatu asimilagarri eta toxikoen arteko nahasketarekiko (Aristi *et al.*, 2016) ere. Bestalde, efluente urbanoeik ez zuten eragin esangaririk izan ekoizpen primario gordinean, zeinak erlazio positibo oso ahul bat

baino ez zuen erakutsi droga zehatz batzuen kontzentrazioarekiko. Autore batzuek efluente urbanoen sarreren ondorioz emendatutako ekoizpen-tasak deskribatzen dituzten bitartean (adibidez, Gücker *et al.*, 2006), beste batzuek ez dute efektu argirik deskribatzen. Gehienetan, erantzun erantzun-eza ekoizpen primario gordina beste ingurumen-faktore batzuek erregulatu ahal izateari egotzen diote, argiari (Aristi *et al.*, 2015), ibar-basoari (Bernot *et al.*, 2010) edota uraren uhertasunari (Izagirre *et al.*, 2008), bestea beste. Ingurumen-faktore horien artean, gure lanean, agian, uraren uhertasunak muga izan zezakeen ekosistemaren ekoizpena (Hall *et al.*, 2015); batez ere, tratatu gabeko efluenteak jasotzen zituzten erreketan, isurketa horiek izugarri uherrak izan baitaitezke. Horrez gain, beste autore batzuek (Hill *et al.*, 2001; Acuña *et al.*, 2004) ikusi dute efluente urbanoen eraginaren pean dauden erreketan, ekosistemaren metabolismoaren emendioa biofilmaren biomasaren hazkuntzarekin bat etor daitekeela. Alabaina, gure lanean biomasaren hazkuntzak espero ez genuen erlazio positibo estua erakutsi zuen AbMakrolidoen kontzentrazioarekiko, bakterioen proteinen sintesia eragozten duen antibiotiko mota batekiko, hain zuzen. Guk espero genuen antibiotikoek biofilmaren biomasaren hazkuntza murritzuko zutela, eta hortaz, iragarritako erantzun horren inguruan espekulatu baino ezin dugun, gure emaitzek iradoki dezakete agian efluente urbanok biofilm komunitatea kaltetu zutela, tasa funtzionalak mantentzeko gai diren espezie tolerante edo erresistenteagoen garapena bultzatuz (Rosi *et al.*, 2018). Gainera, balizko espezieen aukeraketa horretan, agian, komunitate autotrofoak bakterioen komunitate heterotrofoen aurrean gailendu izan zitezkeen (Proia *et al.*, 2013). Beste azalpen posible bat ere izan daiteke biofilm komunitateak antibiotikoekiko erresistentzia geneak garatu zituela efluente urbanoen esposizioaren ondorioz, esperimentu honekiko beste lan paralelo batean ikusi izan den bezala (Subirats *et al.*, 2017).

Ekosistema-mailako prozesuek ez bezala, zeintzuek erantzun-patroi ez oso argi eta kontrajarriak erakutsi zituzten, biofilm-mailako prozesuek erantzun funtzional argiago eta sendagoak erakutsi zituzten. Biofilmaren biomasaren hazkuntza-tasak esangarriki emendatu ziren hondakin uren efluenteen azpian, nahiz eta biofilmaren fosforoa atxikitzeko gaitasuna eta materia organikoaren deskonposizioa murritz ziren. Biofilmaren uretan disolbatutako fosforo erreaktiboaren (DFE) atxikimendu-gaitasuna esangarriki murritz zen efluente urbanoen sarreren azpitik eta emendatutako drogen kontzentrazioarekiko negatiboki erlazionatuta zegoela iragarri zen. Aldiz, materia organikoaren deskonposizioak, efluenteen sarreretatik behera esangarriki aldatu gabe mantendu zen arren, erlazio negatibo ahula erakutsi zuen droga zehatz batzuen kontzentrazioarekiko, droga ez-biozidekiko esaterako. Gure esperimentuan, efluenteetatik eratorritako disolbatutako fosforo erreaktiboaren (DFE) sarrerek biofilm komunitatearen eraginkortasuna murritz izan zezaketen uretan disolbatutako mantenugaiak ur-zutabetik atxikitzeko, atxikimendu-gaitasuna zeroraino murritz biofilma saturatzen deneko muturreko kasuetan (Earl *et al.*, 2006), laborategiko esperimentu batean ikusi izan den bezala (Pereda *et al.*, 2019). Beste aldetik, efluenteetatik eratorritako bestelako droga toxikoek ere kalte larriak ere eragin zitzaketen biofilmaren jardueran eta hortaz, disolbatutako mantenugaiak atxikitzeko gaitasuna murritz, beste ikerketa batzuetan ere deskribatu bezala (Proia *et al.*, 2017). Horrez gain, gure emaitzak beste lan batzuetan lortutako

emaitzakin ere bat datozen (Smeti *et al.*, 2019), eta hortaz, iradoki dezakegu efluentes urbanos eragin toxikoak izan ditzaketela komunitate mikrobiarretan eta hortaz, kalte larriak eragin haien funtzionamenduan, mantenugaiak atxikitzeko gaitasuna murrizteaz ez ezik, materia organikoa kontsumitzeko gaitasuna ere murriztuz.

Subsidio-Estresaren hipotesiaren atzetik

Aldagai funtzionales eta ingurumen aldagaien arteko banakako erlazioek erakutsi zuten aztertutako prozesu gehienek erantzun linealak erakutsi zituztela kutsadura gradientearekiko, eta batek ere ez zuela guk esperotako subsidio-estres moduko erantzun-patroia jarraitu. Zehazki, guk aurrestan genuen jatorri urbanoko efluentes diluitzekeko gaitasun handia zuten errekek prozesu funtzionalak emendatuko zituztela, eta inolako diluzio-gaitasunik ez zuten errekek, ordea, prozesu funtzionalak murriztuko zituztela, beste landa- eta laborategi-esperimentu batzuetan deskribatu izan diren konformativoak erantzunei leku emanet (Carmago eta Alonso, 2006; Niyogi *et al.*, 2007; Wagenhoff *et al.*, 2011, 2012, 2013; Woodward *et al.*, 2012). Hala ere, neurtutako prozesu funtzionalek erantzun lineal positibo edo negatiboak baino ez zituzten erakutsi. Subsidio-estres moduko erantzun-patroiak askotan deskribatu izan dira estres-iturri bakarren eragina aztertzerakoan, hala nola, sedimentu finaren (Wagenhoff *et al.*, 2012) edota mantenugaien kontzentrazioaren (Woodward *et al.*, 2012) eraginak aztertzerakoan. Erantzun-patroi horiek, aitzitik, desagertu ohi dira aldi berean eragiten duten estresore anitzen efektuak aztertzean (Wagenhoff *et al.*, 2013). Ildo horretatik, efluentes urbanos eragindako kutsadura kimikoak aldi berean eragiten duten nahasketa kompleksuak eta aldakorrik erakusten dituenez, askotan estresore anitz gisa deskribatua izan da bere horretan (Jackson *et al.*, 2016).

Ondorioak

Laburbilduz, gure esperimentuak erakutsi zuen hondakin uren efluenteeek larriki kalte ditzaketela uraren ezaugarri kimikoak eta hortaz, efektu konplexuak eragin efluenteen sarrerak jasotzen dituzten erreken funtzionamenduan. Efluente urbanoek esangarriki eraldatu zituzten aztertutako prozesu funtzional gehienak, nahiz eta batek ere ez zuen esperotako subsidio-estres moduko erantzun-patroirik jarraitu. Horren ordez, erantzun zuzen positibo eta negatibo zuzenak erakutsi zituzten kutsadura gradientearekiko. Azkenik, esan daiteke biofilm-mailako prozesuek erantzun argiago eta sendoagoak erakutsi zituztela kutsadura gradientearekiko, ekosistema-mailako prozesuek baino.

Esker onak

Esperimentu hau Europar Batasunaren 7. Azpiegituren Programak babestu zuen (GLOBAQUA; 603629-ENV-2013-6.2.1). Era berean, autoreok Eusko Jaurlaritzak (Ikerketa-talde bateratua: Ibai-ekologia 7-CA-18/10) eta Gobernu Katalanaren Ekonomia eta Ezagutza Sailak (Ikerketa-talde bateratua: ICRA-ENV 2017 SGR 1124) emandako euskarri ekonomikoa eskertzen dugu, baita Euskal Herriko Unibertsitateak, UPV/EHU, doktoratu aurreko tesiak egiteko emandako diru-laguntza (O. Pereda) ere. Azkenik, autoreok bereziki eskertuta gatzaizkie Maite Arroita eta Ibon Aristiri landa-laginketan zehar eskainitako laguntzagatik. Azkenik, autoreok aitortzen dugu ez dagoela inolako interes-gatazkariak artikuluan eztabaidatutako materialari dagokiola.

Erreferentziak

- Acuña V., Giorgi A., Muñoz I., Uehlinger U. eta Sabater S. (2004). Flow extremes and benthic organic matter shape the metabolism of a headwater Mediterranean stream. *Freshwater Biology*, 49: 960-971. doi: 10.1111/j.1365-2427.2004.01239.x
- Acuña V., Muñoz I., Giorgi A., Omella M., Sabater F. eta Sabater, S. (2005). Drought and postdrought recovery cycles in an intermittent Mediterranean stream: structural and functional aspects. *Journal of the North American Benthological Society*, 24 (4): 919–933. doi:10.1899/04-078.1
- Acuña V., Datry T., Marshall J., Barceló D., Dahm C.N., Ginebreda A., McGregor G., Sabater S., Tockner K. eta Palmer M.A. (2014). Why should we care about temporary waterways? *Science*, 343 (6175), 1080-1081. doi: 10.1126/science.1246666
- Anderson M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26(1): 32-46. doi: 10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x
- Aristi I., von Schiller D., Arroita M., Barceló D., Ponsatí L., Carcía-Galán M.J., Sabater S., Elosegi A. eta Acuña V. (2015). Mixed effects of effluents from a wastewater treatment plant on river ecosystem metabolism: subsidy or stress? *Freshwater Biology*, 60: 1398-1410. doi:10.1111/fwb.12576
- Aristi I., Casellas M., Elosegi A., Insa S., Petrovic M., Sabater S. eta Acuña V. (2016). Nutrients versus emerging contaminants – Or a dynamic match between subsidy and stress effects on stream biofilms? *Environmental Pollution*, 212: 208-215. doi: 10.1016/j.envpol.2016.01.067
- Arroita M., Aristi I., Flores L., Larrañaga A., Díez J., Mora J., Romaní A.M. eta Elosegi A. (2012). The use of wooden sticks to assess strea ecosystem functioning: Comparison with leaf breakdown rates. *Science of the Total Environment*, 440: 115-122. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.07.090
- Atashgahi S., Aydin R., Dimitrov M.R., Sipkema D., Hamonts K., Lahti L., Maphosa F., Kruse T., Saccenti E., Springael D., Dejonghe W. eta Smidt H. (2015). Impact of a wastewater treatment plant on microbial community composition and function in a hyporheic zone of a eutrophic river. *Scientific Reports*, 5: 17284. doi: 10.1038/srep17284
- Baldwin D.S., Rees G.N., Edwards M. eta Robertson A.I. (2003). A simple, reproducible substrate for studying biofilms in aquatic environments. *Environmental Technology*, 24 (6): 711-717. doi: 10.1080/09593330309385607
- Baldy V., Gobert V., Guerold F., Chauvet E., Lambrigot D. eta Charcosset J.Y. (2007). Leaf litter breakdown budgets in streams of various trophic status: effects of dissolved inorganic nutrients on microorganisms and invertebrates. *Freshwater Biology*, 52: 1322–1335. doi: 10.1111/j.1365-2427.2007.01768.x
- Barton K. (2018). MuMIn: Multi-Model Inference, R package version 1.40.4. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>

Bencala K.E., McKnight D.M. eta Zellweger G.W. (1987). Evaluation of natural tracers in an acidic and metal-rich stream. *Water Resources Research*, 23: 827-836. doi: 10.1029/WR023i005p00827

Bernal S., Segarra A., Merbt S.N. eta Martí E. (2017). Differences in ammonium oxidizer abundance and N uptake capacity between epilithic and epipsammic biofilms in an urban stream. *Freshwater Science*, 37 (1): 13-22. doi: 10.1086/696267

Bernhardt E.S., Heffernan J.B., Grimm N.B., Stanley E.H., Harvey J.W., Arroita M., Appling A.P., Cohen M.J., McDowell W.H., Hall R.O., Read J.S., Roberts B.J., Stets E.G. eta Yackulic C.B. (2018). The metabolic regimes of flowing waters. *Limnology & Oceanography*, 63 (S1): S99-S118. doi: 10.1002/lno.10726

Bernot M.J., Sobota D.J., Hall R.O., Mulholland P.J., Dodds W.K., Webster J.R., Tank J.L., Ashkenas L.R., Cooper L.W., Dahm C.N., Gregory S.V., Grimm N.B., Hamilton S.K., Johnson S.L., McDowell W.H., Meyer J.L., Peterson B., Poole G.C., Valett H.M., Arango C., Beaulieu J.J., Burgin A.J., Crenshaw C., Helton A.M., Johnson L., Merriam J., Niederlehner B.R., O'Brien J.M., Potter J.D., Sheibley R.W., Thomas S.M. eta Wilson K. (2010). Inter-regional comparison of land-use effects on stream metabolism. *Freshwater Biology*, 55 (9): 1874-1890. doi: 10.1111/j.1365-2427.2010.02422.x

Borcard D., Legendre P. eta Drapeau P. (1992). Partialling out the Spatial Component of Ecological Variation. *Ecology*, 73(3): 1045-1055. doi: 10.2307/1940179

Brack W., Klamer H.J.C., López de Alda M. eta Barceló D. (2007). Effect-directed analysis of key toxicants in European river basins. A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 14: 30-38. doi: 10.1065/espr2006.08.329

Calapez A.R., Branco P., Santos J.M., Ferreira T., Hein T., Brito A.G. eta Feio M.J. (2017). Macroinvertebrate short-term responses to flow variation and oxygen depletion: A mesocosm approach. *Science of the Total Environment*, 599-600: 1202-1212. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.05.056

Camargo J.A. eta Alonso A. (2006). Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*, 32: 831-849. doi: 10.1016/j.envint.2006.05.002

Carey R.O. eta Migliaccio K.W. (2009). Contribution of wastewater treatment plant effluents to nutrient dynamics in aquatic systems: a review. *Environmental Management*, 44 (2): 205-217. doi: 10.1007/s00267-009-9309-5

Casella G. (2008). Statistical Design. Springer, New York. ISBN: 978-0-387-75964-7. doi: 10.1007/978-0-387-75965-4

Corcoll N., Casellas M., Huerta B., Guasch H., Acuña V., Rodríguez-Mozaz S., Serra-Compte A., Barceló D. eta Sabater S. (2015). Effects of flow intermittency and pharmaceutical exposure on the structure and

metabolism of stream biofilms. *Science of the Total Environment*, 503-504: 159-170. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.06.093

Cummins K.W., Wilzbach M.A., Gates D.M., Perry J.A. et al Taliaferro W.B. (1989). Shredders and riparian vegetation. *Bioscience*, 39 (1): 24-30. doi: 10.2307/1310804

Deycard V.N., Schäfer J., Blac G., Coynel A., Petit J.C.J., Lanceleur L., Dutruch L., Bossy C. et al Ventura A. (2014). Contribution and potential impact of seven priority substance (As, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb and Zn) to a major European Estuary (Gironde Estuary, France) from urban wastewater. *Marine Chemistry*, 167: 123-134. doi: 10.1016/j.marchem.2014.05.005

Döll P. et al Schmied H.M. (2012). How is the impact of climate change on river flow regimes related to the impact on mean annual runoff? A global-scale analysis. *Environmental Research Letters*, 7: 014037 (11 pp.). doi: 10.1088/1748-9326/7/1/014037

Earl S.R., Valett H.M. et al Webster J.R. (2006). Nitrogen saturation in stream ecosystems. *Ecology*, 87: 3140-3151. doi: 10.1890/0012-9658(2006)87[3140:NSISE]2.0.CO;2

EC - European Commission (2015). The water framework directive and the floods directive: action towards the “good status” of EU water and to reduce flood risks, COM (2015), 120.

EEA - European Environmental Agency (2018). Urban waste water treatment. How effective are policies aimed at improving urban waste water treatment at reducing discharges of nutrients and organic matter into surface waters? Ref: CSI 024, WAT 005. Available at <https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/indicators/urban-waste-water-treatment/urban-waste-water-treatment-assessment-4> (January 2019).

Ellis J.B. (2006). Pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in urban receiving waters. *Environmental Pollution*, 144 (1): 184-189. doi: 10.1016/j.envpol.2005.12.018

Elosegi A., Nicolás A. et al Richardson J.S. (2018). Priming of leaf litter decomposition by algae seems of minor importance in natural streams during autumn. *PLOS One*, 13 (9):e0200180. doi: 10.1371/journal.pone.0200180

Englert D., Zubrod J.P., Schulz R. et al Bunschuh M. (2013). Effects of municipal wastewater on aquatic ecosystem structure and function in the receiving stream. *Science of the Total Environment*, 454-455 (1): 401-410. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.03.025

Gibson C.A. et al Meyer J.L. (2007). Nutrient uptake in a large urban river. *Journal of the American Water Resources Association*, 43 (3): 576-587. doi: 10.1111/j.1752-1688.2007.00041.x

Grizzetti B., Pistocchi A., Liquete C., Udiás A., Bouraoui F. et al van de Bund W. (2017). Human pressures and ecological status of European rivers. *Scientific Reports*, 7 (1): 1-11. doi: 10.1038/s41598-017-00324-3

Gros M., Rodríguez-Mozaz S. eta Barceló D. (2012). Fast and comprehensive multi-residue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1248: 104-121. doi: 10.1016/j.chroma.2012.05.084

Gücker B., Brauns M. eta Pusch M.T. (2006). Effects of wastewater treatment plant discharge on ecosystem structure and function of lowland streams. *Journal of North American Benthological Society*, 25 (2): 313-329. doi: 10.1899/0887-3593(2006)25[313:eowtpd]2.0.co;2

Haggard B.E., Storm D.E. eta Stanley E.H. (2001). Effect of a point source input on stream nutrient retention. *Journal of the American Water Resources Association*, 37 (5): 1291–1299. doi: 10.1111/j.1752-1688.2001.tb03639.x

Haggard B.E., Stanley E.H. eta Storm D.E. (2005). Nutrient retention in a point-source-enriched stream. *Journal of the North American Benthological Society*, 24 (1): 29–47. doi: 10.1899/0887-3593(2005)024<0029:NRIAPS>2.0.CO;2

Hall R.O., Yackulic C.B., Kennedy T.A., Yard M.D., Rosi-Marshall E.J., Voichick N. eta Behn K.E. (2015). Turbidity, light, temperature, and hydropeaking control primary productivity in the Colorado River, Grand Canyon. *Limnology and Oceanography*, 60 (2): 512–526. doi: 10.1002/limo.10031

Hill W.R., Mulholland P.J. eta Marzolf E.R. (2001). Stream ecosystem responses to forest leaf emergence in spring. *Ecology*, 82 (8): 2306-2319. doi: 10.2307/2680233

Hornberger G.M. eta Kelly M.G. (1975). Atmospheric reaeration in a river using productivity analysis. *Journal of the Environmental Engineering Division American Society of Civil Engineers*, 101 (5): 729-739.

Hubbard E.F., Kilpatrick F.A., Martens L.A. eta Wilson J.F. Jr. (1982). Measurements of time of travel and dispersion in streams by dye tracing. In *U.S. Geological Survey. Techniques of Water-Resources Investigation, Book 3 (Applications of Hydraulics)*, Chap. A9. doi: 10.3133/twri03A9_1982

Izagirre O., Agirre U., Bermejo M., Pozo J. eta Elosegi A. (2008). Environmental controls of whole-stream metabolism identified from continuous monitoring of Basque streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 27 (2): 252-268. doi: 10.1899/07-022.1

Jackson M.C., Loewen C.G., Vinebrooke R.D. eta Chimimba C.T. (2016). Net effects of multiple stressors in freshwater ecosystems: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 22: 180-189. doi: 10.1111/gcb.13028

Karaouzas I., Smeti E., Vourka A., Vardakas L., Mentzafou A., Tornés E., Sabater S., Muñoz I., Skoulidakis N.T. eta Kalogianni E. (2018). Assessing the ecological effects of water stress and pollution in a temporary river - Implications for water management. *Science of the Total Environment*, 618: 1591-1604. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.323

Kaushal S.S., McDowell W.H., Wollheim W.M., Newcomer Johnson T.A., Mayer P.M., Belt K.T. eta Pennino M.J. (2015). Urban evolution: The role of water. *Water*, 7 (8): 4063-4087. doi: 10.3390/w7084063

Kuzmanovic M., Ginebreda A., Petrović M. eta Barceló D. (2015). Risk assessment based prioritization of 200 organic micropollutants in 4 Iberian rivers. *Science of the Total Environment*, 503-504: 289-299. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.06.056

Legendre P. eta Legendre L. (2012). Numerical Ecology. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science. ISBN: 978-0-44-453868-0.

Lüdecke D. (2018). sjPlot: Data Visualization for Statistics in Social Science, R package version 2.6.2. <https://CRAN.R-project.org/package=sjPlot>.

Madsen H. eta Thyregod P. (2010). Introduction to General and Generalized Linear Models. CRP press. ISBN: 978-1420091557

Mandaric L., Mor J.R., Sabater S. eta Petrovic M. (2018). Impact of urban chemical pollution on water quality in small, rural and effluent-dominated Mediterranean streams and rivers. *Science of the Total Environment*, 613-614: 763-772. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.128

Marcé R., von Schiller D., Aguilera R., Martí E. eta Bernal S. (2018). Contribution of hydrologic opportunity and biogeochemical reactivity to the variability of nutrient retention in river networks. *Global Biogeochemical Cycles*, 32: 376-388. doi: 10.1002/2017GB005677

Martí E., Aumatell J., Godé L., Poch M. eta Sabater F. (2004). Nutrient retention efficiency in streams receiving inputs from wastewater treatment plants. *Journal of Environmental Quality*, 33: 285-293. doi: 10.2134/jeq2004.0285

Martí E. eta Sabater F. (2009). Retención de nutrientes en ecosistemas fluviales. In: Conceptos y Técnicas en Ecología Fluvial (Eds. Elosegi A. eta Sabater S.), pp. 117-132. Fundación BBVA, Bilbao. ISBN: 978-84-96515-87-1. doi: 10261/76865

McArdle B. H. eta Anderson M.J. (2001). Fitting multivariate models to community data: A comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology*, 82(1): 290-297. doi: 10.1890/0012-9658(2001)082[0290:FMMTCD]2.0.CO;2

Merbt S.N., Auguet J.C., Blesa A., Martí E. eta Casamayor E.O. (2015). Wastewater treatment plant effluents change abundance and composition of ammonia-oxidizing microorganisms in Mediterranean urban stream biofilms. *Microbial Ecology*, 69 (1): 66-74. doi: 10.1007/s00248-014-0464-8

Merseburger G.C., Martí E. eta Sabater F. (2005). Net changes in nutrient concentrations below a point source input in two streams draining catchments with contrasting land uses. *Science of the Total Environment*, 347: 217-229. doi: 10.1016/j.scitotenv.2004.12.022

Merseburger G. C., Martí E., Sabater F. eta Ortiz J.D. (2011). Point-source effects on N and P uptake in a forested and an agricultural Mediterranean streams. *Science of the Total Environment*, 409: 957-967. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.11.014

Mor J.R., Dolédec S., Acuña V., Sabater S. eta Muñoz I. (2019). Invertebrate community responses to urban wastewater effluent pollution under different hydro-morphological conditions. *Environmental Pollution*, 252: 483-492. doi: 10.1016/j.envpol.2019.05.114

Mulholland P.J., Helton A.M., Poole G.C., Hall R.O., Hamilton S.K., Peterson B.J., Tank J.L., Ashkenas L.R., Cooper L.W., Dahm C.N., Dodds W.K., Findlay S.E.G., Gregory S.V., Grimm N.B., Johnson S.L., McDowell W.H., Meyer J.L., Valett H.M., Webster J.R., Arango C.P., Beaulieu J.J., Bernot M.J., Burgin A.J., Crenshaw C.L., Johnson L.T., Niederlehner B.R., O'Brien J.M., Potter J.D., Sheibley R.W., Sobota D.J. eta Thomas S.M. (2008). Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading. *Nature*, 452: 202-206. doi: 10.1038/nature06686

Murphy J. eta Riley J.P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27: 31-36. doi: 10.1016/S0003-2670(00)88444-5

Niyogi D.K., Koren M., Arbuckle C.J. eta Townsend C.R. (2007). Stream communities along catchment land-use gradient: subsidy-stress responses to pastoral development. *Environmental Management*, 39 (2): 213-225. doi: 10.1007/s00267-005-0310-3

O'Brien J.M., Dodds W.K., Wilson K.C., Murdock J.N. eta Eichmiller J. (2007). The saturation of N cycling in Central Plains streams: ^{15}N experiments across a broad gradient of nitrate concentrations. *Biogeochemistry*, 84 (1): 31-49. doi: 10.1007/s10533-007-9073-7

Odum H.T. (1956). Primary production in flowing waters. *Limnology and Oceanography*, 1 (2): 102-117. doi: 10.4319/lo.1956.1.2.0102

Odum E.P., Finn J.T. eta Franz E.H. (1979). Perturbation theory and the subsidy-stress gradient. *Bioscience*, 29: 349-352. doi: 10.2307/1307690

Oksanen J., Blanchet F.G., Friendly M., Kindt R., Legendre P., McGlinn D., Minchin P.R., O'Hara R.B., Simpson G.L., Solymos P., Stevens M.H.H., Szoeics E. eta Wagner H. (2018). vegan: Community Ecology Package, R package version 2.5-2. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

Pascoal C., Pinho M., Cássio F. eta Gomes P. (2003). Assessing structural and functional ecosystem condition using leaf breakdown: studies on a polluted river. *Freshwater Biology*, 48: 2033-2044. doi: 10.1046/j.1365-2427.2003.01130.x

Pereda O., Acuña V., von Schiller D., Sabater S. eta Elosegi A. (2019). Immediate and legacy effects of urban pollution on river ecosystem functioning: A mesocosm experiment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169: 960-970. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.11.103

Petersen R.C. eta Cummins K.W. (1974). Leaf processing in a woodland stream. *Freshwater Biology*, 4: 345-368. doi: 10.1111/j.1365-2427.1974.tb00103.x

Pinheiro J. eta Bates D. (2000). Mixed-effects models in S and S-PLUS. Springer-Verlag, New York. ISBN: 978-0-387-98957-0. doi: 10.1007/b98882

Pinheiro J., Bates D., DebRoy S., Sarkar D. eta R Core Team (2018). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models, R package version 3.1-137. <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.

Proia L., Osorio V., Soley S., Köck-Schulmeyer M., Pérez S., Barceló D., Romaní A.M. eta Sabater S. (2013). Effects of pesticides and pharmaceuticals on biofilms in a highly impacted river. *Environmental Pollution*, 178: 220-228. doi: 10.1016/j.envpol.2013.02.022

Proia L., Romaní A.M. eta Sabater S. (2017). Biofilm phosphorus uptake capacity as a tool for the assessment of pollutant effects in river ecosystems. *Ecotoxicology*, 26 (2): 271-282. doi: 10.1007/s10646-017-1761-z

R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL. <https://www.R-project.org>.

Reichert P., Uehlinger U. eta Acuña V. (2009). Estimating stream metabolism from oxygen concentrations: the effect of spatial heterogeneity. *Journal of Geophysical Research*, 114 (G3): G03016. doi: 10.1029/2008JG000917

Rice J. eta Westerhoff P. (2017). High levels of endocrine pollutants in US streams during low flow due to insufficient wastewater dilution. *Nature Geoscience*, 10:587-591. doi: 10.1038/ngeo2984

Riis T., Dodds W.K., Kristensen P.B. eta Baisner A.J. (2012). Nitrogen cycling and dynamics in a macrophyte-rich stream as determined by a $^{15}\text{N}-\text{NH}_4^+$ release. *Freshwater Biology*, 57: 1579-1591. doi: 10.1111/j.1365-2427.2012.02819.x

Rodríguez-Castillo T., Barquín J., Álvarez-Cabria M., Peñas F.J. eta Álvarez C. (2017). Effects of sewage effluents and seasonal changes on the metabolism of the Atlantic rivers. *Science of the Total Environment*, 599-600: 1108-1118. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.05.067

Romero F., Sabater S., Timoner X. eta Acuña V. (2018). Multistressor effects on river biofilms under global change conditions. *Science of the Total Environment*, 627: 1-10. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.161

Rosi E.J., Bechtold H.A., Snow D., Rojas M., Reisinger A.J. eta Kelly J.J. (2018). Urban stream microbial communities show resistance to pharmaceutical exposure. *Ecosphere*, 9 (1): e02041. doi: 10.1002/ecs2.2041

Sabater S. eta Tockner K. (2010). Effects of hydrologic alterations on the ecological quality of river ecosystems. In: Water Scarcity in the Mediterranean (Eds. Sabater S. eta Barceló D.), pp. 15-39. Springer, Verlag., ISBN: 978-3-642-03971-3. doi: 10.1007/698_2009_24

Sabater S., Barceló D., De Castro-Catalá N., Ginebreda A., Kuzmanovic M., Petrovic M., Picó Y., Ponsatí L., Tornés E. eta Muñoz I. (2016). Shared effects of organic microcontaminants and environmental stressors on biofilms and invertebrates in impaired rivers. *Environmental Pollution*, 2016: 303-314. doi: 10.1016/j.envpol.2016.01.037

Sabater S., Elosegi A. eta Ludwig R. (2018). Multiple stressors in river ecosystems. *Status, impacts and prospects for the future*. (Eds. Sabater S., Elosegi A eta Ludwig R.), Elsevier, pp. 404. ISBN: 978-0-12-811713-2. doi: 10.1016/C2016-0-01770-9

Sánchez-Perez J.M., Gerino M., Sauvage S., Dumas P., Maneux É., Julien F., Winterton P. eta Vervier P. (2009). Effects of wastewater treatment plant pollution on in-stream ecosystems functions in an agricultural watershed. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, 45: 79-92. doi: 10.1051/limn/2009011

Skoulikidis N.T., Sabater S., Datry T., Morais M.M., Buffagni A., Dörflinger G., Zogaris S., Sánchez-Montoya M.M., Bonada N., Kalogianni E., Rosado J., Vardakas L., De Girolamo A.M. eta Tockner K. (2017). Non-perennial Mediterranean rivers in Europe: Status, pressures and challenges for research and management. *Science of the Total Environment*, 577: 1-18. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.10.147

Smeti E., von Schiller D., Karaouzas I., Laschou S., Vardakas L., Sabater S., Tornés E., Monllor-Alcaraz L.S., Guillem-Argiles N., Martinez E., Barceló D., López de Alda M., Kalogianni E., Elosegi A. eta Skoulikidis N. (2019). Multiple stressor effects on biodiversity and ecosystem functioning in a Mediterranean temporary river. *Science of the Total Environment*, 647: 1179-1187. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.105

Stutter M.I., Demars B.O.L. eta Langan S.J. (2010). River phosphorus cycling: Separating biotic and abiotic uptake during short-term changes in sewage effluent loading. *Water Research*, 44 (15): 4425-4436. doi: 10.1016/j.watres.2010.06.014

Subirats J., Triadó-Margarit X., Mandaric L., Acuña V., Balcázar J.L., Sabater S. eta Borrego C.M. (2017). Wastewater pollution differently affects the antibiotic resistance gene pool and biofilm bacterial communities across streambed compartments. *Molecular Ecology*, 26 (20): 5567-5581. doi: 10.1111/mec.14288

Tornés E., Mor J.R., Mandaric L. eta Sabater S. (2018). Diatom responses to sewage inputs and hydrological alteration in Mediterranean streams. *Environmental Pollution*, 238: 369-378. doi: 10.1016/j.envpol.2018.03.037

Tukey J. W. (1977). Exploratory Data Analysis. Reading, Massachusetts: Addison-Wesley Publishing Company. ISBN: 978-0-20-107616-5.

Verlicchi P., Al Aukidy M. eta Zambello E. (2012). Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment - A review. *Science of the total Environment*, 429: 123-155. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.04.028

von Schiller D., Acuña V., Aristi I., Arroita M., Basaguren A., Bellin A., Boyero L., Butturini A., Ginebreda A., Kalogianni E., Larrañaga A., Majone B., Martínez A., Monroy S., Muñoz I., Paunović M., Pereda O., Petrovic M., Pozo J., Rodríguez-Mozaz S., Rivas D., Sabater S., Sabater F., Skoulidakis N., Solagaistua L., Vardakas L. eta Elosegi A. (2017). River ecosystem processes: A synthesis of approaches, criteria of use and sensitivity to environmental stressors. *Science of the Total Environment*, 596-597: 465-480. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.04.081

Wagenhoff A., Townsend C.R., Phillips N. eta Matthaei C.D. (2011). Subsidy-Stress and multiple-stressor effects along gradients of deposited fine sediment and dissolved nutrients in a regional set of streams and rivers. *Freshwater Biology*, 56: 1916-1936. doi: 10.1111/j.1365-2427.2011.02619.x

Wagenhoff A., Townsend C.R. eta Matthaei C.D. (2012). Macroinvertebrate responses along broad stressor gradients of deposited fine sediment and dissolved nutrients: a stream mesocosm experiment. *Journal of Applied Ecology*, 49: 892-902. doi: 10.1111/j.1365-2664.2012.02162.x

Wagenhoff A., Lange K., Townsend C.R. eta Matthaei C.D. (2013). Patterns of benthic algae and cyanobacteria along twin-stressor gradients of nutrient and fine sediment: a stream mesocosm experiment. *Freshwater Biology*, 58: 1849-1863. doi: 10.1111/fwb.12174

Waizer M.J., Tumber V. eta Holm J. (2011). Effluent-dominated streams. Part I: presence ad effects of excess nitrogen and phosphorus in Wascana Creek, Saskatchewan, Canada. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30 (2): 496-507. doi: 10.1002/etc.399

Walsh C.J., Roy A.H., Feminella J.W., Cottingham P.D., Groffman P.M. eta Morgan II R.P. (2005). The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. *Journal of the North American Benthological Society*, 24 (3): 706-723. doi: 10.1899/04-028.1

Withers P.J.A. eta Jarvie H.P. (2008). Delivery and cycling of phosphorus in rivers: a review. *Science of the Total Environment*, 400 (1-3): 379-395. doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.08.002

Woodward G., Gessner M.O., Giller P.S., Gulis V., Hladyz S., Lecerf A., Malmqvist B., Mckie B.G., Tiegs S.D., Cariss H., Dobson M., Elosegi A., Ferreira V., Graça M.A., Fleituch T., Lacoursière J.O., Nistorescu M., Pozo J., Risnoveanu G., Schindler M., Vadineanu A., Vought L.B. eta Chauvet E. (2012). Continental-scale effects of nutrient pollution on stream ecosystem functioning. *Science*, 336 (6087): 1438-1440. doi: 10.1126/science.1219534

3. KAPITULUA

Hondakin uren araztegiien efluenteen kutsaduraren eragina ibai-ekosistemen funtzionamenduan: ekosistema- mailako manipulazio esperimentua

Olatz Pereda, Libe Solagaistua, Miren Atristain, Ioar de Guzmán, Aitor Larrañaga, Daniel von Schiller eta Arturo Elosegi

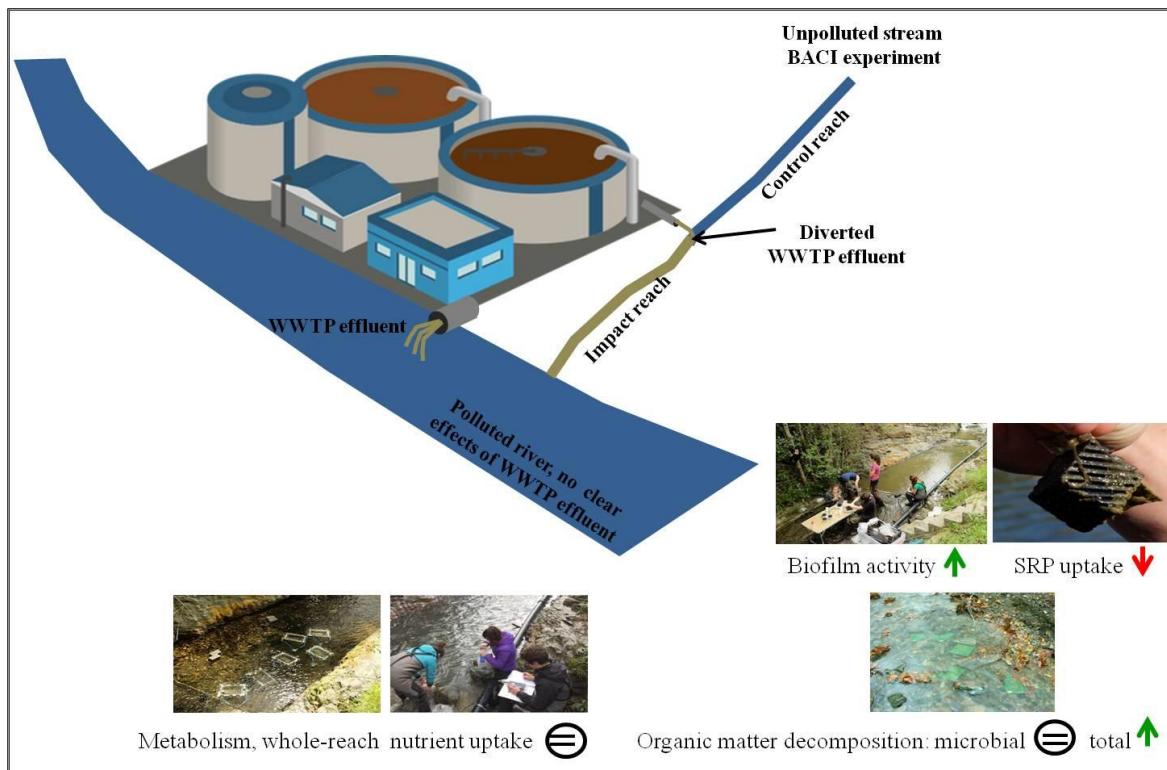
Environmental Pollution, *bidalita*

Laburpena

Gaur egun, hondakin uren araztegiatik eratortzen diren efluenteek erreka eta ibaietan eduki ditzakeen eraginei buruzko kezkak nabarmenki handitzen ari dira. Hala ere, ez da eginkizun erreza efektu horiek antzematea, araztegiaren efluenteen isurketak jasotzen dituzten erreka gehienak beste hainbat estres-iturriren menpe baitaude. Hortaz, lan honetan BACI (Before-After/Control-Impact, Aurretik-Ondoren/Kontrol-Inpaktu, alegia) motako diseinua zuen ekosistema-mailako manipulazio-experimentu baten emaitzak erakusten ditugu, zeinetan tratamendu tertziarioa zuen araztegi baten efluentearen parte bat kutsatu gabeko erreka batera askatu genuen eta isurketaren efektu ekologikoak urtebetetaz aztertu genituen ekosistemaren egituraren eta funtzionamenduan. Araztegiaren efluenteak, nahiz eta oso diluituta egon erreka hartzalean, esangarriki emendatu zituen biofilmaren klorofila eta biomasa, jarduera entzimatikoak eta ornogabeek eragindako materia organikoaren deskonposizioa, eta biofilmaren fosforoa atxikitzeo gaitasuna murriztu zuen. Biofilmaren metabolismoa, tramu-mailako mantenugaien atxikimendua eta materia organikoaren deskonposizio mikrobiarrak, ordea, ez zuten aldaketa esangarririk erakutsi isurketarekiko. Oro har, gure emaitzek erakusten dute araztegiaren efluenteek, nahiz eta tratamendu egokia jaso eta oso diluituta egon erreka edo ibai hartzaleetan, eragin garrantzitsuak eta konplexuak izan ditzaketela ekosistemaren egitura eta funtzionamenduan.

Hitz gakoak: *Kutsadura urbanoa; BACI; ekosistema-mailako manipulazioa; efluentearen diluzioa; ekosistemaren erantzuna.*

Laburpen grafikoa



Sarrera

Azken urteotan emandako garapen ekonomikoak eta aldaketa demografikoak aurrekaririk gabeko giza populazioaren tamainaren hazkunza eragin dute (Jones eta O'Neill, 2016). Hedapen horren albo-ondorio gisa, biologikoki aktiboak diren substantzien nahasketa konplexuak etengabe ari dira ur inguruneetara askatzen, zeintzuek mundu osoko ur gezetako ekosistemak mehatxatzen baitituzten. Herrialde garatuek diru-kantitate handiak bideratu dituzte saneamendura eta hortaz, hondakin uren araztegien (HUA) ezarpenera. Europan, esaterako, populazioaren %80ak baino gehiagok dagoeneko hondakin urak tratatzeko sistema garatuak ditu eskura (EEA, 2018). Hala ere, araztegien efluenteek kutsatzaile desberdin askoren nahasketa konplexuak isurtzen dituzte, bai materia organikoa eta mantenugaiak, baita metalak, pestizidak edota kutsatzaile organikoak ere dituztenak (Aristi *et al.*, 2015; Kuzmanović *et al.*, 2015). Substantzia hauetako batzuk toxikoak dira eta jarduera biologikoak murrizten dituzte, eta beste batzuk, mantenugaiak kasu, jarduera biologikoak emendatzen dituzte kontzentrazio baxuetan, baina atalase batetik aurrera jarduera biologikoak murrizteria ere igarotzen dira, Subsidio-Estres gisa ezagutzen den erantzun-patroia emanez (Odum *et al.*, 1979).

HUAen efluenteek erreka eta ibaietako komunitate biologikoetan eragina izan ditzakete, hala nola, komunitate mikrobiarretan (Drury *et al.*, 2013), algetan (Corcoll *et al.*, 2015), makrofitoetan (Gücker *et al.*, 2006), ornogabeetan (Ortiz eta Puig, 2007) edota arrainenetan (Northington eta Hershey, 2006). Gainera, komunitate biologikoetan ez ezik, araztegien efluenteek ekosistemaren funtzionamenduan ere eragina izan dezakete eta ekosistema-mailako prozesu gakoak eraldatu. Ildo horretatik, araztegien efluenteek biofilmaren hazkunza (Ribot *et al.*, 2015) edota jarduera entzimaticoak (Carreiro *et al.*, 2000) emenda ditzakete, zeintzuek ekosistemaren metabolismoa (Aristi *et al.*, 2015) eta materia organikoaren deskonposizioa (Ferreira *et al.*, 2015) bultzza ditzaketen, baina mantenugaiak atxikitzeko gaitasuna murriztu (Martí *et al.*, 2009). Hala ere, HUAetatik eratorritako efluenteen eraginak ibai-ekosistemako prozesuetan azertzen dituzten lanetako askok emaitza desberdinak eta kontrajarriak deskribatzen dituzte. Esaterako, ikerketa batzuek materia organikoaren deskonposizio tasen gorakada deskribatzen duten bitartean (adibidez, Solagaistua *et al.*, 2018), beste batzuek murrizketak (adibidez, Englert *et al.*, 2013) edota efektu ezak deskribatzen dituzte (adibidez, Baldy *et al.*, 2007). Emaitza hauek iradokitzen dute HUAen efluenteek erreka edota ibai hartzaletan eragingo dituzten efektuak efluentearen eta sistema hartzaleko uraren kontzentrazioaren eta konposizio kimikoaren araberakoak direla (Posthuma *et al.*, 2008; Altenburger *et al.*, 2015; Atashgahi *et al.*, 2015), baita erreka edota ibai hartzaleak duen diluzio-gaitasunaren araberakoak ere (Rice eta Westerhoff, 2017). Horrez gain, beste faktore batzuek ere baldintza ditzakete HUAen efluenteek sistema hartzalean eragingo dituzten efektuak, hala nola, erreken edota ibaien komunitate biologikoen egiturak (Segner *et al.*, 2014), estresarekiko esposizio-denborak (Camargo eta Alonso, 2006), efluenteek murriztu edota gehiago jasotzen ez direnean ere sistema hartzaleetan utz ditzaketen legatu efektuak (Jarvie *et al.*, 2013), eta ekosistema bakoitzaren erresistentzia- eta eresilientzia-gaitasun desberdinak (Jackson *et al.*, 2016). Azkenik, hainbat estres-iturrik errekkak eta ibaiak aldi berean eragin ahal izateak HUAen efluenteek sistema hartzalean eragingo dituzten efektuak ere baldintza ditzake (Sabater *et al.*, 2018), efektu

horiek estres-iturri desberdinaren elkarrekintza zuzen edota ez-zuzenen ondoriozkoak izango baitira (Romero *et al.*, 2018).

Nahiz eta modu ez-egokian tratatu edota oso kontzentrazio altuetan agertzen diren araztegien efluenteek efektu nabarmenak izan ditzaketen, modu egokian tratatutako eta sistema hartzalean oso diluitutako efluenteen efektu ekologikoak antzematea ez ohi da batere erreza; batez ere, efluente horiek jasotzen dituzten sistema hartzaleak aldi berean eragiten duten zenbait estresoreren menpe daudelako. Honek berebiziko garrantzia dauka ikerketek hondakin-uren tratamendurako araztegi bat ezarri ondoren emandako aldaketa temporalak deskribatzen dituztenean (Arroita *et al.*, 2018), edota efluenteen uretatik gora eta behera dauden tramuak alderatzen dituztenean (Drury *et al.*, 2013), horrelako diseinu esperimentalek ez baitituzte kontutan hartzen eragina izan dezaketen bestelako nahasketa-faktoreak (Underwood, 1991). Egoera honek diseinu esperimental sendoago baten beharra azpimarratzen du, bai epe-luzeko erantzunak baita ekosistemaren egituraren eta funtzionalitatearen erantzun desberdinak ere barneratuko dituena (Downes *et al.*, 2002).

Ondorioz, lan honetan aurrekaririk gabeko ekosistema-mailako manipulazio-bidezko landa-esperimentu baten emaitzak erakusten ditugu, zeinetan modu egokian tratatutako eta ekosistema hartzalean oso diluitutako efluente baten efektu ekologikoak aztertu genituen ekosistemaren egitura eta funtzionamenduan, BACI (Before-After/Control-Impact, Aurretik-Ondoren/Kontrol-Inpaktu, alegia) motako diseinu esperimentalaz baliatuz. HUAren efluentea oso diluituta zegoenez erreka hartzalean, eta hortaz efluenteak komunitate biologikoan eragin zitzakeen efektu toxikoak estaliko zituenet, efluenteak ekosistemaren egitura eta funtzionamendua emendatuko zituela iragarri genuen. Zehazki, efluentearen sarrerak biofilmaren biomasa emendatuko zuela, modu berdintsuaren emendatuz osagai autotrofoa zein heterotrofoa. Gainera, iragarri genuen komunitate biologikoan egituraren aldaketa horiek ekosistemaren funtzionamendua ere eraldatuko zutela, jarduera mikrobiarrak emendatuz, zeinak metabolikoki aktiboagoak izango baitziren, baina aldi berean disolbatutako mantenugaiak atxikitzeko ez hain eraginkorrak. Azkenik, jarduera mikrobiarren emendioaren ondorioz, materia organikoaren deskonposizioa ere emendatuko zela iragarri genuen.

Material eta Metodoak

Ikerketa-area eta esperimentuaren diseinua

Apraitzeko araztegia (Iberiar Penintsularen iparraldea, 43°13'41" N, 2°23'54" W) erreaktore biologikoen segida batean datza (<https://www.accion-aqua.com/es/areas-de-actividad/proyectos/dc-de-plantas-de-tratamiento-de-agua/edar/apraitz/>), non jatorri urbanoa eta industriala duten 90.000 biztanle baliokide baino gehiagoren hondakin urak tratatzen baitiren. Erreaktoreen segida horretan, batez beste, hondakin uren 9.400 m³ tratatzen dira egunero (Gipuzkoako Ur Kontsortzioa, Gipuzkoako Urak, *argitaratu gabeko datuak*). Lehenik eta behin, hondakin urak aktibatutako lokatzekin nahasten dira, eta txandaka baldintza aerobiko eta anaerobikoak ezartzen zaizkie materia organikoaren edukia murrizteko. Ondoren, hondakin

urak tratamendu tertziariora bideratzen dira nitrogeno (denitrifikazio tangen bidez) eta fosforo (sulfato ferrikoaren ondoriozko prezipitazio bidez) kontzentrazioak murritzeko. Azkenik, araztegitik ateratzen den efluentea Deba Ibaira askatzen da (gure ikerketak iraun bitartean kalkulatutako batez besteko emaria = $10,9 \pm 0,7 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, <http://gipuzkoa.eus/>) bi orduro ematen diren eta 20-40 minutu artean irauten duten isurialdi etenen bidez. Ingrumen-toxikologian oinarritutako beste ikerketa batzuek erakutsi dute araztegi honetatik eratorritako efluenteak eragin toxiko ahulak dituela mikroorganismo eta ornogabeen komunitateetan (Solagaistua *et al.*, 2018) eta gainera, ez dituela efektu ekologiko nabarmenak eragiten haren isurketa puntuaren azpitik, ez baititu esangarriki eraldatzen ez uraren ezaugarri kimikoak ezta komunitate biologikoen egitura ere (URA, 2017).

Araztegiaren isurketa-puntutik hamar metro beherago, Deba Ibaiak Apraitz Errekaren urak jasotzen ditu, kutsatu gabeko erreka txiki bat hareharriz eta lutitaz osatutako 7 km^2 -ko azalera duen drainatze-arrotik igarotzen dena eta $0,12 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ batez besteko emaria duena. Bere ibilbidearen azken 300 metroetan Apraitz Erreka HUAren ondotik igarotzen da, arroka amaz eta harkoskoz osatutako ur-laster eta putzuak nagusitzen diren tramu batetik, non, batik bat, hantzak (*Alnus glutinosa*), huritzak (*Corylus avellana*) eta lizarrok (*Fraxinus excelsior*) osatutako ibar-baso gazte eta trinkoa nagusitzen baien. Batez besteko prezipitazio eta tenperatura $1613 \text{ mm urte}^{-1}$ eta $12,7 \text{ }^\circ\text{C}$ -koak dira, hurrenez hurren (<http://gipuzkoa.eus/>). Araztegiaren efluentearen eraginak ekosistemaren egitura eta funtzionamenduan aztertzen, BACI motako diseinu esperimentala jarraitu genuen. Apraitz Errekaren beheko partean, 100na metroko luzerako bi tramu definitu genituen: Kontrola (efluentearen sarreratik gora) eta Inpaktu (efluentearen sarreratik behera). Bi tramuak bi hilabeterik behin aztertu genituen bi urtean zehar (2016/04/04tik 2018/06/30era), urtebetetan araztegiaren efluentea askatu baino lehen eta beste urtebetetan efluentaren parte bat Inpaktu tramura askatu ondoren. Araztegiaren efluentea Apraitz Errekara desbideratzeko sistema eraikitzeko, 12 metroko luzera zuen eta 4 metroko sakonera zuen lubakia indusi zen araztegiaren hustubidearen estoldara heltzeko eta ondoren, 125 milimetroko diametroko hodia estoldan sartu zen araztegiak efluentea askatzen zuen uneetan 10 L s^{-1} -ko emaria zuen isurketa Apraitz Errekara bideratzeko. Horrela, esperimentuan zehar Apraitz Errekan lortu genuen diluzio-gaitasuna Deba Ibaian behatutakoaren antzekoa izan zen (%0,2-4 eta %0,1-9, hurrenez hurren, biak efluentea askatutako fasesko eguneko batez besteko balioen bidez kalkulatuta, 1. irudia).

Hidrologia

Parametro hidraulikoak neurtzeko efluentea askatzen ez zeneko momentuetan NaCl gatzaren bat-bateko adizioak egin genituen, eta denboran zehar eroankortasun elektrikoak (EE) marrazten zuen kurbaren bidez kalkulatu genituen. Uraren batez besteko abiadura kalkulatzeko (m s^{-1}), aukeratutako tramuaren distantzia eroankortasun maximoak tramu amaierara heltzeko behar zuen denboragatik zatitzen genuen. Uraren emaria kalkulatzeko masa-balantzearen hurbilketa erabili genuen, zeinetan eroankortasun elektrikoaren datuak kloruro kontzentrazioaren baliokide bezala erabili baikenituen (Martí eta Sabater, 2009). Laginketa bakoitzean, bi tramuantzako datuak 2 ordu baino gutxiagotan lortzen genituen. Horrez gain, tramu

bakoitzean uraren maila neurtzeko zundak kokatu genituen (Solinst Levelogger Edge 3001; Solinst Canada Ltd., Georgetown, AEB). Ondoren, datu horiek presio atmosferikoarekiko zuzentzen genituen, tramuetako batean kokatutako beste zunda batzuek erregistratutako datuen bidez (Barologger, Solinst Levelogger Edge 3001). Horrela, aldez aurretik zuzendutako uraren mailaren balioak denboraren eta eroankortasun elektrikoaren artean kalkulatutako emariarekiko erlazionatzen ziren, ur-emariaren datu jarraituak lortzeko. Azkenik, laginketa bakoitzean ibilgu bustiaren zabalera neurtu genuen 10 metrotik behin.

Uraren ezaugarriak

Laginketa bakoitzean, bi tramuen amaieran eta araztegiaren efluentetik zuzenean, ur-laginak hartu eta ezaugarri fisiko-kimikoak neurtzen genituen efluentea askatzen ari zeneko (efluentea isurtzen hasi eta ondorengo 10 minutuetan zehar, gutxi gorabehera) eta askatzen ez zeneko momentuetan (efluentearen askapena amaitu eta handik ordubetera, gutxi gorabehera). Ezaugarri fisiko-kimikoei dagokiela, pH-a, tenperatura (T), eroankortasun elektrikoa (EE) eta uraren oxigeno disolbatuaren (OD) saturazioa neurtu genituen eskuko zundak erabiliz (WTW Multi 350i and WTW 340i SET, WTW Wissenschaftlich, Weilheim, Alemania; YSI ProODO handled; YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, AEB). Bestalde, ur-laginak zuzenean iragazten genituen (0,7 mikrometroko poro-tamaina zuten aurretiaz erraustutako filtroen bidez, Whatman GF/F, Whatman International Ldt., Kent, Erresuma Batua) eta izoztu, zegozkien analisiak burutu arte. Uretan disolbatutako fosforo errektiboaren (DFE) [molibdatoaren metoda (Murphy eta Riley, 1962)] eta amonioaren (NH_4^+) [salizilatoaren metoda (Reardon *et al.*, 1966)] kontzentrazioak espektrofotometria bidez neurtu genituen (Shimadzu UV-1800 UV-Vis, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonia). Anioi nagusien kontzentrazioak [nitratoak (NO_3^-), nitritoak (NO_2^-), sulfatoak (SO_4^{2-}) eta kloruroak (Cl^-)] ioi bidezko elektroforesi kapilarrairekin neurtu genituen (Agilent G1600AX 3D, Agilent Technologies, Wilmington, DE, AEB) (Ingurumenaren Babeserako Agentzia, 2007). Disolbatutako nitrogeno inorganikoaren kontzentrazioa (DNI) nitrato, nitrito eta amonio anioien kontzentrazioen batuketaren bidez adierazi genuen. Disolbatutako karbono organikoa (DKO) eta nitrogeno totala (DNT) oxidazio katalitikoaren bidez neurtu genituen, TNM-L unitate batera akoplatutako Shimadzu TOC-L analizatzaire bat erabiliz (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonia). Horrez gain, hainbat emergentziakutsatzaileren kontzentrazioak ere neurtu genituen (herbizidak, hormonak, garbiketa eta zaintza-produktuak, jatorri industrialeko kimikoak eta produktu farmazeutikoak, beste zenbaiten artean) araztegiaren efluentearen isurketa hasi eta hurrengo hilabetean zehar (ikus Solagaistua eta lankideek (2018) burututako lana detaile gehiagorentzat).

Biofilma

Esperimentua hasi baino hiru hilabete lehenago, substratu artifizialak (20 x 10 x 8 zentimetroko dimentsioa zuten granitzeko galtzada-harriak) inkubatu genituen errekaren bi tramuetan zehar biofilmaren kolonizazioa ahalbidetzeko. Laginketa bakoitzean, tramu bakoitzaren ibilgu hezean zeuden zoriz aukeratutako bost substratu artifizialetan hazitako biofilma lagintzen genuen, bost harrietako hiru aurretiaz metabolismo neurketetarako erabili ondoren (ikusi ondorengoa azpiatala). Biofilma lagintzeko, substratu

artifizialen gainazal osoa marruskatzen genuen eta lortutako nahasketa ("biofilm-zopa") iragazitako errekako urarekin nahasten genuen (0,7 mikrometroko poro-tamaina, Whatman GF/F). Substratu artifizial bakoitzeko biofilm-zopa bat lortzen genuen eta banaka mantentzen genituen polietlenozko poteetan. Behin laborategian, biofilm-zopen hasierako bolumena neurten genuen eta horietako bakoitza ehogailu batez homogeneizatzen genuen (IKA Ultra-Turrax T25 Basic, Werke GmbH eta Co. KG, Staufen, Alemania). Ondoren, zopa horietako bakoitza hiru azpi-laginetan banatzen genuen: bi azpi-lagin biofilmaren biomasa eta klorofila (Chl-a) kontzentrazioaren neurketara bideratzen genituen eta izoztuta mantentzen genituen analisiak egin arte; beste azpi-lagina, ordea, jarduera entzimatikoen neurketara bideratzen genuen eta laginka bakoitzaren ondoren zuzenean erabiltzen genuen.

Biofilmaren biomasa neurtzeko, hiru azpi-laginetako bat hartu eta aurretiaz pisatutako filtroetan iragazten genuen (0,7 μm -ko poro-tamaina, Whatman GF/F), zeinak ondoren lehortu (70°C , 72h), pisatu, erraustu (500°C , 5h) eta berriro ere pisatzen genituen errautsik gabeko pisu lehorra neurtzeko (EGPL). Kalkulatutako GPL balioak substratu artifizialen azalerarengatik zatitzen ziren emaitzak azalera unitateko adierazteko (g GPL m^{-2}). Klorofila kontzentrazioa neurtzeko, azpi-lagina aurretiaz erraustutako filtroetan iragazten genuen (0,7 μm -ko poro-tamaina, Whatman GF/F) eta filtroak %90eko purutasuna zuen azetonan erauzten genituen (4°C , 12 h ilunetan) (Steinman *et al.*, 2006). Klorofilaren erabateko erauzketa ziurtatzeko, ordea, laginak sonikatu (Selecta sonikazio-bainua, 360 watt-eko potentzia eta 50/60 hertz-eko frekuentziarekin, JP Selecta S.A., Bartzelona, Spainia) eta zentrifugatzen genituen (2000 bira minutuko, G-balioa = 657,4, P-Selecta Mixtasel, JP Selecta S.A.). Ondoren, laginen klorofila kontzentrazioa espektrofotometria bidez neurtzen genuen (UV-1800 UV-Vis, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonia) haien absorbantzia neurtuz 665 eta 750 nm-ko uhin-luzeretan, Jeffrey eta Humphrey-k (1975) proposatutako metodologiari jarraiki. Lortutako klorofila balioak azalera unitateko ere adierazten genituen (mg Chl-a m^{-2}). Horrez gain, biofilmaren indize autotrofikoa (IA) ere kalkulatu genuen, GPL eta Chl-a kontzentrazioaren ratioaren bidez (Steinman *et al.*, 2006).

Fosforo organikoaren atxikimenduarekin (fosfatasa alkalinoa, FA) eta zelulosa eta hemizelulosen degradazioarekin (β -glukosidasa, BG) erlazionatutako entzimen zelulaz kanpoko jarduerak Saiya-Cork eta lankideek (2002) proposatutako metodologiaren arabera neurtu genituen. Horretarako, fluoreszentzia bidez bateratutako substratu artifizialak, 4-metilumbeliferil (MUF)-fosfatasa eta (MUF)- β -D-glukopiranosidoa, hurrenez hurren, erabiltzen genituen. Entseguak 96 zulo zituzten mikroplaketan egiten genituen (BRANDplates® microplates, BRAND GMBH + CO KG, Wertheim, Alemania), zeintuetan biofilm laginak azetato bufferrarekin nahasten genituen (50 mM, pH = 5) eta 30 minutuz ilunpetan inkubatu. Biofilm laginik gabeko zuriak eta MUFaren kalibrazio zuzena ($0\text{-}100 \mu\text{mol L}^{-1}$) ere inkubatzen genituen berezko fluoreszentzia eta quenchinagatik zuzentzeko. Erreakzioa geldiarazteko NaOH bufferra (1,0 M) gehitzen genuen (1/1, volumen/volumen). Laginen fluoreszentzia 365/445 nm-ko kitzikapen/emisio uhin-luzeretan neurten genuen (37°C) mikroplakak irakur zitzakeen fluorimetro baten bidez (Tecan GENios, Cavro Scientific Instruments Inc., Sunnyvale, Kalifornia) eta emaitzak azalera unitateko ere adierazten genituen ($\mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$).

Biofilmaren fosforo (DFE) atxikimendu-gaitasuna neurtzeko, biofilm-eraamaileak erabili genituen, substratu artifizial txiki batzuk (2,5 cm-ko kuboak, SERA GmbH D52518, Heinsberg, Alemania) orokorrean akuarioetan erabiltzen direnak biofilmaren atxikimendua errazteko, duten azalera-bolumen erlazio altuagatik. Esperimentua hasi baino lehen, biofilm-eraamaileak bi tramuetako bakoitzean zoriz aukeratutako bost lekutan inkubatu genituen, pitaren bidez zuhaitzen sustraiei edota metalezko barrei lotuta. Laginketa bakoitzean, bost lekuetako bakoitzean biofilm-eraamaile bat berreskuratzen genuen (guztira 5 lortuz tramu bakoitzeko) eta gehiago jartzen genituen, hurrengo laginketetarako biofilmak kolonizatuta egon zitezen. Jaso ondoren, errekako urarekin mantentzen genituen plastikozko pote ilunetan. Behin laborategian, biofilm-eraamaileak aklimataziorako sortutako soluzio baten 200 mL-tan aklimatatzenten genituen [1:5 karbonatutako Perrier ur-minerala (Nestlé, Vergèze, Frantzia): desionizatutako ura], mikromantenugaien eskuragarritasuna bermatzeko diseinatu genuena (inkubaziorako baldintzak: 30 min, 100 bira minutuko agitazio-abiadura, 20 °C eta argia $\sim 180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Agitator-Incubator INF-66123 Multitron Standard, BIOGEN Científica S.L., Madril, Spainia). Aklimatazioaren ondoren, biofilm-eraamaileak banaka murgiltzen genituen soluzio berdinaren 45 mL-tan baina fosforoa gehitura (K_2HPO_4 , 10 mM = 310 mg P L⁻¹), 5 µM-eko (155 µg P L⁻¹) amaierako kontzentrazioa lortuz, eta baldintza berdinetan inkubatzen genituen beste ordubetez. Amaierako kontzentrazio hori aukeratu genuen biofilmarentzako asebetetze-baldintzak ziurtatzeko baina aldi berean, inkubazioan zehar mantenugaien beherakada ikusi eta mantenugaien atxikimendua kalkulatu ahal izateko. Inkubazioaren ondoren, pote bakoitzetik 10 mL ur iragazten genituen (0,7 µm-ko poro-tamaina, Whatman GF/F) eta laginak izotzen genituen zegozkiengi analisiak burutu arte. Kolonizatu gabeko biofilm-eraamaileak ere erabiltzen genituen kontrol edo zuri gisa. Azkenik, biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasuna zurien eta kolonizatutako substratu artifizialen arteko batez besteko fosfato kontzentrazioaren diferenciaren bidez kalkulatzen genuen, betiere inkubaziorako erabilitako ur-bolumena eta denbora kontutan hartuta (µg P h⁻¹) (Elosegi *et al.*, 2018).

Biofilmaren metabolismoa ganbara itxietan neurtu genuen, Apraitz Errekaren turbulentzia altuak eta aukeratutako tramuen distantzia laburrak metodo irekiak erabiltzea eragotzi baitzuten (Bott *et al.*, 1978). Laginketa bakoitzean, substratu artifizial gisa erabilitako granitozko hiru galtzada-harri berreskuratzen genituen eta ondoren, banaka inkubatzen genituen metakrilatozko ganbaretan (20 x 30 x 15 cm). Inkubazioak beti egiten genituen araztegiaren isurketa askatzen ez zeneko momentuetan Kontrol tramua amaineran zegoen putzu handi batean, eta ganbara guztiak Kontrol tramuko urez betetzen genituen. Modu horretan, araztegiaren isurketak neurketetan eraginik ez izatea ziurtatzen genuen eta horrez gain, argi, temperatura eta uraren kimikaren baldintza berdinak. Argipean burututako inkubazioen fotosintesiak baldintza ilunetan komunitate heterotrofoaren jarduera bultza dezakeela bagenekien arren (Espeland *et al.*, 2001), eskura genuen ganbara kopuruak argipeko eta ilunpeko inkubazioak aldi berean, ganbara denetan baldintza berdinak mantentzen genituen bitartean, burutzea eragotzi zigun. Ganbarenean, ura etengabe birzikulatzen zen akuarioetan erabiltzen diren ur-ponpen bidez (Syncra Silent, Sicce, SICCE S.R.L., Pozzoleone, Italia). Argipean 2 orduz inkubatu ondoren, uraren oxigeno disolbatuaren kontzentrazioa neurzen genuen ganbara bakoitzean (YSI ProODO eskuko zunda erabiliz). Ondoren, ganbara guztiak plastiko beltz eta opako batekin estaltzen genituen, beste bi orduz inkubatzen

genituen eta denbora hori igarotzean, oxigeno disolbatuaren kontzentrazioa berriro ere neurtzen genuen. Ilunetan emandako oxigeno kontzentrazioaren aldaketak komunitatearen arnasketa kalkulatzeko (KA) erabiltzen genituen eta argitan emandako kontzentrazio aldaketak, ordea, komunitatearen metabolismo garbia (KMG) kalkulatzeko. Azkenik, komunitatearen ekoizpen primario gordina (EPG) KMG eta KA gehituz kalkulatzen genuen (Fellows *et al.*, 2001). Parametro guziak bi neurketen arteko oxigeno disolbatuaren kontzentrazioen diferenciaren bidez kalkulatzen genituen, inkubazioen denbora-tarte zehatzak, ganbara bakoitzean erabilitako ur-bolumena eta substratu artifizialen azalera kontutan hartuz ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$). Azkenik, tasa metabolikoak biofilmaren biomasarengatik zuzendu genituen (hau da, EPG Chl-*a* kontzentrazioagatik, eta KA biofilmaren biomasa totalagatik), biofilmaren efizientzia metabolikoan egon zitezkeen balizko aldaketak aztertzeko.

Tramu-mailako mantenugaien atxikimendua

Tramu mailako mantenugaien atxikimendua amonioarentzat (NH_4^+ , NH_4Cl moduan) eta uretan disolbatutako fosforo errektiboarentzat (DFE, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ moduan) neurtu genuen bat-bateko adizioen bidez (Martí eta Sabater, 2009). Bi mantenugaiak errekkako uraren 20 litrotan disolbatu genituen NaCl gatzarekin batera, trazataile kontserbadore hidrologiko gisa erabiltzen genuena (Bencala *et al.*, 1987). Laginketa bakoitzean, prestatutako soluzioa bat-batean askatzen genuen errekkako tramu bakoitzaren goialdean, errekkako urarekin nahasketak azkarra ziurtatzen zen lekuak, araztegiaren efluentea askatzen ez zeneko momentuetan. Tramu bakoitzaren amaieran, eroankortasun elektrikoaren (EE) balioak 10 segundoro automatikoki hartzen genituen EE neurtzeko eskuko zunda baten bidez (WTW 340i SET), adizioaren hasieratik baldintza basalak itzuli arte. Errekan askatutako ur-masa gazia tramuaren amaieratik igarotzen zen heinean, 25 ur-lagin inguru hartzen genituen mantenugai bakoitzarentzat, bertan iragazten genituen ($0.7 \mu\text{m}$ -ko poro-tamaina, Whatman GF/F) eta izoztuta mantentzen genituen zegozkien analisiak burutu arte. Mantenugaien atxikimenduaren metrikak kalkulatzeko masa-balantzea erabili genuen (Martí eta Sabater, 2009): (i) atxikimendu-distantzia (Sw , m), zeinak mantenugai-molekula bakoitzak ur-zutabetik kanporatua izan arte egiten duen distantzia adierazten duen, (ii) atxikimendu-abiadura (Vf , m s^{-1}), zeinak mantenugai-molekula bakoitza ur-zutabetik kanporatua deneko abiadura adierazten duen, eta (iii) atxikimendu-gaitasuna azalera unitateko (U , $\mu\text{g min}^{-1} \text{ m}^{-2}$), zeinak ur-zutabeak azalera eta denbora unitateko atxikitzen duen mantenugaien masa edo kantitatea adierazte duen.

Materia organikoaren deskonposizioa

Zuhaitzetatik erori berriko hultz hostoak (*Alnus glutinosa*) bildu genituen, airean lehortu pisu konstantea lortu arte eta plastiko ilunezko poltsetan gorde genituen erabili arte. Laginketa bakoitzerako, hultz hostoak hartu eta orbel poltsa fin ($100 \mu\text{m}$, $3 \pm 0,05$ g poltsa bakoitzeko) eta larrietan (5 mm , $4 \pm 0,05$ g poltsa bakoitzeko) sartzen genituen, tamaina desberdinako kontsumitzaleek materia organikoaren deskonposizioan zuten eragina neurtzeko. Orbel poltsa finak larrien barnean sartzen genituen, bi poltsak baldintza berdinatan zeudela ziurtatzeko eta gainera, ornogabeek poltsa larrietan zeuden orbel hostoak eskuratu ahal izateko, baina ez poltsa finetan zeudenak, non deskonposizioa komunitate mikrobiarrak

burutzen baitzuen. Behin errekan, prestatutako orbel poltsak pitarekin lotzen genituen biofilm-eramaileak kokatu genituen zorizko bost leku berdinetan eta bertan, 3-4 astez inkubatzen genituen. Inkubazioaren ondoren, orbel-poltsak berreskuratu eta laborategira hozkailuan eramatzen genituen. Laborategian orbel-poltsetan gelditzen ziren hostoak uretakik pasatzen genituen ager zitezkeen ornogabeak eta partikula mineralak kentzeko. Ondoren, lehortu egiten genituen ($70\text{ }^{\circ}\text{C}$, 72 h), pisatu, erraustu ($500\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 h) eta berriro ere pisatu errautsik gabeko pisu lehorra kalkulatzeko (EGPL). Horrez gain, Kontrol tramuan beste bost orbel poltsa inkubatu genituen bi astez, erabilitako orbelaren lixibazio tasak kalkulatzeko eta horrela, esperimentuan erabilitako hostoen hasierako pisu lehorra zuzentzeko. Deskonposizio tasak amaierako eta hasierako GPL balioen ratioaren bidez kalkulatzen genituen, eredu esponentzial negatiboa erabiliz (Petersen eta Cummins, 1974) eta hortaz, emaitzak egunetan espresatu genituen (d^{-1}).

Datuene analisia

Aldagai bakoitzarentzat efluentearen sarrerak eduki zuen efektuaren tamaina kalkulatu genuen 1. ekuazioan adierazitako formula jarraituz. Batetik beherako balioek efluentearen sarrerak prozesu horiek murriztu zituela adierazten du, eta batetik gorakoek, efluenteak prozesu horiek emendatu zituela.

$$1. \text{ ekuazioa: Efektuaren tamaina} = \frac{\text{Isurketaren ondoren (Inpaktu/Kontrol)}}{\text{Isurketaren aurretik (Inpaktu/Kontrol)}}$$

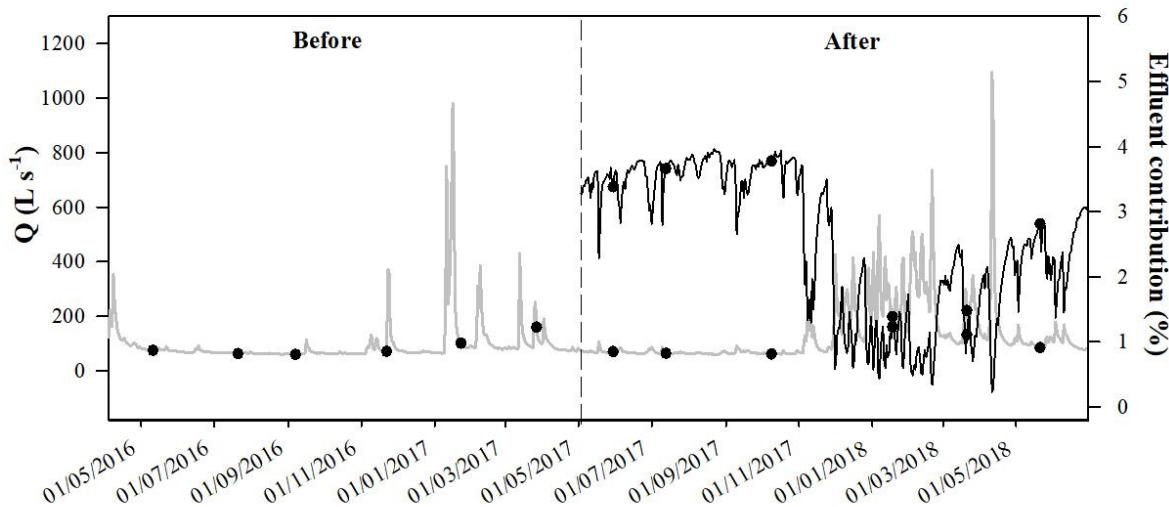
Efluenteak errekan neurtutako ekosistema-mailako erantzunetan eduki zituen efektu eta ondorioak aztertzeko, gure datuak eredu Gausiarretara doitu genituen (Madsen eta Thyregod, 2010; Zuur *et al.*, 2010): biofilm komunitatearen egitura (GPL, Chl-a) eta funtzionamendua [FA, BG, fosforoa atxikitzeo gaitasuna eta metabolismoa (EPG, KA, EPG/Chl-a, KA/GPL)], eta materia organikoaren deskonposizioa (mikrobiarra, totala). Parametroen estimaziorako, orokortutako minimo karratuak erabili genituen (Pinheiro eta Bates, 2000), nlme paketeak duen “gls” funtzioaren bidez (Pinheiro eta Bates, 2016). Ereduaen egitura finkoak laginketa-sasoia [isurketa aurretik edo ondoren] eta tramuak (Kontrol edo Inpaktu) barneratzen zituen, biak aldagai esplikatzaile diskretu bezala sailkatuak, baita haien arteko interakzioa ere. Laginketa bakoitza zorizko aldagai bezala gehitu genuen ereduan. Efluentearen efektua laginketa-sasoiaaren eta tramuaren arteko interakzioak ematen zigun (BA:CI). Erabilitako modeloetako batzuetan, Akaike Informazio Irizpideen (AII) konparazioek bariantzaren estruktura gehitzeko beharra azaleratu ziguten, heterozedastitate arazoak gainditu eta laginketa bakoitzean bariantza desberdinak edukitzea ahalbidetzeko. Uraren ezaugarrientzat eta tramu-mailako mantenugaien atxikimenduarentzat (amonio eta disolbatutako fosforo erreaktiboaren Sw , Vf and U), ordea, laginketa bakoitzeko erreplika bakarra genuenez, datuak modelo linealak erabiliz aztertu genituen eta parametroen estimak mugatutako probabilitate maximoen bidez gauzatu genituen, nlme paketeak duen “lme” funtzioaren bidez (Pinheiro eta Bates, 2017). Neurtutako aldagai gehienentzako datu-base osoa genuen, tramu-mailako mantenugaien atxikimendu eta biofilmaren metabolismorako izan ezik, zeintzuk ezin izan genituen modu egokian estimatu laginetetako batzuetan arazo teknikoengatik (hala nola, zundek ez zutelako ondo funtzionatu edota laginetako batzuk galdu genituelako). Beharrezkoa zen kasuetan, analisi parametrikoen

eskakizunetara doitzeko, datuak logaritmizatu genituen. Esangarritasuna onartzeko, oro har, $p < 0.05$ balioak erabili genituen. Analisi estatistiko guztiak R softwarearen 3.4.0. bertsioarekin egin genituen (R Development Core Team, Viena, Austria).

Emaitzak

Hidrologia

Esperimentuak iraun bitartean, Apraitz Errekak oso goraldi markatuak eta hidrografia uhartsua erakutsi zituen. Emariaren batez besteko balioa 118 L s^{-1} -koak zen eta euri sasoiek eragindako emari maximoa eta agorraldietako minimoa 1.095 eta 60 L s^{-1} -koak izan ziren, hurrenez hurren. Efluenteak errekaren Inpaktu tramuan egunean izandako batez besteko kontzentrazioa %3koak zen, nahiz eta %0,2 eta 4 balioen artean aldatu zen (1. irudia).



1. Irudia: Kontrol tramuko eguneko batez besteko uraren emaria ($Q, \text{L s}^{-1}$) (marra grisa, ezkerreko ardatza) eta araztegiaren efluentearen kontribuzioa (%) Inpaktu tramuan efluentea askatzen hasi eta ondorengo laginketa-sasoian zehar (marra beltza, eskumako ardatza). Puntu beltzek laginketa bakoitza adierazten dute eta lerro etenak efluentearen sarreraren hasiera adierazten du.

Uraren ezaugarriak

Araztegiaren efluenteak honako ezaugarri hauek erakutsi zituen: pH neutroa, batez beste errekkako ura baino $3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ beroagoa, 3 aldiz altuagoa zen eroankortasun elektrikoa, bi aldiz baxuagoa zen oxigeno disolbatuaren saturazioa eta 4-90 aldiz altuagoak ziren mantenugai eta disolbatutako karbono organikoaren kontzentrazioak (1. taula). Gainera, efluenteak kutsatzaile emergenteen kontzentrazio altuak ere erakutsi zituen; batez ere, AHB-ena (*Angiotentsina II Hartzalearen Blokeatztaileak*, Valsartan, Irbesartan, Eprosartan eta Telmisartan moduko substantziak biltzen dituen droga ez-antibiotikoen taldea, sistema ernenina-angiotentsina modulatzen duena eta hipertensioa tratatzeko erabiltzen dena), kafeina (gehiengos kontsumitzen den nerbio-sistema zentralaren kitzikatzalea) eta kaloriarik gabeko azukrearen

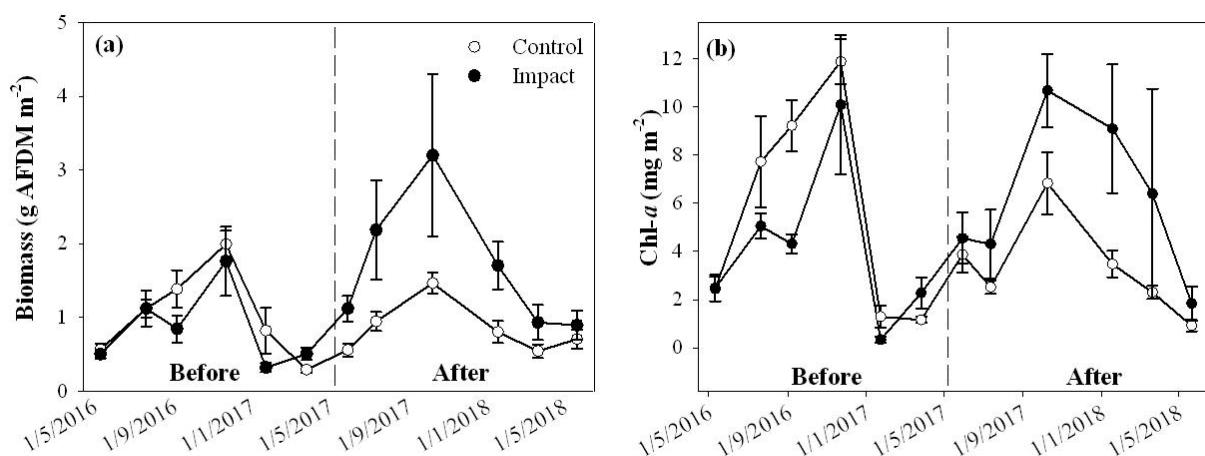
ordezkatzaileak (Azesulfame edota Sukralosa moduko substantziak, alegia). Efluentea askatzen ari zeneko momentuetan Inpaktu tramuko ezaugarri fisiko-kimiko gehienak esangarriki aldatu ziren (1. taula, S1 taula). pH eta oxigeno disolbatuaren saturazioaren balioak 0,9 aldiz murriztu ziren hasierako balioekiko alderatuta (BA:CI, $p = 0,007$ eta $p = 0,04$, hurrenez hurren), eroankortasun elektrikoaren balioak 1,5 aldiz emendatu ziren (BA:CI, $p < 0,001$), eta tenperaturak, ordea, ez zuen eragin esangarrikin erakutsi efluentearen sarrerarekiko (BA:CI, $p = 0,20$). Era berean, isurketak mantenugai gehienen kontzentrazioak esangarriki emendatu zituen, nahiz eta aldaketa nabarmenenak amonioaren (5,2 aldiz kontzentrazio altuagoak: BA:CI, $p = 0,06$) eta fosforoaren (2,4 aldiz kontzentrazio altuagoak: BA:CI, $p = 0,004$) kasuetan deskribatu genituen. Hala ere, kasu gehienetan diferentzia horiek desagertu egiten ziren araztegiaren efluentea askatzen ez zeneko momentuetan (1. taula, S1 taula), amonioaren kasuan izan ezik, zeinak 2,34 aldiz altuagoak ziren kontzentrazioak erakusten zituen oraindik ere (BA:CI, $p = 0,04$).

1. Taula: Uraren ezaugarriak Kontrol eta Inpaktu tramuetan araztegiaren efluentearen isurketa hasi baino lehen eta ondoren, araztegiaren efluentearen ezaugarrikin batera. Efluentearen isurketa hasi eta ondorengo laginketa-sasoian araztegiaren efluentea askatzen ari zeneko eta ez zeneko momentuen arteko desberdintasuna egina dago. Erakutsitako balioak batez besteko balioak \pm errore estandarrak dira, fase bakoitzeko 6 laginketen ($n = 6$) balioen bidez kalkulatuta.

Laginketa-sasoia	Errekako ura				Efluentea	
	Isurketaren aurretik		Isurketaren ondoren		Inpaktua - <i>Efluentearen askapena</i>	Inpaktua - <i>Efluentearen askapenik gabe</i>
	Kontrola	Inpaktua	Kontrola	<i>Efluentearen askapena</i>		
Tramua						
pH	8,0 \pm 0,1	7,9 \pm 0,04	7,7 \pm 0,3	7,1 \pm 0,3	7,8 \pm 0,1	7,1 \pm 0,3
T (°C)	14,1 \pm 0,1	14,5 \pm 0,04	13,3 \pm 0,01	15,1 \pm 0,2	13,3 \pm 0,02	17,8 \pm 0,02
EE (μ S cm $^{-1}$)	279 \pm 18	277 \pm 19	289 \pm 18	427 \pm 58	320 \pm 44	791 \pm 68
OD (%)	103 \pm 2	101 \pm 2	100 \pm 1	92 \pm 1	97 \pm 1	57 \pm 2
Cl $^{-}$ (mg L $^{-1}$)	12 \pm 1	13 \pm 3	15 \pm 2	27 \pm 6	17 \pm 2	107 \pm 17
SO $_{4}^{2-}$ (mg L $^{-1}$)	47 \pm 4	43 \pm 8	43 \pm 4	33 \pm 2	46 \pm 7	46 \pm 8
NO $_2$ (mg N L $^{-1}$)	0,02 \pm 0,00	0,03 \pm 0,004	0,02 \pm 0,00	0,5 \pm 0,3	0,1 \pm 0,1	1,5 \pm 0,9
NO $_3$ (mg N L $^{-1}$)	0,6 \pm 0,1	0,7 \pm 0,2	0,6 \pm 0,1	1,3 \pm 0,3	0,7 \pm 0,1	6,2 \pm 1,9
NH $_4^+$ (mg N L $^{-1}$)	0,01 \pm 0,001	0,01 \pm 0,001	0,01 \pm 0,002	0,2 \pm 0,1	0,04 \pm 0,002	0,5 \pm 0,3
DNI (mg N L $^{-1}$)	0,6 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	1,9 \pm 0,3	0,8 \pm 0,1	8,2 \pm 1,3
DNT (mg N L $^{-1}$)	1,1 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	2,3 \pm 0,4	1,1 \pm 0,1	10,2 \pm 1,2
DKO (mg C L $^{-1}$)	3,5 \pm 0,2	3,9 \pm 0,5	3,4 \pm 0,4	4,2 \pm 0,9	3,0 \pm 0,4	13,8 \pm 1,9
DFE (mg P L $^{-1}$)	0,01 \pm 0,003	0,02 \pm 0,004	0,02 \pm 0,01	0,2 \pm 0,1	0,01 \pm 0,002	1,1 \pm 0,4

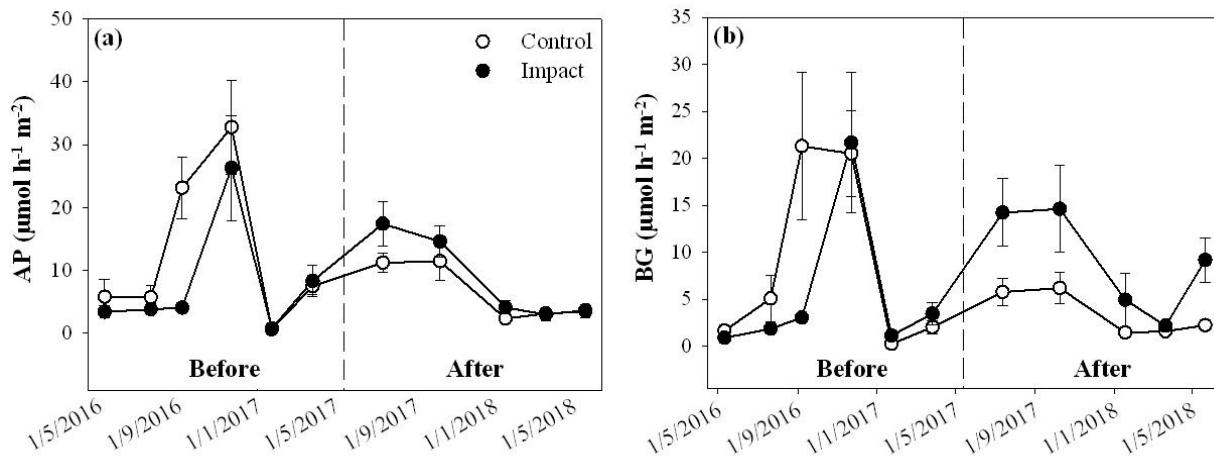
Biofilma

Araztegiaren efluenteak esangarriki eraldatu zuen biofilmaren egitura, bai biomasa baita klorofila kontzentrazioa ere emendatuz (S1 taula). Efluentea askatu aurretik biofilmaren biomasa antzekoa zen Kontrol eta Inpaktu tramuetan (batez besteko balioa \pm errore estandarra = $1,03 \pm 0,25$ eta $0,84 \pm 0,22$ g AFDM m⁻², hurrenez hurren), baina efluentearen sarrerak 2,1 aldiz emendatu zituen Inpaktu tramuaen balioak (BA:CI, $p < 0,001$, 2a irudia). Klorofila kontzentrazioak antzeko joera erakutsi zuen, efluentearen isurketaren aurreko laginketa-sasoian (Before) antzeko balioak erakutsiz bi tramuetan (Kontrola: $5,62 \pm 1,87$ eta Inpaktua: $4,09 \pm 1,38$ mg m⁻²), eta balioak 2,3 aldiz handituz Inpaktu tramuan efluentearen sarreraren ondoren (BA:CI, $p = 0,005$, 2b irudia). Efluentearen sarrerak, ordea, ez zuen esangarriki eraldatu biofilmaren indize autotrofikoia (IA), hau da, biofilmaren konposatu autotrofo eta heterotrofoen arteko oreka (BA:CI, $p = 0,23$, S1 taula).



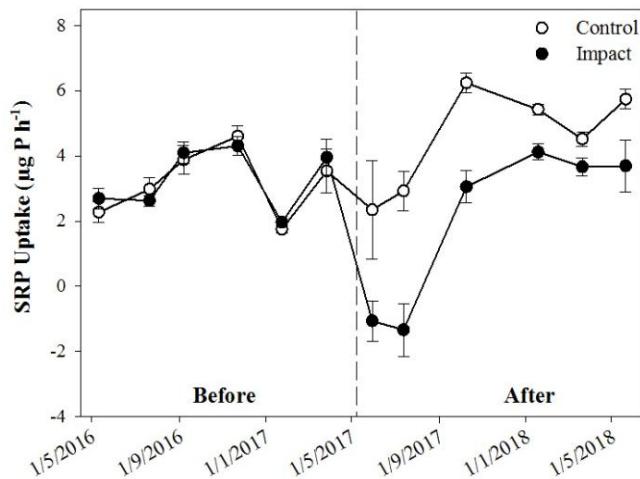
2. Irudia: Biofilmaren biomasa (a) eta klorofila kontzentrazioa (b) Kontrol eta Inpaktu tramuetan araztegiaren efluentea askatzen hasi aurretik eta ondoren. Lerro etenak efluentearen sarreraren hasiera adierazten du. Erakutsitako balioak batez bestekoak \pm errore estandarrak dira.

Araztegiaren efluenteak biofilmaren zelulaz kanpoko jarduera entzimatikoak ere emendatu zituen (S1 taula). Efluentea askatu aurretik, fosfatasa alkalinoaren (FA) balioak altuagoak ziren Kontrolean Inpaktu tramuan baino ($12,60 \pm 5,10$ and $7,78 \pm 3,83$ $\mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$, hurrenez hurren). Joera hau, ordea, esangarriki aldatu zen efluentea askatu ondoren, Inpaktu tramuko FA jarduerak 2,3 aldiz altuagoak ziren balioak erakutsi baitzituen, igoera nabarmenenak efluentearen sarrera eta segituan egindako laginketetan antzeman zirelarik (BA:CI, $p = 0,015$, 3a irudia). B-glukosidasa (BG) entzimaren jarduerak antzeko erantzuna erakutsi zuen, isurketaren aurreko laginketa-sasoian Kontrol tramuaen balioak altuagoak baitziren (Kontrola: $8,46 \pm 3,98$ eta Inpaktua: $5,34 \pm 3,29$ $\mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2}$) eta efluentearen sarreraren ondoren, oraindik ere nabarmenagoa izan zen 4,1eko igoera erakutsi baitzuen Inpaktu tramuan (BA:CI, $p = 0,002$, 3b irudia).



3. Irudia: Biofilmaren fosfatasa alkalinoaren (a) eta β -glukosidasaren (b) zelulaz kanpoko entzimen jarduerak Kontrol eta Inpaktu tramuetan araztegiaren efluentea askatzen hasi aurretik eta ondoren. Lerro etenak efluentearen sarreraren hasiera adierazten du. Erakutsitako balioak batez bestekoak \pm errore estandarrak dira.

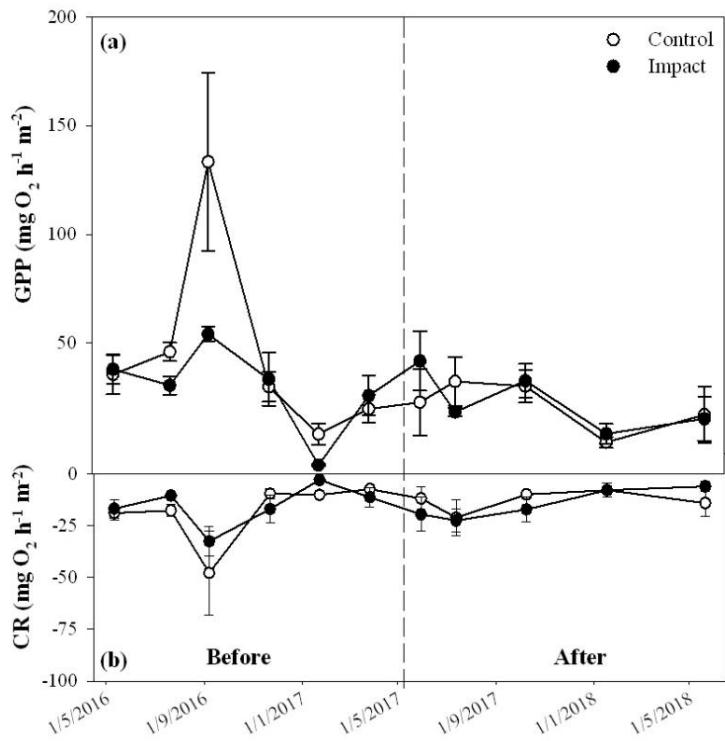
Araztegiaren efluentearen sarrerak larriki murriztu zuen biofilmak fosforoa atxikitzeko zuen gaitasuna. Efluentea askatu aurretik fosforoaren atxikimendu-gaitasunak ez zuen diferentziarik erakutsi Kontrol eta Inpaktu tramuen artean ($3,17 \pm 0,43$ eta $3,27 \pm 0,39 \mu\text{g P h}^{-1}$, hurrenez hurren). Gaitasun hau, aitzitik, esangarriki murriztu zen Inpaktu tramuan efluentaren sarreraren ondorioz, hasierako balioen 0,5ra heltzeraino (BA:CI, $p < 0,001$, 4. irudia, S1 taula).



4. Irudia: Biofilmaren fosforoa (*disolbatutako fosforo erreaktiboa, DFE*) atxikitzeko gaitasuna Kontrol eta Inpaktu tramuetan araztegiaren efluentea askatzen hasi aurretik eta ondoren. Lerro etenak efluentearen sarreraren hasiera adierazten du. Erakutsitako balioak batez bestekoak \pm errore estandarrak dira.

Efluentearen sarrerak, ordea, ez zuen eragin esangarririk izan biofilmaren metabolismoan (S1 taula). Efluentea isuri aurretik, Kontrol eta Inpaktu tramuek antzeko balioak erakutsi zituzten bai ekoizpenari (EPG) (45 ± 18 eta $29 \pm 8 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) baita arnasketari (KA) (-19 ± 6 and $-15 \pm 4 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) dagokiela, eta oro har, biofilm komunitatea nagusiki autotrofoa zen (GPP:CR > 1). Efluentearen

sarrerak, gainera, ez zuen patroi hori aldatu, ez baitzuen eragin esangarriko izan ez EPGan (BA:CI, $p = 0,46$, 5a irudia), ez KAn (BA:CI, $p = 0,96$, 5b irudia) ezta haien arteko ratioan ere (BA:CI, $p = 0,28$). Hala ere, efluentearren isurketak esangarriki emendatu zuen EPG/Chl- a ratioa, zeina biofilmaren konposatu autotrofoaren efizientzia metabolikoaren hurbilketa gisa erabili baikuen (BA:CI, $p = 0,05$). KA/EGPL ratioa, zeina biofilmaren konposatu heterotrofoaren efizientzia metabolikoaren hurbilketa gisa erabili baikuen, aitzitik, ez zen esangarriki eraldatu efluentearren sarreraren ondorioz (BA:CI, $p = 0,65$).

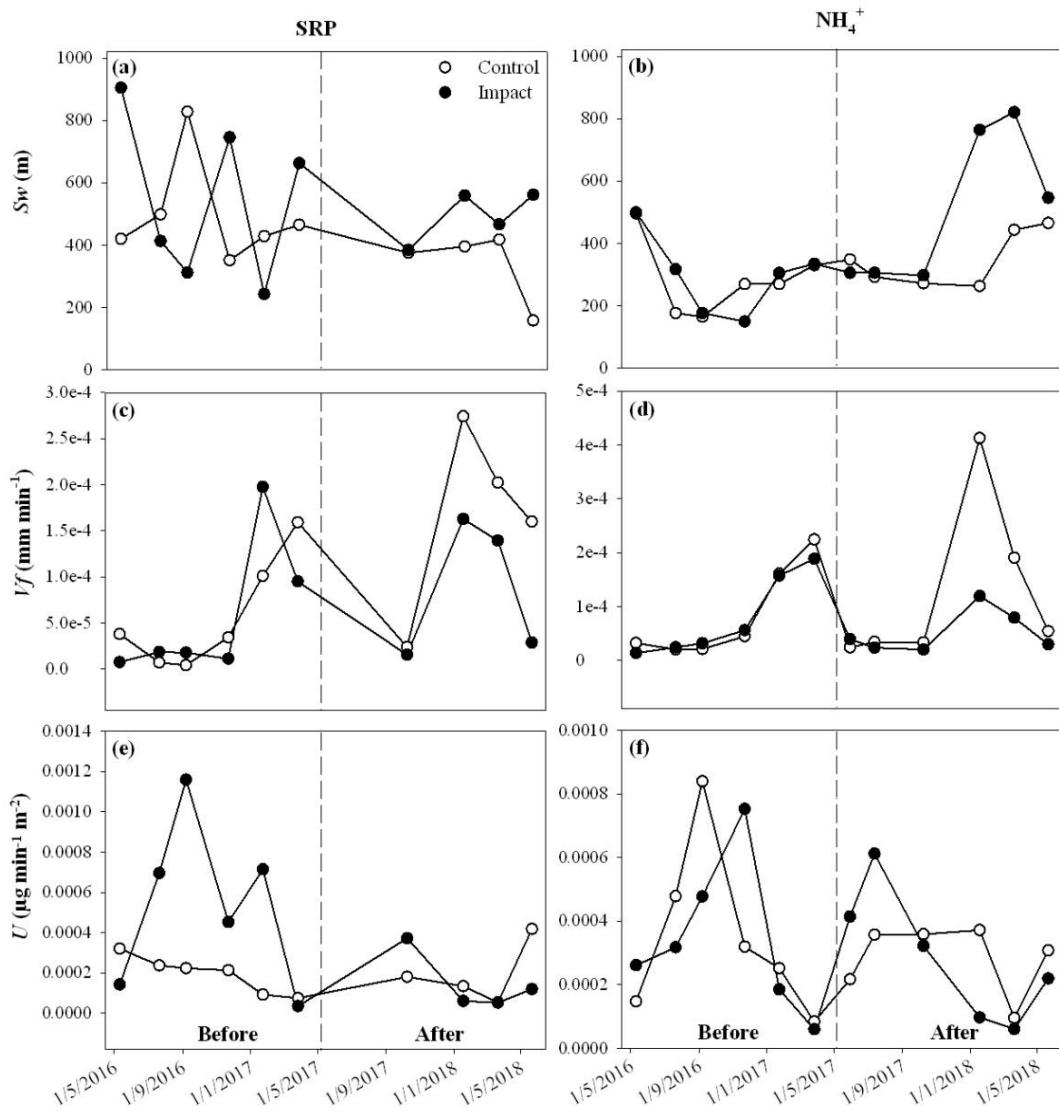


5. Irudia: Biofilmaren ekoizpen primario gordina (EPG) (a) eta komunitatearen arnasketa (KA) (b) metabolismo jarduerak Kontrol eta Inpaktu tramueta araztegiaren efluentea askatzen hasi aurretik eta ondoren. Lerro etenak efluentearren sarreraren hasiera adierazten du. Erakutsitako balioak batez bestekoak \pm errore estandarrak dira.

Tramu-mailako mantenugaien atxikimendua

Efluentearren sarrerak ez zuen eragin esangarriko izan tramu-mailako mantenugaien atxikimenduan (S1 taula). Efluentea isuri aurretik, Kontrol eta inpaktu tramuiek antzeko balioak erakutsi zituzten fosforoaren (499 ± 69 eta 547 ± 107 m) eta amonioaren (284 ± 50 and 297 ± 51 m) atxikimendu-distantziari (S_w) dagokiola, eta efluentearren sarrerak ez zuen eragin esangarriko izan bi mantenugaietako batean ere (BA:CI, DFE $p = 0,54$ eta NH_4^+ $p = 0,16$, 6a eta 6b irudiak). Era berean, Kontrol eta Inpaktu tramuiek antzeko atxikimendu-abiaduraren (V_f) balioak erakutsi zituzten efluentea isuri baino lehen fosforoari ($0,003 \pm 0,002$ eta $0,004 \pm 0,002$ mm h⁻¹) eta amonioari ($0,005 \pm 0,002$ eta $0,005 \pm 0,002$ mm h⁻¹) dagokiela. Hala ere, efluentearren amonioaren atxikimendu-abiaduran eragin esangarriko eduki ez zuen bitartean (BA:CI, $p = 0,19$, 6d irudia), esangarritasunaren mugan zegoen murrizketa eragin zuen Inpaktu tramuaren fosforoaren atxikimendu-abiaduran (BA:CI, $p = 0,06$, 6c irudia). Azkenik, efluentearren sarrerak ez zuen eragin

esangarririk izan bi mantenugaien atxikimendu-azaleran (U) (BA:CI, DFE $p = 0,13$ and NH_4^+ $p = 0,92$, 6e eta 6f irudiak).

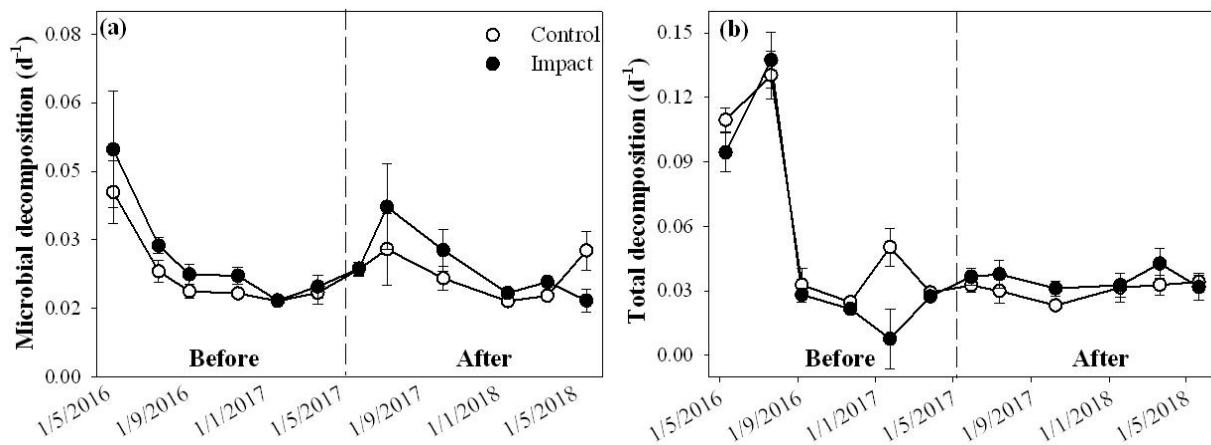


6. Irudia: Tramu-mailako mantenugaien atxikimenduaren metrikak (atxikimendu-distantzia, Sw ; atxikimendu-abiadura, Vf ; atxikimendu-azalera, U) fosforoarentzat (a, c eta e irudiak) eta amonioarentzat (b, d eta f irudiak) Kontrol eta Inpaktu tramuetan araztegiaren efluentea askatzen hasi aurretik eta ondoren. Lerro etenak efluentearen sarreraren hasiera adierazten du.

Materia organikoaren deskonposizioa

Efluentearen sarrerak eragin desberdinak izan zituen materia organikoaren deskonposizio mikrobiarrean eta totalean (S1 taula). Efluentea isuri aurretik Kontrol eta Inpaktu tramuek antzeko balioak erakutsi zituzten bai deskonposizio mikrobiarrean ($0,02 \pm 0,004$ eta $0,03 \pm 0,005 \text{ d}^{-1}$) baita totalean ere ($0,06 \pm 0,02$ eta $0,05 \pm 0,02 \text{ d}^{-1}$), nahiz eta azkeneko honek beherakada nabarmena erakutsi zuen bigarren laginketatik aurrera. Deskonposizio mikrobiarrak ez zuen efluentearekiko eragin esangarririk erakutsi (BA:CI, $p = 0,76$, 7a

irudia), baina deskonposizio totala 1,4 aldiz emendatu zen Inpaktu tramuan efluentearen sarreraren ondoren (BA:CI, $p = 0,003$, 7b irudia).



7. Irudia: Materia organikoaren deskonposizio mikrobiarra (a) eta totala (b) Kontrol eta Inpaktu tramuetan araztegiaren efluentea askatzen hasi aurretik eta ondoren. Lerro etenak efluentearen sarreraren hasiera adierazten du. Erakutsitako balioak batez bestekoak \pm errore estandarrak dira.

Eztabaida

HUAen efluenteak kutsaduraren iturri puntual garrantzitsuenetariko bat dira ur gezetako ekosistematzat (Rice eta Westerhoff, 2017). Hala ere, efluente hauen efektu edota ondorio ekologikoak antzematea ez da eginkizun erraza, orokorrean, erreka gehienak aldi berean eragiten duten hainbat estres-iturriren menpe daudelako (Sabater *et al.*, 2018). Gure ekosistema-mailako BACI motako diseinu experimentala jarraitu zuen manipulazio esperimentuak, araztegi baten efluentearen eraginak isolatu zituen, inpaktu horiek funtzioko edo prozesu desberdinietan neurtzea ahalbidetuz, eta ingurumen-baldintza desberdinak eta denbora-tarte luze samarrak kontutan hartuz. Ildo horretatik, gure emaitzek erakusten dute, efluenteak modu egokian tratatuta eta erreka hartzalean oso diluituta egon arren, eragin esangarriak eta konplexuak eduki ditzaketela ekosistemaren egituraren eta funtzionamenduan, zeintzuk oharkabeen mantentzen zitezkeen baldintza esperimental ez hain zorrotzen aurrean. Oro har, efluentearen sarrerak jarduera biologiko gehienak emendatu zituen, eta neurutako prozesu gutxi batzuk baino ez ziren aldaketarik gabe mantendu edo murriztu (biofilmaren mantenugai-atxikimendua, hain zuzen). Ondorioz, emaitza hauek iradokitzen dute aztertutako araztegiaren efluenteak jarduera biologikoak emenda zitzakeela, eta oso estres-efektu toxiko mugatuak izan zituela (Odum *et al.*, 1979).

Gure esperimentuaren diseinuak Apraitzko araztegiaren efluenteak Deba Ibaian zuen antzeko kontzentrazioa lortzea zuen helburu eta hortaz, esperimentuak iraun bitartean efluenteak Apraitz Errekan izandako batez besteko kontribuzioa %3 ingurukoa izan zen. HUAetatik eratorritako efluenteen kontzentrazioa, aitzitik, oso aldakorra izan daiteke sistema hartzaleetan, eta naturalki zein gizakiaren jardueraren ondoriozko ur-eskasia ematen deneko kasuetan, izugarri emenda daiteke. Horren adibide gisa, guk lana burtu genueneko eskualdean araztegietatik eratorritako efluenteek %35eko kontribuzioa izatera

ere hel daitezke, batez beste, giza jardueren ur-errekurtoen erabilera intentsiboaren ondorioz (Gipuzkoako Foru Aldundia, 2015). Muturreko kasu batzuetan, gainera, efluenteek erreka edo ibai hartzaleen emariaren parterik handiena suposa dezakete (Rice eta Westerhoff, 2017). Ziur asko, araztegietatik eratorritako efluenteen ondorio ekologikoak sistema hartzalean jasaten duten diluzioaren araberakoak izango dira eta hortaz, efluenteen kontzentrazio altuagoak erakusten dituzten erreka eta ibaietan antzemango diren inpaktuak gure esperimentukoak baino nabarmenagoak izango dira (Brooks *et al.*, 2006).

Gure esperimentuak iraun bitartean deskribatutako diluzio-gaitasuna oso altua izan arren, Apraitz Errekara askatutako efluente etenak esangarriki eraldatu zituen uraren ezaugarriak efluentea erreka askatzen zeneko momentuetan, pH eta oxigeno disolbatuaren kontzentrazioa murriztuz baina eroankortasun elektrikoa eta amonio eta fosforoaren kontzentrazioak emendatuz. Beste sistema batzuetan, araztegien efluenteen ondorio berdinak deskribatu izan dira uraren kalitatean (Martí *et al.*, 2009), orokorrean “*Erreka Urbanoaren Sindromearen*” eraginaren pean dauden errekei lotu ohi direnak (Walsh *et al.*, 2005). Hala ere, gehiegizko mantenugaien kontzentrazioek efektu toxikoak eragin diezazkieke uretako komunitate biologiko eta organismo askori. Gure esperimentuan, araztegiaren efluentea erreka askatzen zeneko momentuetan neurututako mantenugaien kontzentrazioak (2,3 eta 0,2 mg L⁻¹ disolbatutako nitrogeno total (DNT) eta fosforo erreaktiboa (DFE), hurrenez hurren) Europako erreketan behatu ohi diren kutsadura-maila baxu edo ertainei zegozkien, nitrogenoaren 2,4 mg L⁻¹ eta fosforoaren 0,2 mg L⁻¹ kontzentrazioak baino balio baxuagoak erakutsi ohi dituztenak, alegia (Grizzetti *et al.*, 2017). Horrez gain, gure esperimentuarekiko aldi berean burututako beste lan paralelo batean, Solagaistua eta lankideek (2018) erakutsi zuten araztegiaren isurketaren uretan neurututako emergentzia-kutsatzaileen kontzentrazioak altuak izan arren, Europan zehar egindako monitorizazio lan zabaletan neurututako tarteen barnean zeudela (Loos *et al.*, 2013). Hala ere, gure esperimentuaren Inpaktu tramuan neurututako nitrito eta amonioaren kontzentrazioek ($0,5 \pm 0,3$ eta $0,2 \pm 0,1$ mg N L⁻¹, hurrenez hurren), Camargo eta Alonsok (2006) salmonidoentzat proposatutako toxikotasun-mugak gainditu zituzten, zeintzuk kutsadurarekiko organismo sentikorrenen artean deskribatuta dauden. Apraitz Errekan, ordea, agertu ohi diren bost arrain espezie ugarienatariko (*Salmo trutta* amuarraina, *Phoxinus bigerri* ezkailua, *Anguilla anguilla* aingira, *Barbatula quignardi* zarboa eta *Parachondrostoma miegii* loina) bat ere ez zenez desagertu efluentea isuri ondoren, esan daiteke ez genuela efektu toxiko lazgaririk antzeman errekan bizi ziren organismoengan (de Guzmán, *argitaratu gabeko datuak*). Gainera, emaitza hauek efluentearen kontzentrazio altuak erabiliz egindako laborategiko esperimentuen emaitzekin eta Inpaktu tramu berdinean egindako landa-inkubazioen emaitzekin bat datozen, non araztegitik eratorritako efluenteak ez baitzuen efektu toxikorik eragin, edota eragin izatekotan efektuak oso murriztak izan ziren, *Echinogammarus berilloni* anfipodoaren fisiologian (Solagaistua *et al.*, 2018). Oro har, gure emaitzek aditzera ematen dute Apraitzeko araztegiaren efluenteak toxikotasun-maila baxua erakutsi zuela gure esperimentuaren diluzio-tasa altuen baldintzen pean, zeina efluentearen isurketa laburren edota emaria altuak eta azkarra eragindako uraren berriztatze-tasa altuen ondorioz nabarmendua izan zitekeen.

Biofilm komunitateak oso sentikorrak dira giza jardueraren ondoriozko aldaketekiko (Battin *et al.*, 2016) eta horregatik, araztegien efluenteek eragindako mantenugai-kontzentrazioen emendioak eragin

garrantzitsuak izan ditzake biofilmaren egitura eta funtzionamenduan. Gure esperimentuan, araztegiaren efluenteak esangarriki emendatu zituen biofilmaren biomasa eta klorofila kontzentrazioa, nahiz eta ez zuen bere indize autotrofiko esangarriki eraldatu, zeinak antzeko subsidio efektu bat iradoki zezakeen biofilmaren komunitate autotrofo eta heterotrofoan, beste lan batzuetan deskribatu izan den modura (esaterako, Ribot *et al.*, 2015). Hala ere, efluenteak nabarmenki emendatu zuen biofilm autotrofoaren efizientzia metabolikoa, biofilmaren komunitate autotrofoaren egitura eta konposizioan aldaketa bat eman zela iradoki zezakeena, non espezie erresistenteagoak eta fisiologikoki aktiboagoak faboratu egingo baitziren (Drury *et al.*, 2013; Proia *et al.*, 2013; Rosi *et al.*, 2018). Biofilmaren egitura emandako aldaketa hauek funtzionamenduan aldaketak ere eragin zitzaketen eta horrela, komunitate mikrobiarraren bidez erregulatutako prozesuak emendatu, zelulaz kanpoko jarduera entzimatikoak kasu, haien adierazpena urzutabearen eta biofilmaren arteko mantenugaien desorekak erregulatzen baitu (Romaní *et al.*, 2012). Orokorean, fosfatasa alkalino (FA) entzimaren jarduera murriztu egiten da ur-inguruneko fosforo kontzentrazioa emendatu ahala, biofilmak fosforoarekiko eskakizun baxuagoa izango baitu (Allison eta Vitousek, 2005; Romaní *et al.*, 2012). Gure esperimentuan, aitzitik, araztegiaren efluenteak FA entzimaren jarduera bultzatu edo emendatu zuen, agian emendatutako biofilmaren biomasak fosforoarekiko eskakizun biologikoa ere emendatu zuelako (Romaní eta Sabater, 2000). Horrez gain, biofilmaren biomasaren hazkuntzarekin bat, babes-geruzaren lodiera eta konplexutasuna ere emendatzen dira, zeinak mantenugaien elkartrukea eta difusioa murriztu baititzake (Battin *et al.*, 2003) eta biofilmaren barne-birziklapen prozesuak bultzatu (Earl *et al.*, 2006), FA entzimaren jardueraren emendioa bultzatzu. Bestalde, β -glukosidasa (BG) jarduera karbonoaren degradazioarekin erlazionatutako zelulaz kanpoko jarduera-entzimatikoa da, zelulosaren deskonposizioan funtsezko zereginha betetzen duena (Romaní *et al.*, 2012). Entzima honen jarduera, orokorean, konposatu organikoen degradazioarekin erlazionatuta dago, bai algetatik eratortzen diren konposatu degradazioarekin baita uretan disolbatuta daudenekin (Jones eta Lock, 1993). Gure esperimentuan, araztegiaren efluenteak BGentzimaren jarduera bultzatu zuen, zeina biofilmaren biomasaren hazkuntzaren ondorioz ere azal zitekeen, bai biofilmaren garapenean ematen den zelulen lisiak (Romaní *et al.*, 2008) baita algen jarioan ekoiztutako polisakaridoek ere (Rier *et al.*, 2014), biek entzima honen jarduera bultza baitezakete.

Araztegiaren efluentearen konposizio kimikoak efektu toxikoak eragin ez arren eta biofilmean neurtu genituen prozesu gehienak emendatu arren, larriki kaltetu zuen biofilmaren fosforoa atxikitzeo gaitasuna. Injuruneko mantenugai kontzentrazioak handitu ahala, biofilm komunitateek mantenugaiak atxikitzeo duten eraginkortasuna galdu ohi dute, atxikimendua zeroraino murriztuz biofilma saturatzen deneko muturreko kasuetan (Earl *et al.*, 2006). Gure esperimentuan, efluenteak nabarmenki emendatu zuen fosforoaren kontzentrazioa uretan (balioak 2,4 aldiz altuagoak izateraino efluentea askatzen zenean), zeinak larriki murriztu zuen fosforoa atxikitzeo gaitasuna, saturazioa iradoki zezaketen balio negatiboak ere deskribatuz. Biofilm-era mailetan deskribatutako fosforoaren askapena bat dator aurretiaz araztegiaren efluenteekin egindako laborategi-esperimentu baten emaitzekin (Pereda *et al.*, 2019). Nahiz eta agian fosforoaren askapenak gure entseguaren baldintza zehatzak baino ez islatu, zeina ez den zertain zehazki islatu behar landa-esperimentuetan, gure emaitzek azpimarratzen dute araztegiaren efluenteak larriki kaltetu

zuela biofilmaren fosforoa atxikitzeko gaitasuna. Gainera, atxikimenduaren balio negatibo horiek agorraldi luzeen ondoren baino ez genituen ikusi, biofilmaren babes-geruzaren lodiera eta konplexutasuna emendatzen denean, alegia, mantenugaien elkartrukea eta difusioa murriztuz (Battin *et al.*, 2003) eta barne-birziklapen edota mantenugaien askapen prozesuak bultzatuz (Earl *et al.*, 2006).

Efluentearen sarrerak, ordea, ez zuen eragin esangarririk izan biofilmaren metabolismoan edota tramu-mailako mantenugaiak atxikitzeko gaitasunean, nahiz eta beste lan batzuek bi prozesuentzako erantzun esangarriak deskribatu dituzten hondakin-uren sarrerekiko (Gücker *et al.*, 2006). Gure esperimentuan joera ahul batzuk baino ez genituen antzeman emendatutako tasa metabolikoekiko, bai ekoizpenerako eta bai arnasketarako ere, emendatutako atxikimendu-distantziekiko eta murriztutako atxikimendu-abiadura eta azalerekiko, bai amonioarentzako baita fosforoarentzako ere. Esangarriak ez izan arren, joera hauek beste lan batzuetan deskribatutako emaitzak bat dato, zeintuetan mantenugaien kontzentrazioaren emendioak ekosistemaren metabolismoa emendatu zuen, batez ere arnasketa (Aristi *et al.*, 2015), baina mantenugaiak atxikitzeko eraginkortasuna murriztu (Martí *et al.*, 2009). Hala ere, gure laneko emaitza ez-esangarriak, agian, erabilitako erreplika kopuru baxuaren ondoriozkoak izan zitekeen metabolismoaren kasuan, eta erreplika-ezaren edota neurtu gabeko ekosistemaren beste konpartimentu batzuen garrantziaren ondoriozkoak (sedimentu hiporreikoak edota ibar-basoan hazten ziren zuhaitzek zituzten sustraiak, esaterako) tramu-mailako mantenugaien atxikimenduaren kasuan.

Araztegiaren efluenteak materia organikoaren deskonposizio mikrobiarra esangarriki aldatu ez zuen bitartean, deskonposizio totala emendatu zuen, nahiz eta bi prozesuen erantzun esangarriak deskribatu izan diren substantzia toxikoekiko eta mantenugaien kontzentrazioaren emendioarekiko (Ferreira *et al.*, 2015). Gure esperimentuko deskonposizio mikrobiarraren erantzun-ezak, agian, erabilitako hultz hostoen kalitate ona isla dezake (Petersen eta Cummins, 1974), zeinak beste hosto espezie batzuk baino erresistenteagoak izan daitezkeen mantenugaien sarrerekiko. Ildo horretatik, autore askok deskribatu dute hosto espezieen nutrizio-ezaugarriek ingurumen estresoreekiko erantzunaren magnitudea baldintza dezaketela (Ferreira *et al.*, 2015). Ornogabeek erregulatutako materia organikoaren deskonposizioa, aitzitik, nabarmen murriztu zen bigarren laginketatik aurrera, aztertutako tramuetan *Echinogammarus berilloni* anfipodoaren desagerpenari egotzi dakiokaena (Solagaistua, *argitaratu gabeko datuak*). Espero bezala, araztegiaren efluenteak ornogabeen bidezko materia organikoaren deskonposizioa emendatu zuen, hostoen palatabilitatearen emendioaren ondorioz (Ferreira *et al.*, 2015) edota efluentearen sarreraren azpian ornogabe zatitzileen dentsitatea nabarmenki emendatzearen ondorioz (Pascoal *et al.*, 2003). Emaitza hauek beste lan batzuetan deskribatutakoarekin bat dato (Woodward *et al.*, 2012) eta iradoki dezakete ornogabeen bidez erregulatutako materia organikoa komunitate mikrobiarraren bidez erregulatutakoa baino sentikorragoa izan daitekeela kutsadura urbanoarekiko (Hieber eta Gessner, 2002).

Ondorioak

Oro har, gure esperimentuaren emaitzek erakusten dute araztegietatik eratorritako efluenteek, nahiz eta tratamendu egokiak jasan eta oso diluituta egon erreka hartzaileen, eragin ahul baina konplexuak izan ditzaketela ekosistemaren komunitate biologikoen egitura eta funtzionamenduan. Gainera, uste dugu efektu edo eragin hauek nabarmenduaak izan daitezkeela gehiago kontzentratutako efluenteen aurrean, agian subsidio motako erantzunak estres motako erantzun bihurtuz. Hala ere, erreka eta ibai gehienak aldi berean eragiten duten beste hainbat estresoreren menpe daudenez, beste mota bateko landa-esperimentuez baliatuz zaila izan daiteke ibai-ekosistemetan efektu hauek antzematea. Hortaz, manipulazio-bidezko ekosistema-mailako esperimentuak hurbilketa edo tresna sendoak izan daitezke horrelako efektuak aditzera emateko, eta estresore anitzen egoeren aurrean eragin kaltegarrienak jasango dituzten ekosistema-mailako prozesuen erantzunak aztertzeko.

Esker onak

Esperimentu hau Europar Batasunaren 7. Azpiegituren Programak babestu zuen (GLOBAQUA; 603629-ENV-2013-6.2.1). Era berean, autoreok Eusko Jaurlaritzak emandako euskarri ekonomikoa eskertzen dugu (Ikerketa-talde bateratua: Ibai-ekologia 7-CA-18/10) baita Eusko Jaurlaritzak (I. de Guzman) eta Euskal Herriko Unibertsitateak, UPV/EHU, (O. Pereda, L. Solagaistua and M. Atristain) ere doktoratu aurreko tesiak egiteko emandako diru-laguntzak. Horrez gain, autoreok bereziki eskertuta gatzaizkie Vicki Perez eta Janire Diezi laginketetan eta laborategiko analisietan zehar eskainitako laguntzagatik, baita Apraitzeko araztegiko lan-taldeari ere, esperimentuak iraun bitartean euren laguntza eta prestutasuna etengabe eskaintzearen. SGIREk eskainitako babes tekniko eta gizatiarra (UPV/EHU, MICINN, GV/EJ, ESF) ere asko eskertzen dugu. Azkenik, autoreok aitortzen dugu ez dagoela inolako interes-gatazkariak artikuluan eztabaidatutako materialaren inguruan.

Erreferentziak

- Allison S.D. eta Vitousek P.M. (2005). Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology and Biochemistry*, 37 (5): 937-944. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.09.014
- Altenburger R., Ait-Aissa S., Antczak P., Backhaus T., Barceló D., Seiler T.B., Brion F., Busch W., Chipman K., López de Alda M., de Aragão Umbuzeiro G., Escher B.I., Falciani F., Faust M., Focks A., Hilscherova K., Hollender J., Hollert H., Jäger F., Jahnke A., Kortenkamp A., Krauss M., Lemkine G.F., Munthe J., Neumann S., Schymanski E.L., Scrimshaw M., Segner H., Slobodnik J., Smedes F., Kughathas S., Teodorovic I., Tindall A.J., Tollefson K.E., Walz K.H., Williams T.D., Van den Brink P.J., van Gils J., Vrana B., Zhang X. eta Brack W. (2015). Future water quality monitoring - adapting tools to deal with mixtures of pollutants in water resource management. *Science of the Total Environment*, 512-513: 540-551. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.12.057
- Aristi I., von Schiller D., Arroita M., Barceló D., Ponsatí L., Carcía-Galán M.J., Sabater S., Elosegi A. eta Acuña V. (2015). Mixed effects of effluents from a wastewater treatment plant on river ecosystem metabolism: subsidy or stress? *Freshwater Biology*, 60: 1398-1410. doi:10.1111/fwb.12576
- Arroita M., Elosegi A. eta Hall R.O. (2018). Twenty years of daily metabolism show riverine recovery following sewage abatement. *Limnology & Oceanography*, 64: S77-S92. doi: 10.1002/lno.11053
- Atashgahi S., Aydin R., Dimitrov M.R., Sipkema D., Hamonts K., Lahti L., Maphosa F., Kruse T., Saccenti E., Springael D., Dejonghe W. eta Smidt H. (2015). Impact of a wastewater treatment plant on microbial community composition and function in a hyporheic zone of a eutrophic river. *Scientific Reports*, 5: 17284. doi: 10.1038/srep17284
- Baldy V., Gobert V., Guerold F., Chauvet E., Lambrigot D. eta Charcosset J.Y. (2007). Leaf litter breakdown budgets in streams of various trophic status: effects of dissolved inorganic nutrients on microorganisms and invertebrates. *Freshwater Biology*, 52: 1322–1335. doi: 10.1111/j.1365-2427.2007.01768.x
- Battin T.J., Kaplan L.A., Newbold D. eta Hansen C.M.E. (2003). Contributions of microbial biofilms to ecosystem processes in stream mesocosms. *Nature*, 426: 439-442. doi: 10.1038/nature02152
- Battin T.J., Besemer K., Bengtsson M.M., Romaní A.M. eta Packmann A.I. (2016). The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 14: 251-263. doi: 10.1038/nrmicro.2016.15
- Bencala K.E., McKnight D.M. eta Zellweger G.W. (1987). Evaluation of natural tracers in an acidic and metal-rich stream. *Water Resources Research*, 23: 827-836. doi: 10.1029/WR023i005p00827
- Berthelsen A., Atalah J., Clark D., Goodwin E., Patterson M. eta Sinner J. (2018). Relationships between biotic indices, multiple stressors and natural variability in New Zealand estuaries. *Ecological Indicators*, 85: 634-643. doi: 10.1016/j.ecolind.2017.10.060

Bott T.L., Brock J.T., Cushing C.E., Gregory S.V., King D. eta Petersen R.C. (1978). A comparison of methods for measuring primary productivity and community respiration in streams. *Hydrobiologia*, 60 (1): 3-12. doi: 10.1007/BF00018681

Brooks B.W., Riley T.M. eta Taylor R.D. (2006). Water quality of effluent-dominated ecosystems: ecotoxicological, hydrological and management considerations. *Hydrobiologia*, 556 (1): 365-379. doi: 10.1007/s10750-004-0189-7

Camargo J.A. eta Alonso A. (2006). Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*, 32: 831-849. doi: 10.1016/j.envint.2006.05.002

Carreiro M.M., Sinsabaugh R.L., Repert D.A. eta Parkhurst D.F. (2000). Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition. *Ecology*, 81 (9): 2359-2365. doi: 10.1890/0012-9658(2000)081[2359:MESELD]2.0.CO;2.

Corcoll N., Casellas M., Huerta B., Guasch H., Acuña V., Rodríguez-Mozaz S., Serra-Compte A., Barceló D. eta Sabater S. (2015). Effects of flow intermittency and pharmaceutical exposure on the structure and metabolism of stream biofilms. *Science of the Total Environment*, 503-504: 159-170. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.06.093

Downes B.J., Barmuta L.A., Fairweather P.G., Faith D.P., Keough M.J., Lake P.S., Mapstone B.D. eta Quinn G.P. (2002). Monitoring ecological impacts: Concepts and practice in flowing waters. Cambridge University Press, Cambridge. doi: 10.1017/CBO9780511542015

Drury B., Rosi-Marshall E. eta Kelly J.J. (2013). Wastewater treatment effluent reduces the abundance and diversity of benthic bacterial communities in urban and suburban rivers. *Applied and Environmental Microbiology*, 79 (6): 1897-1905. doi: 10.1128/AEM.03527-12

Earl S.R., Valett H.M. eta Webster J.R. (2006). Nitrogen saturation in stream ecosystems. *Ecology*, 87: 3140-3151. doi: 10.1890/0012-9658(2006)87[3140:NSISE]2.0.CO;2

EEA - European Environmental Agency (2018). Urban waste water treatment. How effective are policies aimed at improving urban waste water treatment at reducing discharges of nutrients and organic matter into surface waters? Ref: CSI 024, WAT 005. Available at <https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/indicators/urban-waste-water-treatment/urban-waste-water-treatment-assessment-4> (January 2019).

Elosegi A., Nicolás A. eta Richardson J.S. (2018). Priming of leaf litter decomposition by algae seems of minor importance in natural streams during autumn. *PLOS One*, 13 (9):e0200180. doi: 10.1371/journal.pone.0200180

Englert D., Zubrod J.P., Schulz R. eta Bunschuh M. (2013). Effects of municipal wastewater on aquatic ecosystem structure and function in the receiving stream. *Science of the Total Environment*, 454-455 (1): 401-410. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.03.025

Environmental Protection Agency, 2007. Method 6500. Dissolved inorganic anions in aqueous matrices by capillary electrophoresis.

Espeland E.M., Francoeur S.N. eta Wetzel R.G. (2001). Influence of algal photosynthesis on biofilm bacterial production and associated glucosidase and xylosidase activities. *Microbial Ecology*, 42 (4): 524-530. doi: 10.1007/s00248-001-1022-8

Fellows C.S., Valett M.H. eta Dahm C.N. (2001). Whole stream metabolism in two montane streams: contribution of the hyporheic zone. *Limnology and Oceanography*, 46(3): 523-531. doi: 10.4319/lo.2001.46.3.0523

Ferreira V., Castagnayrol B., Koricheva J., Gulis V., Chauvet E. eta Graça M.A. (2015). A meta-analysis of the effects of nutrient enrichment on litter decomposition in streams. *Biological Reviews*, 90: 669-688. doi: 10.1111/brv.12125

Grizzetti B., Pistocchi A., Liquete C., Udiás A., Bouraoui F. eta van de Bund W. (2017). Human pressures and ecological status of European rivers. *Scientific Reports*, 7 (1): 1-11. doi: 10.1038/s41598-017-00324-3

Gücker B., Brauns M. eta Pusch M.T. (2006). Effects of wastewater treatment plant discharge on ecosystem structure and function of lowland streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 25 (2): 313-329. doi: 10.1899/0887-3593(2006)25[313:EOWTPD]2.0.CO;2

Hieber M. eta Gessner M.O. (2002). Contribution of stream detritivores, fungi and bacteria to leaf breakdown based on biomass estimates. *Ecology*, 83 (4): 1026-1038. doi: 10.1890/0012-9658(2002)083[1026:COSDFA]2.0.CO;2

Jackson M.C., Loewen C.G., Vinebrooke R.D. eta Chimimba C.T. (2016). Net effects of multiple stressors in freshwater ecosystems: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 22: 180-189. doi: 10.1111/gcb.13028

Jarvie H.P., Sharpley A.N., Withers P.J., Scott J.T., Haggard B.E. eta Neal C. (2013). Phosphorus mitigation to control river eutrophication: Murky waters, inconvenient truths, and “Postnormal” science. *Journal of Environmental Quality*, 42 (2): 295–304. doi:10.2134/jeq2012.0085

Jeffrey S. eta Humphrey G. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher-plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 167: 191-194. doi: 10.1016/S0015-3796(17)30778-3

Jones S.E. eta Lock M.A. (1993). Seasonal determinations of extracellular hydrolytic activities in heterotrophic and mixed heterotrophic/autotrophic biofilms from two contrasting rivers. *Hydrobiologia*, 257 (1): 1-16. doi: 10.1007/BF00013991

Jones B. eta O'Neill B.C. (2016). Spatially explicit global population scenarios consistent with the Shared Socioeconomic Pathways. *Environmental Research Letters*, 11: 084003. doi: 10.1088/1748-9326/11/8/084003

Kuzmanović M., Ginebreda A., Petrović M. eta Barceló D. (2015). Risk assessment based prioritization of 200 organic micropollutants in 4 Iberian rivers. *Science of the Total Environment*, 503-504: 289-299. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.06.056

Loos R., Carvalho R., António D.C., Comero S., Locoro G., Tavazzi S., Paracchini B., Ghiani M., Lettieri T., Blaha L., Jarosova B., Voorspoels S., Servaes K., Haglund P., Fick J., Lindberg R.H., Schwesig D. eta Gawlik B.M. (2013). EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water Research*, 47: 6475-6487. doi: 10.1016/j.watres.2013.08.024

Madsen H. eta Thyregod P. (2010). Introduction to General and Generalized Linear Models. CRP press. ISBN: 978-1420091557

Martí E., Riera J.L. eta Sabater F. (2009). Effects of wastewater treatment plants on stream nutrient dynamics under water scarcity conditions. In: Sabater S., Barceló D. (eds). Water scarcity in the Mediterranean. *The Handbook of Environmental Chemistry*, 8: 173-195. Springer, Berlin, Heidelberg. ISBN: 978-3-642-03971-3. doi: 10.1007/698_2009_33

Martí E. eta Sabater F. (2009). Retención de nutrientes en ecosistemas fluviales. In: Conceptos y Técnicas en Ecología Fluvial (Eds. Elosegi A. eta Sabater S.), pp. 117-132. Fundación BBVA, Bilbao. ISBN: 978-84-96515-87-1. doi: 10261/76865

Murphy J. eta Riley J.P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27: 31-36. doi: 10.1016/S0003-2670(00)88444-5

Northington R.M. eta Hershey A.E. (2006). Effects of stream restoration and wastewater treatment plant effluent on fish communities in urban streams. *Freshwater Biology*, 51: 1959-1973. doi: 10.1111/j.1365-2427.2006.01626.x

Odum E.P., Finn J.T. eta Franz E.H. (1979). Perturbation theory and the subsidy-stress gradient. *Bioscience*, 29: 349-352. doi: 10.2307/1307690

Ortiz J.D. eta Puig M.A. (2007). Point source effects on density, biomass and diversity of benthic macroinvertebrates in a Mediterranean stream. *River Research and Applications*, 23: 155-170. doi: 10.1002/rra.971

Pascoal C., Pinho M., Cássio F. eta Gomes P. (2003). Assessing structural and functional ecosystem condition using leaf breakdown: studies on a polluted river. *Freshwater Biology*, 48: 2033-2044. doi: 10.1046/j.1365-2427.2003.01130.x

Pereda O., Acuña V., von Schiller D., Sabater S. eta Elosegi A. (2019). Immediate and legacy effects of urban pollution on river ecosystem functioning: A mesocosm experiment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169: 960-970. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.11.103

Petersen R.C. eta Cummins K.W. (1974). Leaf processing in a woodland stream. *Freshwater Biology*, 4: 345-368. doi: 10.1111/j.1365-2427.1974.tb00103.x

Pinheiro J. eta Bates D. (2000). Mixed-effects models in S and S-PLUS. Springer-Verlag, New York. ISBN: 978-0-387-98957-0. doi: 10.1007/b98882

Pinheiro J. eta Bates D. (2016). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models.

Pinheiro J. eta Bates D. (2017). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effect Models. R package version 3.1-131. <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.

Posthuma L., Eijssackers H., Koelmans J.P.A. eta Vijver M.G. (2008). Ecological effects of diffuse mixed pollution are site-specific and require higher-tier risk assessment to improve site management decisions: a discussion paper. *Science of the Total Environment*, 406 (3): 503-517. doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.06.065

Proia L., Osorio V., Soley S., Köck-Schulmeyer M., Pérez S., Barceló D., Romaní A.M. eta Sabater S. (2013). Effects of pesticides and pharmaceuticals on biofilms in a highly impacted river. *Environmental Pollution*, 178: 220-228. doi: 10.1016/j.envpol.2013.02.022

Province Government of Gipuzkoa. (2015). Estudio de la calidad biológica de los ríos de Gipuzkoa. Technical report. Province Government of Gipuzkoa.

R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL. <https://www.R-project.org>.

Reardon J., Foreman J.A. eta Searcy R.L. (1966). New reactants for the colorimetric determination of ammonia. *Clinica Chimica Acta*, 14 (3): 203-205. doi: 10.1016/0009-8981(66)90120-3

Ribot M., von Schiller D., Sabater F. eta Martí E. (2015). Biofilm growth and nitrogen uptake responses to increases in nitrate and ammonium availability. *Aquatic Sciences*, 77(4): 695-707. doi: 10.1007/s00027-015-0412-9

Rice J. eta Westerhoff P. (2017). High levels of endocrine pollutants in US streams during low flow due to insufficient wastewater dilution. *Nature Geoscience*, 10:587-591. doi: 10.1038/ngeo2984

Rier S.T., Shirvinski J.M. eta Kinek K.C. (2014). *In situ* light and phosphorus manipulations reveal potential role of biofilm algae in enhancing enzyme-mediated decomposition of organic matter in streams. *Freshwater Biology*, 59 (5): 1039-1051. doi: 10.1111/fwb.12327

Romaní A.M., Artigas J. eta Yilla I. (2012). Extracellular enzymes in aquatic biofilms: Microbial interactions versus water quality effects in the use of organic matter, pp. 153-174. In Lear G. eta Lewis G.D. [eds.], from *Microbial biofilms: Current research and applications*. Caister Academic Press, U.K.. ISBN: 978-1-904455-96-7.

Romaní A.M., Fund K., Artigas J., Schwartz T., Sabater S. eta Obst U. (2008). Relevance of polymeric matrix enzymes during biofilm formation. *Microbial Ecology*, 56 (3): 427-436. doi: 10.1007/s00248-007-9361-8

Romaní A.M. eta Sabater S. (2000). Influence of algal biomass on extracellular enzyme activity in river biofilm. *Microbial Ecology*, 41: 16-24. doi: 10.1007/s002480000041

Romero F., Sabater S., Timoner X. eta Acuña V. (2018). Multistressor effects on river biofilms under global change conditions. *Science of the Total Environment*, 627: 1-10. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.161

Rosi E.J., Bechtold H.A., Snow D., Rojas M., Reisinger A.J. eta Kelly J.J. (2018). Urban stream microbial communities show resistance to pharmaceutical exposure. *Ecosphere*, 9 (1): e02041. doi: 10.1002/ecs2.2041

Sabater S., Elosegi A. eta Ludwig R. (2018). Multiple stressors in river ecosystems. *Status, impacts and prospects for the future*. (Eds. Sabater S., Elosegi A eta Ludwig R.), Elsevier, pp. 404. ISBN: 978-0-12-811713-2. doi: 10.1016/C2016-0-01770-9

Saiya-Cork K.R., Sinsabaugh R.L. eta Zak D.R. (2002). The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 34 (9): 1309-1315. doi: 10.1016/S0038-0717(02)00074-3

Segner H., Schmitt-Jansen M. eta Sabater S. (2014). Assessing the impacts of multiple stressors on aquatic biota: The receptor's side matters. *Environmental Science & Technology*, 48: 7690-7696. doi: 10.1021/es405082t

Solagaistua L., de Guzmán I., Barrado M., Mijangos L., Etxebarria N., García-Baquero G., Larrañaga A., von Schiller D. eta Elosegi A. (2018). Testing wastewater treatment plant effluent effects on microbial and detritivore performance: A combined field and laboratory experiment. *Aquatic Toxicology*, 203: 159-171. doi: 10.1016/j.aquatox.2018.08.006

Steinman A.D., Lamberti G.A. eta Leavitt P.R. (2006). Biomass and pigments of benthic algae. In: *Methods in Stream Ecology* (Eds. F.R. Hauer eta G.A. Lamberti), Chapter 17, pp. 357-379. Academic Press, San Diego. ISBN: 978-0-12-416558-8. doi: 10.1016/B978-012332908-0.50024-3

Underwood A.J. (1991). Beyond BACI: experimental designs for detecting human environmental impacts on temporal variations in natural populations. *Marine and Freshwater Research*, 42: 569-587. doi: 10.1071/MF9910569

URA. (2017). Red de seguimiento del estado biológico de los ríos de la CAPV. Informe de resultados campaña 2017. URA, the Basque Water Agency. Technical Report.

Walsh C.J., Roy A.H., Feminella J.W., Cottingham P.D., Groffman P.M. eta Morgan II R.P. (2005). The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. *Journal of the North American Benthological Society*, 24 (3): 706-723. doi: 10.1899/04-028.1

Woodward G., Gessner M.O., Giller P.S., Gulis V., Hladyz S., Lecerf A., Malmqvist B., Mckie B.G., Tiegs S.D., Cariss H., Dobson M., Elosegi A., Ferreira V., Graça M.A., Fleituch T., Lacoursière J.O., Nistorescu M., Pozo J., Risnoveanu G., Schindler M., Vadineanu A., Vought L.B. eta Chauvet E. (2012). Continental-scale effects of nutrient pollution on stream ecosystem functioning. *Science*, 336 (6087): 1438-1440. doi: 10.1126/science.1219534

Zuur A.F., Ieno E.N., Walker N., Saveliev A.A. eta Smith G.M. (2010). Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R. Springer-Verlag, New York. ISBN: 978-0-387-87457-9. doi: 10.1007/978-0-387-87458-6

4. KAPITULUA

Kutsadura urbanoaren berehalako eta legatu-efektuak ibai-ekosistemen funtzionamenduan: mesokosmo-mailako esperimentua

Olatz Pereda, Vicenç Acuña, Daniel von Schiller, Sergi Sabater eta Arturo Elosegi

Ecotoxicology and Environmental Safety (2019) 169: 960-970.

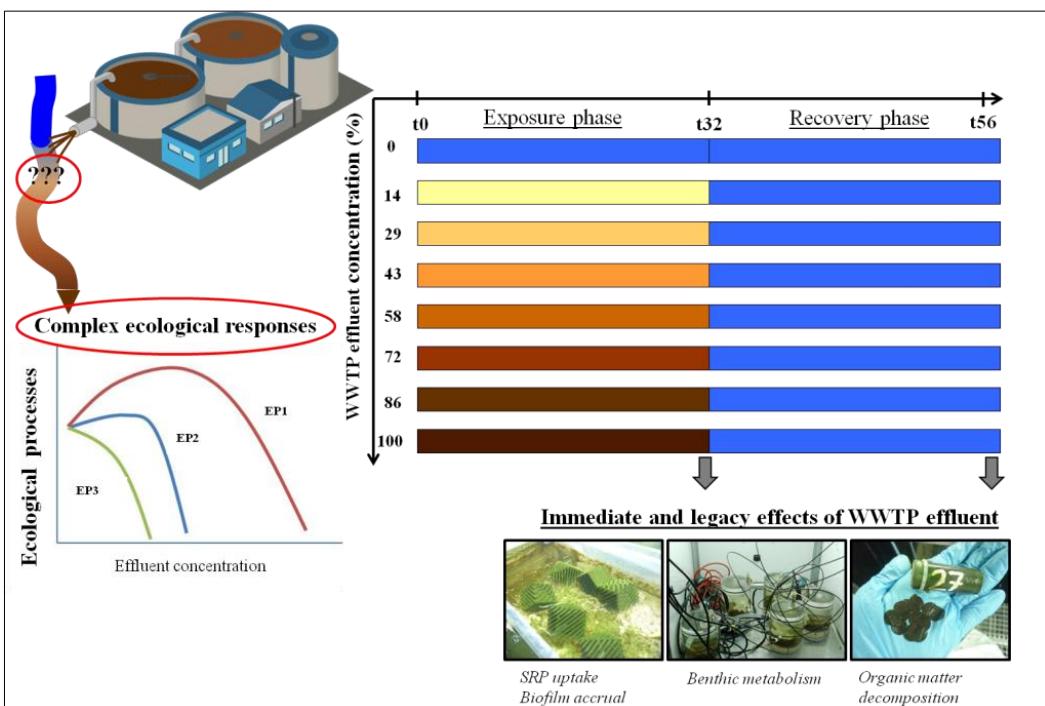
doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.11.103

Laburpena

Hondakin-uren araztegietatik (HUA) eratortzen diren efluenteak ekosistema-mailako prozesuetan eragin dezaketen substantzia ugariren nahasketa konplexuz osatuta daude. Konposatu hauetako batzuk (kutsatzaile toxikoak) jarduera biologikoak kontzentrazio guztietan murrizten dituzten arren, beste batzuek (mantenugaiek, kasu) jarduera biologikoa emendatzen dute kontzentrazio baxuetan eta kontzentrazio altuetan murriztu, Subsidio-Estres moduko erantzun-patroiak eraginez. Hortaz, araztegien efluenteen efektuak haien konposizio kimikoaren eta ekosistema hartzalean jasaten duten diluzioaren araberakoak izango dira. Gure experimentuan araztegieneen efluenteen berehalako efektuak aztertu genituen erreka edo ubide artifizialetan, biofilmaren hazkuntza-tasa eta uretan disolbatutako fosforoa atxikitzeo gaitasuna, bentoseko metabolismoa eta materia organikoaren deskonposizioa neurtuz. Lehenengo fasean (32 egun) ubide artifizialak araztegi bateko efluenteen kontzentrazio-gradiente batean jarri genituen, erreka-ur garbitik efluente purura. Araztegiaren efluenteak neurututako prozesu gehienak eraldatu zituen, nahiz eta ez genuen subsidio-estres moduko patroi argirik ikusi, biofilmaren biomasaren kasuan izan ezik. Prozesu gehienak, aitzitik, araztegiaren efluentearen ondorioz emendatu egin ziren, erantzun-patroi konplexu eta espezifikoak erakutsiz. Bentoseko metabolismoa eta deskonposizioa saturaziorik gabe emendatu ziren, kutsadura-maila ertain eta altuetan bereganatu baitzituzten haien jarduera maximoak, hurrenez hurren, eta ez baitziren kontrol tratamenduko balioen azpitik murriztu. Biofilmaren fosforoa atxikitzeo gaitasuna izan zen efluentearen kontzentrazio emendatu ahala murriztu zen jarduera biologiko bakarra. Experimentuaren bigarren fasean (23 egun) ubide artifizial guztiak erreka-ur garbitan ipini genituen, araztegiaren efluenteak ekosisteman eragin zitzakeen legatu-efektuak aztertzeo. Prozesu gehienek legatu-efektu argiak erakutsi zituzten, subsidio, estres edota subsidio-estres moduko erantzun-patroiak jarraitu zituztenak. Biofilmaren fosforoa atxikitzeo gaitasuna kutsadura fasean eragin handia izan zuten kanaletan murrizten jarraitu zuen arren, algen komunitatearen hazkuntza eta bentoseko metabolismoa emendatu ziren. Biofilmaren biomasaren hazkuntzak eta deskonposizioak, ordea, ez zuten legatu-efektu nabarmenik erakutsi. Oro har, araztegiaren efluenteek erantzun biologiko konplexu eta espezifikoak eragin zituzten gure mesokosmo-mailako experimentuan, zeintzuk sustatzaile eta estresoreen nahasketa konplexuaren ondorioz gerta zitezkeen. Hortaz, horrelako emaitzek kutsadura urbanoak ibai-ekosistemen funtzionamenduan eduki ditzakeen ondorioak ulertzen lagun gaitzakete.

Hitz gakoak: Kutsadura; Erreka; Deskonposizioa; Metabolismoa; Subsidio-Estresa; Biofilma.

Laburpen grafikoa



Sarrera

Giza populazioaren hazkuntzaren ondorioz eta landa-inguruneetatik herri- eta hiri-guneetara emandako migrazioaren ondorioz, hiriguneen hedapena esponentzialki emendatu da azken hamarkadetan (Jones eta O'Neill, 2016). Giza populazioaren emendioarekin bat, hondakin uren sarrerak, bai tratatu gabeak baita hondakin-uren araztegietatik (UHA) eratorritakoak, kutsadura urbanoaren iturri puntual ohikoenetariko bat bihurtu dira erreka eta ibai-ekosistementzat (Vörösmarty *et al.*, 2010). Hondakin uren araztegiek jatorri urbanoko kutsadura murrizten dute (Tchobanoglou eta Burton, 1991; Serrano, 2007), baina haien isurtzen dituzten efluentek substantzia desberdin askoren nahasketa konplexuak dira oraindik ere: materia organikoa, mantenugaiak (Merseburger *et al.*, 2005; Martí *et al.*, 2009), metalak, pestizidak eta lehentasunezko beste zenbait kutsatzaile, eta baita emergentzia-kutsatzaileak ere, hala nola, produktu farmazeutikoak, zaintza edo garbiketa pertsonalera bideratutakoak edota debekatutako drogak (Santos *et al.*, 2013; Rosi-Marshall *et al.*, 2015; Aymerich *et al.*, 2017). Nahasketa hauen konplexutasuna, hortaz, isurketen efektu ekologikoak oraindik ez ezagutzearen arrazoi nagusietako bat izan daiteke (Aristi *et al.*, 2015). Efluenteen substantzia asimilagarri eta toxikoen arteko orekak ekosistema-mailako prozesuak emenda edo murriztu ditzake (*sensu* Odum *et al.*, 1979), haien konposizio kimikoaren edo ekosistema hartzalean duten amaierako kontzentrazioaren arabera (Cardinale *et al.*, 2012; Rice eta Westerhoof, 2017), bai eta sistema hartzalearen komunitate biologikoen konposizioaren arabera (Segner *et al.*, 2014). Horren ildotik, mantenugai inorganikoek, esaterako, jarduera biologikoa emenda dezakete (subsidiola) maximo edo atalase batera heldu arte, non ez baitiren gehiago asimilagarriak izango eta jarduera biologikoa maila “normaletik” behera murriztuko baitutenean (estresa). Bestalde, metal astunek, pestizidek eta antibiotikoek, beste hainbat substantziaren artean, jarduera biologikoa murrizten dute edozein kontzentraziotan (Rodríguez-Mozaz eta Weinberg, 2010; Peters *et al.*, 2013). Edonola, substantzia asimilagarriek eta toxikoek uraren kalitatea kalte dezakete (Beyene *et al.*, 2009; Ribot *et al.*, 2012), komunitate biologikoen egitura eraldatu (Bundschuh *et al.*, 2011; Rosi-Marshall *et al.*, 2015) eta ekosistema-mailako prozesuetan eragin (Aristi *et al.*, 2015; Corcoll *et al.*, 2015). Hala ere, efluenteen amaierako kontzentrazioa ekosistema hartzalean jasango duten diluzio-gaitasunaren araberakoa da, zeina oraindik ere gehiago murriztu daitekeen, ur-errekursoen gainustiaketaren ondorioz (Arroita *et al.*, 2016) edota klima-aldaketaren ondorioz (Hisdal *et al.*, 2001; Englert *et al.*, 2013).

Ekosistemaren funtzionamenduak ibai-ekosistemetan ematen diren energiaren eta materiarenei fluxuak biltzen ditu (Tilman *et al.*, 2014; von Schiller *et al.*, 2017). Europar Batasunak ezarritako Uraren Esparru Arteztaraauak (UEA) egoera ekologikoa “azaleko uretako ekosistemen egituraren eta funtzionamenduaren arteko adierazpen bateratua” bezala definitzen duen arren, ekosistemaren funtzionamendua ez da aztertzen da egungo monitorizazio lan gehienetan (Birk *et al.*, 2012). Ekosistemaren osasunaren funtsezko osagaia izateaz gain, erreka eta ibaiek eskain ditzaketen ekosistema-mailako zerbitzuak bultzatzen ditu (Milurteko Ekosistemen Ebaluazioa, 2005). Hala ere,

oraindik ez daukagu argi zeintzuk diren araztegietatik eratorritako efluenteen efektuak ekosistema-mailako prozesuetan eta horrez gain, ekosistemetan eduki ditzaketen legatu-efektu potentzialak. Kontua da, efluenteen isurketak jasotzen dituzten erreka eta ibai askotan egindako ikerketek emaitza desberdinak deskribatzen dituztela neurrtutako prozesuaren arabera. Esaterako, lan batzuek materia organikoaren deskonposizioa emendatzen dela dioten bitartean (Pascoal *et al.*, 2003), beste batzuek ez dute eragin esangarririk topatu mantenugaien atxikimenduan (Haggard *et al.*, 2001; 2005) edota murrizketak deskribatu dituzte (Martí *et al.*, 2004; Merseburger *et al.*, 2005; 2011). Gainera, efluenteek prozesu autotrofo eta heterotrofoengen eragin desberdinak izan ditzakete habitat edo ekosistema-mailan (Aristi *et al.*, 2015) eta haieneko esposizioaren iraupenak ere erantzun-patroia baldintza eta modula dezake (Aristi *et al.*, 2016). Horrez gain, efektu horiek efluenteak murriztu edo gehiago jasotzen ez direnean ere iraun dezakete, eta hortaz legatu-efektuek ekosistemaren errekuperazio gaitasuna zaildu. Zentzu horretan, nahiz eta ikerlari askok estres-iturrien legatu-efektuak aztertzearen garrantzia azpimarratzen duten (Holeton *et al.*, 2011; Sharpley *et al.*, 2013), oso lan gutxik aztertzen dute gai hori esperimentazio bidez (Alvarez *et al.*, 2014).

Araztegien efluenteek ekosistemaren funtzionamenduan eragin ditzaketen efektuak sistema hartzalean izango duten amaierako kontzentrazioaren araberakoak izango dira, eta hortaz, ez ohi da eginkizun erraza efektu horiek landa-esperimentuen bidez aztertzea. Ondorioz, egoera honen baldintza kontrolatuen pean burututako laborategiko esperimentu baten beharra azaleratzen du, zeinak hurbilketa esperimental indartsuak eskain ditzakeen, komunitate biologiko naturalen konplexutasunaren ondorioz, *in situ* detektatzea ezinezkoa izango liratekeen mekanismo zehatzak isolatu eta aztertzeko (Benton *et al.*, 2007). Erreka- edo ibai-ekosistemen kasuan, erreka edo ubide artifizialak askotan erabili izan dira fenomeno ekologiko konplexuak aztertzeko, hala nola, mantenugaien eta kutsatzaile emergenteen arteko interakzioak (Aristi *et al.*, 2016), aldizkako emaria duten sistema intermitenteetan sasoi lehorren iraupenak duen garrantzia (Acuña *et al.*, 2015), aldaketa klimatiko globalaren ondoriozko tenperatura igoerak eta eraldatutako eguneko tenperatura-patroien efektuak (Freixa *et al.*, 2017), edota produktu farmazeutiko eta debekatutako drogekiko esposizioak komunitate biologikoetan eduki ditzakeen eragina (Hoppe *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2016).

Hortaz, esperimentu honetan araztegietatik eratorritako efluenteen efektuak aztertu genituen ibai-ekosistemen funtzionamenduan, erreka artifizialak erabiliz egindako laborategiko esperimentu baten bidez, erantzunean eragina izan zezaketen gainerako ingurumen-faktoreak ahalik eta gehien sinplifikatzeko. Gure helburua ondorengo aurreikuspenak aztertzea zen: (1) jarduera biologikoek subsidio-estres moduko erantzun-patroia erakutsiko zuten efluentearen diluzio-gradiientearekiko, hots, jarduera biologikoak efluentearen kontzentrazio baxu eta ertainetan emendatuko ziren, baina kontrol tratamenduaren (erreka-ur garbia) balioetatik behera murriztuko ziren efluentearen kontzentrazio altuetan; (2) erantzun-patroiak jarduera biologikoen arabera aldatuko ziren; eta (3) efluenteak legatu-efektu nabariak utziko zituen funtzionamenduan, sistemaren errekuperazio-gaitasuna murriztuz lehenengo esposizio-fasean jasandako kontzentrazioaren arabera.

Material eta metodoak

Esperimentuaren diseinua

Laborategiko esperimentua Uraren Ikerketarako Institutu Katalanak (ICRA - *Institut Català de Recerca de l'Aigua*) Gironan duen egoitzako Erreka Esperimentalen Instalazioan dituen erreka edo ubide artifizialak erabiliz egin genuen (Girona, Spainia). Erreka artifizialetako bakoitzari tratamendu zehatz bat egokitu genion zortzi aukeraren artean, erreka-ur garbitik (kontrol tratamendua) araztegi baten efluente purura (efluentearen kontzentrazioa: %0, 14, 29, 43, 58, 72, 86 eta 100). Tratamendu bakoitzeko hiru erreplika ezarri genituen ($8 \text{ tratamendu} \times 3 \text{ erreplika} = 24$ erreka artifizial). Erreka artifizialak seiko lau multzotan bananduta zeuden ($6 \text{ erreka artifizial} \times 4 \text{ multzo} = 24 \text{ erreka artifizial}$) eta hortaz, tratamendu bakoitza multzoetako batean baino ez genuen adierazi. Efluentearen diluzio gradientea erregresio lineal motako diseinu esperimentalarekin bat egiteko definitu genuen (Navarro *et al.*, 2000), efluentea jasotzen ez zueneko erreka baten eszenariotik, fase lehorrean aurkitzen zen erreka intermitente batera, non emariaren %100a araztegitik erorritako efluenteari zegokion. Horrelako diseinu esperimentalak, gainera, erreka artifizialetan neurtutako prozesuentzat jarduera maximoko kontzentrazioak eta subsidioaren eta estresaren arteko mugak definituko zitzuzten kontzentrazioak detektatzea ahalbidetuko zigula espero genuen.

Esperimentua 2017ko urtarrilaren 19 eta martxoaren 31 bitartean burutu genuen. 15 eguneko iraupeneko aklimatazio-fasearen ondoren, erreka artifizialak tratamendu desberdinaren eraginaren pean ipini genituen lehenengo esposizio-fasean zehar (32 egun), eta ondoren, bigarren errekuperazio-fase bat ezarri genuen (23 egun), non erreka-ur garbitan ipini genituen erreka artifizial guztiak. Bi fase esperimental hauen desberdintzapenak araztegien efluenteen berehalako eta legatu-efektuak antzematea ahalbidetu zigun.

Baldintza esperimentalak

Erreka artifizialetako bakoitzak independenteak ziren metakrilatozko ubide batean (luzera - zabalera - sakonera: 200 cm - 10 cm - 10 cm) eta uraren zirkulaziorako 70 litroko edukiera zuen ur-tanga banatan oinarritzen zen. Erreka bakoitzak 50 mL s^{-1} -ko emari konstantea jasotzen zuen eta sistema itxi baten moduan jarduten zuen 72 orduz, ubide bakoitzeko ur guztia hiru egunetik behin berritzen zelarik. Uraren batez besteko abiadura $0,71 \text{ cm s}^{-1}$ -koa zen eta urak sedimentu-ohe lauaren gainean hartzen zuen batez besteko sakonera 3 eta 3,5 centimetroren artekoa. Egoitzatik gertu dagoen kutsatu gabeko Llémena Errekaren tramu batetik ubideetako bakoitzak betetzeko 5 L sedimentu eta 14 harri hartu genituen. Llémena Erreka kareharriz osatutako isurialde mediterraneoko erreka oligotrofo iraunkorra da, erakusten dituen kutsatzaile kontzentrazio baxuen ondorioz lehendik erreferentzia gisa erabilia izan dena biofilm komunitatearekin eginiko beste esperimentu ekotoxikologiko batuetan (Bonnineau *et al.*, 2010; Serra *et al.*, 2010; Corcoll *et al.*, 2015). Sedimentuak eta harriak ordu bat

igaro baino lehen garraiatu genituen erreka artifizialetara eta uniformeki banandu genituen sedimentu-ohe lau bat osatu eta hortaz, biofilmaren hazkuntza errazteko. Aklimatazio-fasearen helburua erreka artifizialetako biofilmaren hazkuntza ahalbidetzea zen sedimentu eta harrietako inokulari esker. Lehenengo esposizio-fasearen ondoren, harri gehiago hartu genituen Llémena Errekaren tramu berdinistik eta ubideen goiko aldean jarri genituen, baldintza naturaletan goiko tramuetatik gertatuko zen kolonizazioa ahalik eta egokien simulatzeko.

erreka artifizialak aktibatutako karbono-filtroen bidez iragazitako euri-urez bete genituen eta erreketan ezarri genuen tratamenduetako bakoitzari, araztegiaren efluentea gehitu genizkion aurretiaz aipatutako diluzio-eskemari jarraiki. Efluentea Quarteko HUAtik hartu genituen, 200 litroko edukiera zuten tangetan laborategira garraiatu eta erreka artifizialetan 2 ordu igaro baino lehen gehitu genituen. Erradiazio Fotosintetiko Aktiboaren (EFA) eguneko zikloak ezarri genituen LED argien bidez (120 W; Lightech, Girona, Spainia) eta hortaz, erreka artifizialek argia zuten 10 orduz (09:00-19:00) eta ilunetan zeuden gainontzeko 14 orduetan (19:00-09:00). Argi-orduetan erreka artifizialetara heltzen zen EFA kantitatea egonkor mantendu genuen $174 \pm 33 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ -tan, nahiz eta 10 minuturik behin automatikoki neurten genuen erreka artifizialetan uniformeki banandutako 4 quatum-zunden bidez (sensor LI-192SA, LiCOR Inc, Lincoln, AEB). Bestalde, biofilmaren aklimatazio graduala ahalbidetzeko errekkako baldintza naturaletatik erreka artifizialetara, aklimatazio-fasean zehar airearen tenperatura 10°C -tan mantendu genuen eta esposizio eta errekuperazio-faseetan 15°C -tan; betiere, airearen batez besteko hezetasuna %30ean egonkor mantendu genuen. Uraren tenperatura, ordea, 20°C -tan mantendu genuen esperimentuan zehar eta 10 minuturik behin neurtu genuen tenperaturaren VEMCO Minilog neurgailuak erabiliz (-5 eta 35 artean $\pm 0.2^\circ\text{C}$) (TR model, AMIRIX Systems Inc, Halifax, NS, Kanada). Oro har, erreka artifizialetan ezarritako ezaugarri fisiko-kimikoek (uraren abiadura, tenperatura eta argiaren zikloak) udaberriaren hasieran Llémena Errekan aurki zitezkeen baldintzak berdintzea zuten helburu.

Uraren kimika

Uraren ezaugarri fisiko-kimikoak [pH-a, tenperatura (T), eroankortasun elektrikoa (EE) eta uraren oxigeno disolbatuaren (OD) kontzentrazioa eta saturazioa] 3-4 egunetik behin, beti eguerdian, neurten genituen erreka artifzial bakoitzari zegokion kanalaren hustubidean eskuko zundak erabiliz (WTW multiline 3310, Weilheim, Alemania; YSI ProODO handled, YSI Inc., Yellow Springs, OH, AEB). Erreka artifzial guzietako ura berriztu eta 24 ordu igaro ondoren, mantenugaien, anioi eta katioi nagusien eta disolbatutako karbono organikoaren (DKO) kontzentrazioak neurten genituen, kasu honetan ere, erreka artifzial bakoitzari zegokion kanalaren hustubidetik. Mantenugaien analisietarako ur-laginak zuzenean iragazten genituen, $0.2 \mu\text{m}$ -ko poro-tamaina zuten nylonezko filtroak erabiliz ($0.2 \mu\text{m}$ -ko poro-tamaina zuten nylonezko filtroak, Whatman GF/F, Whatman International Ldt., Kent, Erresuma Batua), aurretiaz garbitutako polietilenozko poteetara. Uretan disolbatutako fosforo errektiboaren (DFE) kontzentrazioa kolorimetria bidez aztertzen genuen

gutziz automatizatutako Alliance Instruments Smartchem 140 analizatzalea erabiliz (AMS, Frépillon, Frantzia). Anioi [nitrato (N-NO_3^-), nitrito (N-NO_2^-), sulfato (SO_4^{2-}), kloruro (Cl^-) eta bromuroa (Br^-)] eta katioi [amonio (N-NH_4^+), kaltzio (Ca^{2+}), magnesio (Mg^{2+}), sodio (Na^+) eta potasioa (K^+)] nagusien kontzentrazioa, ordea, kromatografia bidez aztertzen genuen Dionex ICS-5000 ioi kromatografo batez (Dionex Corporation, Sunnyvale, AEB). Bestalde, disolbatutako karbono organikoaren (DKO) analisientzako ura zuzenean iragazi genuen aurretiaz erraustutako 0,7 μm -ko poro-tamaina zuten aurretiaz erraustutako beira-zuntzezko filtroak erabiliz (Whatman GF/F, Whatman International Ldt., Kent, Erresuma Batua). Ondoren, DKO kontzentrazioa Shimadzu TOC-V CSH analizatzale baten bidez neurten genuen (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonia). Azkenik, metal astunen kontzentrazioa tratamendu kutsatuenean (%100 efluentea zuen tratamendua, alegia) aztertu genituen. Horretarako, ur-laginak lehenengo esposizio-fasearen amaieran hartu genituen (32 egunen ondoren), zuzenean iragazi 0,45 μm -ko poro-tamaina zuten nylonezko filtroak erabiliz (Whatman, Whatman International Ldt., Kent, Erresuma Batua) eta ICP-MS analizatzale baten bidez aztertu genituen (7500c Agilent Technologies, Inc. Willington, AEB).

Erantzun-aldagaiak

Erreka artifizialetako ibai-ekosistemaren erantzun funtzionala aztertzeko, biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasuna (U_{SRP}) neurtu genuen, biofilm komunitatearen hazkuntza-tasak [klorofilaren kontzentrazioaren ($\text{Chl-}a$) eta errautsik gabeko pisu lehorren (EGPL) bidez] baita bentoseko komunitatearen metabolismoa ere [ekoizpen primario gordinaren (EPG) eta komunitatearen arnasketaren (KA) bidez]. Azkenik, komunitate mikrobiar heterotrofoaren jarduera ere neurtu genuen eskura zuten materia organikoa kontsumitzeko zuten gaitasunaren bidez (materia organikoaren deskonposizioa (MOD)).

Biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasuna eta hazkuntza-tasak

Biofilm komunitatearen uretan disolbatutako fosforo errektiboaren (DFE) atxikimendu-gaitasuna eta hazkuntza-tasak neurtzeko biofilm-eramaileak erabili genituen. Hauek plastikozko substratu artifizial txikiak dira azalera-bolumen proportzio oso altua dutenak eta araztegi zein akuarioetan erabili ohi direnak biofilmaren atxikimendua sustatzeko. 2,5 zentimetroko luzerako aldeak dituzten polietilenozko eramaile kubiko hauek (SERA GmbH D52518, Heinsberg, Alemania) esposizio-fasearen hasieran inkubatu genituen, erreka artifizialetako bakoitzean zortziko multzoak sartuz. Bi faseetako bakoitzaren amaieran (32 eta 55 egunen ondoren, hain zuzen) erreka artifizial bakoitzetik biofilm-eramaile bat berreskuratu genuen, tratamendu bakoitzeko 3 erreplika lortzeko. Ondoren, biofilm-eramaileak zuzenean fosforoaren atxikimendua aztertzeko erabiltzen genuen entseguaren baldintzen pean ipintzen genituen (urrerago azalduta azpiatal berdinean), horren ostean, aurretiaz identifikatutako plastikozko poltsa txikietan banaka izotzen genituelarik. Izoztutako biofilm-eramaileak prozesatzeko, desizoztu eta eramaileetako bakoitzean hazitako biofilma banatzen genuen zelulak apurtzeko erabili ohi den ultrasoinuen Brandson sonikadore baten bidez (Branson Ultrasonic

TM, Branson Ultrasonic Corporation, Emerson Electric, AEB). Eramaileak 100 mililitro ur desionizatuan sartzen genituen eta %70eko anplitudeko pultsuen hiru minutu eta anplitude berdinean baina modu konstantean aplikatutako bi minutu konbinatzen genituen biofilma erauzteko. Eramaile bakoitzetik lortutako nahasketa ("biofilm-zopa") 0,7 μm -ko poro-tamaina zuten beirazuntzezko filtroetan (Whatman GF/F, Whatman International Ldt., Kent, Erresuma Batua) iragazten genuen, klorofila kontzentrazioa eta biomasa neurtzeko.

Biofim-eraamaileen gainean hazitako biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasuna (U_{SRP}) neurtzeko, von Schiller eta lankideek (*prestaketapean*) garatutako metodo berri bat erabili genuen. Laburki azalduta, biofilm-eraamaileak erreka artifizial bakoitzetik jaso ondoren, aklimataziorako soluzio baten 100 mL-tan banaka inkubatzen genituen aurretiaz garbitutako plastikozko poteetan. Aklimataziorako soluzioa (1:5 karbonatutako Perrier ur-minerala (Nestlé, Vergèze, Frantzia): ur desionizatua) mikromantenugaien eskuragarritasuna bermatzeko diseinatu genuen eta bertan, eramaileak 30 minutuz, 100 bira minutuko agitazio-abiaduran, 20 °C-tan eta $\sim 180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ argi-intentsitatean inkubatzen genituen. Aklimatazioaren ondoren, biofilm-eraamaileak banaka murgiltzen genituen 60 mL-ko edukiera zuten plastikozko beste pote batzuetan soluzio berdina erabiliz baina fosfatoa gehitura (K_2HPO_4 , 10.000 μM = $3,1 \cdot 10^5 \mu\text{g P L}^{-1}$). Poteetako bakoitzean 5 μM -eko (155 $\mu\text{g P L}^{-1}$) amaierako kontzentrazioa lortzen genuen eta baldintza berdinatan inkubatzen genituen beste ordubetez. Amaierako kontzentrazio hori guk aukeratu genuen biofilmarentzako asebetetze-baldintzak ziurtatzeko, baina aldi berean inkubazioan zehar mantenugaien beherakada bermatzeko, eta ondorengo mantenugai-atxikimenduaren kalkulua ahalbidetzeko. Inkubazioaren ondoren, pote bakoitzetik 20 mL ur hartzen genituen eta horietako 10 mL beira-zuntzezko filtroen bidez iragazten genituen (0,7 μm -ko poro-tamaina, Whatman GF/F, Whatman International Ldt., Kent, Erresuma Batua) 15 mL-ko edukiera zuten plastikozko pote garbietan, izoztuta mantentzen genituenak zegozkien analisiak burtu arte. Kolonizatutako substratuekin batera, kontrol tratamenduak ere inkubatzen genituen kolonizatu gabeko biofilm-eraamaileak erabiliz ($n = 3$ inkubazioko). Azkenik, biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasuna kontrolen (kolonizatu gabeko substratu artifizialak) eta kolonizatutako substratu artifizialen arteko batez besteko disolbatutako fosforo errektiboaren kontzentrazioaren diferenciaren bidez kalkulatu genuen, betiere inkubaziorako erabilitako ur-bolumena (L) eta denbora (h) kontutan hartuta. Ondorioz, atxikimendu-gaitasunaren emaitzak ordu bakoitzean (h^{-1}) atxikitutako fosforo μg -en bidez adierazi genituen. Horrez gain, fosforo atxikimendu-gaitasuna biofilmaren biomasarengatik (GPL) zuzendu genuen, biofilmak fosforoa atxikitzeko zuen efizientzia aztertzeko. Uretan disolbatutako fosforo errektiboaren kontzentrazioa eskuz neurtu genuen argi-iturri bikoitza zuen UV-1800 UV-Vis espektrofotometroa erabiliz (Shimadzu, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonia), Murphy eta Rileyk (1962) deskribatutako metodoari jarraiki. Erreka artifizialetako N/P ratioak iradoki zigun fosforoa zela mantenugai mugatzalea.

Biofilm-zopak iragazteko erabili genituen filtroen klorofila kontzentrazioa aztertzeko, filtroak lehenik eta behin %90eko purutasuna zuen azetonan 12 orduz, ilunpean eta 4 °C-tan erauzten genituen (Steinman *et al.*, 2006). Ondoren, klorofilaren erabateko erauzketa ziurtatzeko, laginak birritan sonikatzen genituen 30 segundoz (30 s, 360 watt-eko potentzia eta 50/60 hertz-eko frekuentziarekin, JP Selecta S.A., Bartzelona, Espainia). Erauzketa bermatzean, klorofila kontzentrazioa espektrofotometria bidez neurten genuen (U-2000 Spectrophotometer; Hitachi, Tokyo, Japonia) absorbantzia 665 eta 750 nm-ko uhin-luzeeretan aztertuz, Jeffrey eta Humphrey-k (1975) proposatutako metodologiari jarraiki. Lortutako klorofila balioak substratu artifizialen azalera unitateko (cm^2) hazitako klorofila kantitate gisa ($\text{Chl-}\alpha\ \mu\text{g}$) adierazten genituen. Bestalde, GPL balioak biofilmaren biomasaren hazkuntzaren hurbilketa gisa erabili genituen. Horretarako, biofilm-zoparen beste azpi-lagin bat aurretiaz pisatutako filtrotan iragazten genuen, lehortu 70 °C-tan eta 72 orduz pisu konstantea izan arte, pisatu, labean (AAF 1100, Carbolite, Erresuma Batua) erraustu 500 °C-tan 5 orduz eta berriro ere pisatzen genituen. Lortutako emaitzak substratu artifizialen azalera unitateko (cm^2) hasitako biofilm kantitate gisa (GPL mg) adierazten genituen.

Bentoseko metabolismoa

Bentoseko komunitatearen metabolismoa aztertzeko komunitatearen metabolismo garbia (KMG) eta arnasketa (KA) neurtu genituen, ura etengabe birziklatzen zeneko ganbara zilindrikoetan (0,96 L) ematen ziren oxigeno disolbatuaren kontzentrazioaren aldaketak aztertuz, Acuña eta lankideek (2008) proposatu bezala. Aklimatazio-fasearen hasieratik, erreka artifizial bakoitzean altzairu herdoilgaitzezko burdin harizko sarearekin (1 mm-ko poro-tamaina) egindako erretieluak edo saskiak (64 cm^2 -ko gainazaleko azalera) kokatu genituen, biofilmaren kolonizazioa ahalbidetzeko. Saski bakoitza sedimentu larriarekin bete genuen ($d_{50} = 0,74\ \text{mm}$ -ko batez besteko diametrodun partikulak (48 cm^2 -ko gainazaleko azalera)) eta horrez gain, batez beste 4,5 cm-ko diametroa zuen harri bana sartu genuen (16 cm^2 -ko gainazaleko azalera), biofilm epipsamiko eta epilitikoaren jarduera bateratua deskribatzeko. Fase bakoitzaren amaieran, erreka artifizial bakoitzetik saski bana hartzen genuen, ganbaretan kokatzen genituen, erreka artifizial bakoitzari zegokion hustubidetik hartutako urarekin ganbarak betetzen genituen. Ondoren, ordubetez argitan eta beste ordubetez ilunetan inkubatzen genituen. Uraren tenperatura erreka artifizialetan zegoenaren (20 °C) ahalik eta antzekoen mantentzeko, ganbara guztiak inkubazio-ganbara handi batean sartzen genituen (Radiber AGP-700-ESP, Bartzelona, Espainia). Komunitatearen metabolismo garbia (KMG) argitan neurten genuen (EFA konstantea: $168 \pm 2\ \mu\text{E m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$, erreka artifizialetan jasotzen zutenaren antzekoa) eta komunitatearen arnasketa (KA), ordea, ilunpean. Behin metabolismoaren neurketak amaitzean, saskiak zegokien erreka artifizialera itzultzen genituen. Inkubazioetan zehar, ganbara bakoitzaren barneko oxigeno disolbatuaren kontzentrazioa 15 segundotik behin neurtu genuen oxigeno zundak erabiliz (PreSens OXY-10mini, Regensburg, Alemania). Metabolismo tasak Acuña eta lankideek (2008) proposatu bezala kalkulatu genituen, non komunitatearen metabolismo garbia (KMG) eta arnasketa (KA) ondoz ondoko bi neurketen arteko oxigeno kontzentrazioaren diferenciaren bidez

kalkulatzen genituen ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$), betiere inkubazio-denbora (h), ganbara bakoitzaren barnean erabilitako ur-bolumena (L) eta inkubatu genitueneko saskien azalera aktiboa (m^2) kontutan hartuz. Komunitatearen ekoizpen primario gordina (EPG), metabolismo garbiaren eta arnasketaren arteko batuketaren bidez estimatu genuen. Kasu guztieta lortutako emaitzak azalera unitateko (m^{-2}) eta denborako (h^{-1}) ekoiztutako edo kontsumitako O_2 mg bezala adierazi genituen.

Materia organikoaren deskonposizioa

Materia organikoaren deskonposizioa neurtzeko, landan hartu genituen hultz-hosto erori berrien (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertner) 12 mm-ko diskoak erabili genituen. Diskoak kortxo-zulatzaile baten bidez moztu genituen, 15eko multzoetan batu eta multzo horietako bakoitza, PVCzko tutu beltz batean sartu genuen hostoen gaineko algen hazkuntza ekiditeko. PVC tutuak (2 cm-ko diametroa eta 5 cm-ko luzera) banan-banan identifikatu genituen eta poro-tamaina txikiko ($400 \mu\text{m}$) sare finekin estali genituen, diskoen galera ekiditeko baina aldi berean, kolonizazio mikrobiarra eta ur-fluxua ahalbidetzeko. Esposizio-fasearen hasieran, PVC tutuak luzetaraka etzanda kokatu genituen erreka artifizialen sedimentu-ohean 9ko multzotan, hau da, ubide bakoitzeko 3 erreplika ipiniz. Esposizio-fasearen amaieran (32 egunen ondoren), PVC tutuen barneko diskoak hartu, lehortu (72 h, 70 °C), pisatu, erraustu (5 h, 500 °C) eta berriro ere pisatu genituen errautsik gabeko pisu lehorren (EGPL) edukia neurtzeko. Errekuperazio-fasean prozesu berdina errepikatu genuen, baldintza berdineta aurretiaz prestatutako beste hultz diskoen multzo bat erabiliz. Horrez gain, beste 20 PVC tutu erabili genituen (10 fase esperimental bakoitzeko), eta laborategian baldintza berdinena pean inkubatu genituen lixibazio tasak kalkulatzeko eta horrela, esperimentuan erabilitako hostoen hasierako pisua zuzentzeko. Deskonposizio tasak eredu esponentzial negatiboaren arabera kalkulatu genituen (Petersen eta Cummins, 1974), lortutako emaitzak eguneko (d^{-1}) kontsumitako materia organiko kantitatearen bidez adierazi genituelarik.

Datuen analisia

Gure esperimentuaren helburua neurtutako prozesu funtzionalek jarraitu zuten erantzun-patroia aztertzea zen, datuek 8 eredu desberdinekiko erakusten zuten egokitzapena aztertuz (zuzena, esponentziala, potentziala, logistikoa, logit, Monod, Haldane eta koادرatikoa, 1. taula, S1 Irudia). Eredu horiek aukeratu genituen ekosistema-mailako prozesuetan eta ingurumen-faktoreetan deskribatutako erlazio arrunt eta ugarienak barneratzeko. Eredu zuzena eta koادرatikoak “Im” R funtzioaren bidezko eredu zuzenekin doitu genituen bitartean (Chambers, 1992), beste guztiak “gnls” R funtzioaren bidezko eredu ez-zuzenekin doitu genituen, orokortutako minimo karratuak erabiliz (Pinheiro *et al.*, 2018). Egokitutako eredu kopurua ez zen berdina aldagai guztientzat, ereduetako batzuk konputatu ahal izateko beharrezkoak ziren ezaugarriak edo baldintzak ez baitziren beti betetzen. Hortaz, eredu emaitzak [Akaike Informazio Irizpideen (AII) eta Erlatibizatutako Errore Estandarrak (EEE)] bakarrik lortzen genituen datuek eredu bakoitzak behar zituen baldintza horiek betetzen zitztenean. Hala ere, erantzunik simpleena (eredu zuzena) beti konputatzen zen.

Kasu bakoitzean konputatutako eredu guztiengarren artean egokienak aukeratzeko hurrengo irizpideak erabiltzen genituen: 1) AII balio baxuenekoa, 2) EEE balio baxuenekoa eta 3) aukeratutako ereduak zentzu ekologikoa izan behar zuen. Horren ondorioz, zentzu edo esanahi ekologikorik ez zuten ereduak, alderantzizko Haldane edo eredu koadratikoak alegia, konputatuak izan arren, baztertu eta ez genituen aukeratzen. Era berean, ereduetako bat ere ez bazeen gure datuetara doitzen, zuzena zen lehenetsia. Datuetara doitutako ereduak erresidualen normaltasuna ere aztertzen genuen, AII balioen erabilpen zuzena bermatzeko. Horrez gain, Pearsonen korrelazio analisiak ere egin genituen efluenteen sarrerak uraren ezaugarrietan (hau da, ezaugarri fisiko-kimikoetan eta mantenugaien, anioien, katioien eta disolbatutako karbono organikoaren kontzentrazioetan) eragin zituen erantzunen noranzkoak eta indarra aztertzea. Analisi estatistiko guztiak R softwarearen 3.4.0. bertsioarekin egin genituen (R Development Core Team, Vienna, Austria).

1. Taula: testatutako eredu desberdinak ezaugarriak, dagozkien ekuazio matematikoekin, ekuazio bakoitzean erabilitako parametroen esanahiarekin, gure esperimentuan zuen interpretazio ekologikoarekin eta erantzun mota bakoitza deskribatzen edo erabiltzen dituen beste lan batzuen adibidekin. Kasu guztietan, y aldagaia neurtutako prozesu funtzionalari dagokio eta x aldagaia, ordea, efluentearen kontzentrazioari.

Eredua	Ekuazioa	Parametroak	Interpretazioa	Erreferentziak
Zuzena	$y = a + bx$	a , interzeptua - tasa 0 kontzentrazioan b , malda	Erantzun funtzionala tasa konstantean aldatzen da efluente kontzentrazioarekiko, subsidio (malda positiboa) edo estres (malda negatiboa) erantzun zuzenak erakutsiz	Wagenhoff <i>et al.</i> , 2011 Aristi <i>et al.</i> , 2016
Esponentziala	$y = ae^{bx}$	a , tasa 0 kontzentrazioan b , hazkuntza-tasa	Subsidio edo estres efektuak efluentearen kontzentrazioa hazten deneko proportzio berdinean emendatu edo murrizten dira	Vandermeer, 2010 Wagenhoff <i>et al.</i> , 2011, 2012
Potentziala	$y = ax^b$	a , koefizientea b , berretzailea (funtzioaren makurdura definitzen du)	Subsidio edo estres efektuak efluente kontzentrazioarekiko potentzialki emendatzen dira	Peters, 1983 Marquet <i>et al.</i> , 2005
Logistikoa	$y = \frac{a}{1 + e^{-b(x-x_0)}}$	a , tasa maximoa b , makurduraren malda x_0 , x sigmoidearen erdiko puntuaren balioa	Subsidio efektua hasieran esponentzialki emendatzen da, baina ondoren faktore mugatzale baten ondorioz egonkortzen da	Ricklefs, 1967 Vandermeer, 2010 Wagenhoff <i>et al.</i> , 2011
Logit	$y = y_0 + \frac{1}{b} + \log \frac{x+1}{a-(x+1)}$	a , tasa maximoa b , makurduraren malda y_0 , y alderantzizko sigmoidearen erdiko puntuaren balioa	Logistikoa alderantzizko, hasieran esponentzialki murrizten da baina gero egonkortzen da	McFadden, 1974 Hanley <i>et al.</i> , 1998 Carl eta Kühn, 2007

Monod	$y = a \frac{x}{b + x}$	a , tasa maximoa b , tasa bere maximoaren erdira heltzen deneko kontzentrazioaren balioa	Michaelis-Menten ekuazioaren antzekoa, efluente-kontzentrazioak saturatzen duen subsidio efektua deskribatzen du	Monod, 1949 Mogens <i>et al.</i> , 2000
Haldane	$y = a \frac{x}{b + x + \frac{x^2}{c}}$	a , tasa maximoa b , tasa bere maximoaren erdira heltzen deneko kontzentrazioaren balioa c , inhibizioa bere maximoaren erdira heltzen deneko kontzentrazioaren balioa	Subsidio-estres dinamika: erantzun funtzionalak efluente kontzentrazio ertainetan bereganatzen du maximoa, baina normalaren azpitik murrizten da kontzentrazio altuetan. Hazkuntza eta murrizketa-tasak asimetrikoak izan daitezke	Haldane, 1930 Camargo eta Alonso, 2006 Woodward <i>et al.</i> , 2012 Wagenhoff <i>et al.</i> , 2011, 2012, 2013
Koadratikoa	$y = ax^2 + bx + c$	a , inhibizioa maximoa deneko kontzentrazioaren balioa b , malda c , interzeptua, zero kontzentrazioan duen tasa	Haldane erantzun patroiarekiko antzekoa, baina hazkuntza eta murrizketa tasak simetrikoak dira	Otto eta Day, 2007 Weir eta Pettit, 2000 Austin, 2002

Emaitzak

Uraren kimika

Esperimentuan zehar erabilitako araztegiaren efluentearen batez besteko pH-a $7,9 \pm 0,1$, eroankortasun elektrikoa $1348 \pm 61 \mu\text{S cm}^{-1}$ eta oxigeno disolbatuaren kontzentrazioa $6,9 \pm 0,4 \text{ mg L}^{-1}$ -koak ziren. Mantenugaien eta disolbatutako karbono organikoaren kontzentrazioak altuak ziren: nitrito kontzentrazioa $5,8 \pm 2,0 \text{ mg N L}^{-1}$, amonioarena $16,1 \pm 3,2 \text{ mg N L}^{-1}$, nitratoarena $16,1 \pm 4,2 \text{ mg N L}^{-1}$, disolbatutako fosforo errektiboarena $0,70 \pm 0,13 \text{ mg P L}^{-1}$ eta disolbatutako karbono organikoarena $14,3 \pm 0,5 \text{ mg C L}^{-1}$ (2. taula eta S1 Taula ikusi detaile gehiagorentzako). Kobrea ($81,9 \pm 1,6 \mu\text{g L}^{-1}$), zinka ($71,8 \pm 4,8 \mu\text{g L}^{-1}$), burdina ($51,9 \pm 3,9 \mu\text{g L}^{-1}$) eta artsenikoa ($7,3 \pm 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$) ziren araztegiaren efluentean neurtutako metal astun ugarienak (S1 Taula). Efluentearen kontzentrazioaren emendioak zuzenean murriztu zituen DO eta pH ($R^2 = 0,87$, $p < 0,001$ eta $R^2 = 0,93$, $p < 0,001$, hurrenez hurren), baina emendatu eroankortasuna ($R^2 = 0,99$, $p < 0,001$), mantenugaiak ($R^2 = 0,94$, $p < 0,001$ nitritoarentzat; $R^2 = 0,99$, $p < 0,001$ amonioarentzat; $R^2 = 0,98$, $p < 0,001$ nitratoarentzat; $R^2 = 0,95$, $p < 0,001$ disolbatutako fosforo errektiboarentzat) eta disolbatutako karbono organikoaren kontzentrazioa ($R^2 = 0,99$, $p < 0,001$). Temperatura, aitzitik, ez zen esangarriki aldatu tratamenduen artean ($R^2 = 0,01$, $p = 0,84$; 3. taula). Oro har, mantenugai guztiak zuzenki emendatu ziren efluentearen kontzentrazioarekiko, proportzio desberdinetan egin zuten arren: nitrito eta amonioaren kontzentrazioak 100 eta 400 aldiz baino gehiago emendatu ziren, hurrenez hurren, baina nitrato, disolbatutako fosforo errektiboa eta karbono organikoaren kontzentrazioak 5-20 aldiz baino ez ziren emendatu. Azkenik, erreuperazio-fasean berrezarritako errekkako ur garbiaren fluxuak tratamenduen arteko differentzia esangarri hauek desagerrarazi zituen (2. taula).

2. Taula: Tratamendu bakoitzaren uraren kimikaren ezaugarriak esposizio eta errekuperazio faseetan zehar (tratamendu guztiak bateratuak). Erakutsitako balioak batez bestekoak \pm errore estandarrak dira. pH, tenperatura, eroankortasuna eta oxigeno disolbatuaren kontzentrazioaren kasuan, balioak tratamendu bakoitzeko 3 erreplikak kontutan hartuz kalkulatu genituen 10 laginketetan zehar lehenengo esposizio-fasean ($n = 30$) eta 6 laginketetan zehar bigarren errekuperazio-fasean ($n = 18$). N-NO₂⁻, N-NH₄⁺, N-NO₃⁻, DFE eta DKO kontzentrazioen balioak, aitzitik, tratamendu bakoitzeko 3 erreplikak kontutan hartuz kalkulatu genituen 12 laginketetan zehar lehenengo esposizio-fasean ($n = 36$, DKOaren kasuan izan ezik non $n = 30$) eta 8 laginketetan zehar bigarren errekuperazio-fasean ($n = 24$, DKOaren kasuan izan ezik non $n = 12$).

Tratamendua	%0	%14	%29	%43	%58	%72	%86	%100	Errekuperazioa
pH	8,4 \pm 0,1	8,4 \pm 0,1	8,3 \pm 0,1	8,2 \pm 0,1	8,1 \pm 0,1	8,0 \pm 0,1	8,0 \pm 0,1	7,9 \pm 0,1	8,6 \pm 0,0
T (°C)	21,1 \pm 0,3	21,0 \pm 0,2	19,4 \pm 0,2	19,1 \pm 0,2	19,7 \pm 0,2	19,9 \pm 0,2	21,0 \pm 0,2	21,2 \pm 0,2	20,2 \pm 0,3
EE (μ S cm ⁻¹)	220 \pm 4	398 \pm 9	584 \pm 20	766 \pm 28	934 \pm 37	1112 \pm 45	1205 \pm 53	1348 \pm 61	302 \pm 4,3
OD (mg L ⁻¹)	8,9 \pm 0,1	9,0 \pm 0,1	9,2 \pm 0,1	8,7 \pm 0,2	8,3 \pm 0,3	7,8 \pm 0,4	7,3 \pm 0,4	6,9 \pm 0,4	9,2 \pm 0,1
N-NO ₂ ⁻ (mg N L ⁻¹)	0,05 \pm 0,0	0,4 \pm 0,1	1,8 \pm 0,4	2,9 \pm 0,8	4,7 \pm 1,2	5,5 \pm 1,6	6,5 \pm 2,0	5,8 \pm 2,0	0,003 \pm 0,0
N-NH ₄ ⁺ (mg N L ⁻¹)	0,04 \pm 0,02	2,0 \pm 0,5	5,4 \pm 1,1	7,7 \pm 1,6	9,4 \pm 2,1	11,8 \pm 2,5	13,4 \pm 2,8	16,1 \pm 3,2	0,002 \pm 0,0
N-NO ₃ ⁻ (mg N L ⁻¹)	1,2 \pm 0,0	3,7 \pm 0,5	4,4 \pm 0,9	6,9 \pm 1,7	8,6 \pm 2,3	11,9 \pm 3,2	12,6 \pm 3,6	16,1 \pm 4,2	1,0 \pm 0,1
DFE (mg P L ⁻¹)	0,04 \pm 0,03	0,03 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	0,21 \pm 0,06	0,31 \pm 0,09	0,44 \pm 0,11	0,53 \pm 0,12	0,70 \pm 0,13	0,03 \pm 0,01
DKO (mg C L ⁻¹)	1,2 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	5,0 \pm 0,1	7,1 \pm 0,2	9,1 \pm 0,3	11,3 \pm 0,4	12,2 \pm 0,5	14,3 \pm 0,5	2,0 \pm 0,0

Biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasuna eta hazkuntza-tasak

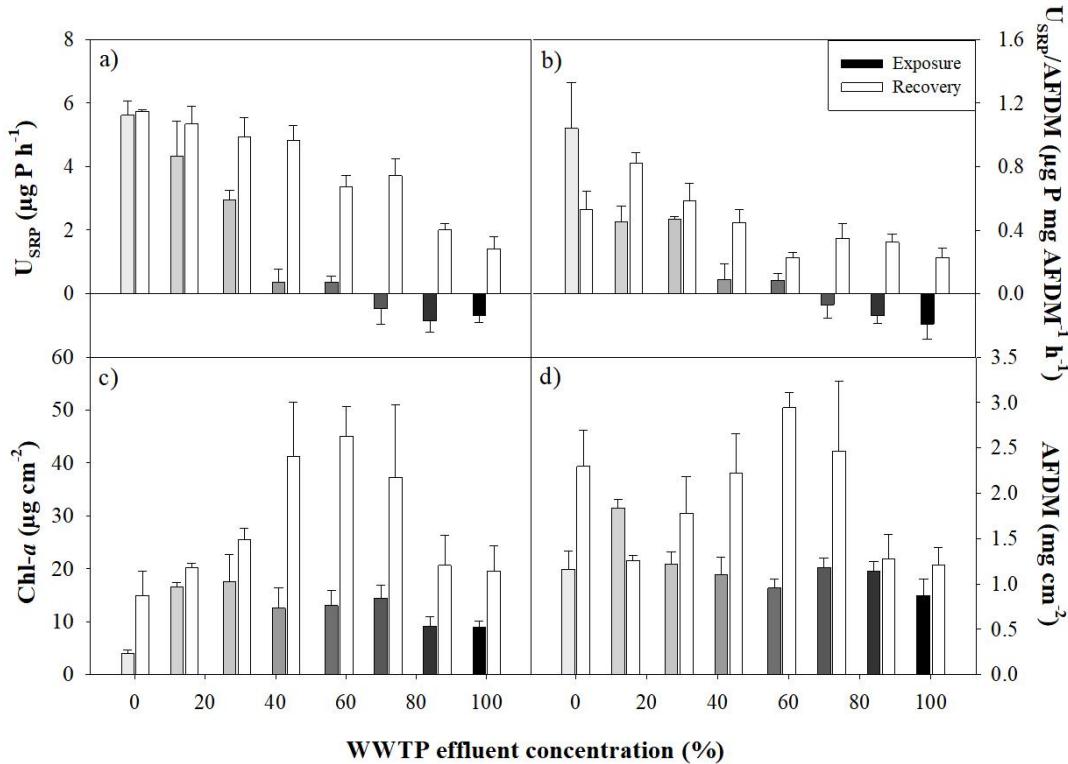
Efluenteak berehalako estres efektuak eragin zituen biofilmaren fosforoa atxikitzeo gaitasunean, kontrol tratamenduan erakutsi baitzuen jarduera maximoa ($5,6 \mu\text{g P h}^{-1}$, %0). Hortik aurrera, efluentearen kontzentrazioa emendatu ahala biofilmaren atxikimendu-gaitasuna murriztuz joan zen (2a irudia), %70eko kontzentraziora heldu arte, non atxikimendu-gaitasuna negatibo bihurtu baitzen, biofilmak fosforoa askatzen zuela adieraziz (2a eta 2b irudiak). Behatutako murrizketa logit modelora doitu zen hobeto (3. taula, S2 Irudia), adieraziz kutsadura maila baxuetan murrizketarik handiena ematen zela eta kutsadura maila ertainetik aurrera, erantzuna egonkorragoa, baina betiere negatiboa, bihurtzen zela. Era berean, efluenteak legatu-efektu nabarmenak utzi zituen biofilmaren fosforoa atxikimendu-gaitasunean, zeinak murrizteko joera berdintsua erakutsi zuen kontrol tratamendutik ($5,7 \mu\text{g P h}^{-1}$, %0) kutsatuenera ($1,4 \mu\text{g P h}^{-1}$, %100), kasu honetan ere hobeto doitz logit eredura (3. taula, S2 Irudia).

Efluenteak berehalako estres efektuak ere eragin zituen biofilmaren fosforoa atxikitzeo efizientzian (hots, atxikimendu-gaitasuna biofilmaren biomasarekiko), berriro ere kontrol tratamendutik aurrera, biofilmak murriztutako atxikimendu-efizientzia erakusti baitzuen (2d irudia). Atxikimendu-efizientziak bere maximoa kontrol tratamenduan izan zuen ($1,0 \mu\text{g P mg EGL}^{-1} \text{h}^{-1}$, %0), eta $-0,2 \mu\text{g P mg EGL}^{-1} \text{h}^{-1}$ -ra arte murriztu zen tratamendu kutsatuenean. Beste behin ere, murrizteko joera hau hobeto doitu zen logit eredura (3. taula, S3 Irudia), estres efektu hutsa adieraziz. Efluentearen legatu-efektuek ere kutsadura kontzentrazio baxuetan izan zuten maximoa (efizientziarik altuena: $0,8 \mu\text{g P mg EGL}^{-1} \text{h}^{-1}$, %14; efizientziarik baxuena: $0,2 \mu\text{g P mg EGL}^{-1} \text{h}^{-1}$, %100). Erlazio hau, ordea, Haldane eredura doitu zen hobeto, subsidio-estres motako erantzun-patroia iradoki lezakeena (3. taula, S3 Irudia).

Esposizio-fasean zehar klorofila kontzentrazioaren (Chl-*a*) balio maximoak kutsadura-maila ertainetan lortu ziren ($17,5 \mu\text{g cm}^{-2}$, %29), nahiz eta kasu honetan balio baxuenak ($3,9 \mu\text{g cm}^{-2}$) kontrol tratamenduan izan (2c irudia). Hortaz, efluentearen berehalako efektuek erakutsi zuten klorofila kontzentrazioa kutsadura-maila guzietan emenda zitekeela. Hala ere, datuak Haldane eredura doitu ziren hobeto (3. taula, S4 Irudia), kutsadura-maila altuetan inhibitutako subsidio efektu saturatua iradoki zezakeena. Bestalde, efluenteak legatu-efektu argiak utzi zituen klorofila kontzentrazioan, balio baxuenak kontrol tratamenduan ($14,9 \mu\text{g cm}^{-2}$) eta maximoak kutsadura-maila ertainetan ($45,1 \mu\text{g cm}^{-2}$, %58) izan baitziren. Datuak eredu koادرatikora doitu ziren hobeto (3. taula, S4 Irudia), baina kontzentrazio altuetan emandako murrizketak ez zuenez kontroleko balioetatik behera egin, kasu honetan ere, emaitzek kutsaduraren legatu altuenetan inhibitutako subsidio efektu saturatua erakutsi zuten.

Azkenik, kutsadurak biofilmaren biomasaren hazkuntzan (EGL) izandako berehalako efektuek subsidio-estres motako erantzun-patroia iradoki ziguten (2d irudia): biomasaren balio maximoak kutsadura-maila baxu edo ertainetan izan ziren ($1,8 \mu\text{g cm}^{-2}$, %14) eta balio baxuenak

tratamendu kutsatuenean ($0,9 \text{ mg cm}^{-2}$), datuak Haldane eredura hobeto doitu zirelarik (3. taula, S5 Irudia). Hortaz, biomasaren hazkuntzak saturatutako subsidio efektua erakutsi zuen, kutsadura-maila altuenetan estresa jasatera iritsi zitekeena. Era berean, kutsadurak legatu-efektu nabarmenak utzi zituen biomasaren hazkuntzan, aurretiaz kutsadura-maila ertainen eraginaren pean egondako tratamenduek erakutsi baitzuen jarduera maxima (2,9 mg cm^{-2} , %58), eta tratamendu kutsatuenak, ordea, balio baxuenak (1,2 mg cm^{-2}). Kasu honetan datuak eredu koadratikora hobeto doitu ziren arren (3. taula, S5 Irudia), antzeko subsidio-estres motako erantzuna erakutsi zuten.



2. Irudia: Araztegiaren efluenteak biofilm-eraileetan neurututako prozesuetan izandako berehalako (esposizio-fasea, zutabe ilunak) eta legatu-efektuak (errekuperazio-fasea, zutabe zuriak). (a) Biofilmaren uretan disolbatutako fosforo errektiboaren (DFE) atxikimendu-gaitasuna, (b) fosforoaren atxikimendu-efizientzia (DFE atxikimendu gaitasuna biofilmaren biomasarengatik zuzenduta), (c) klorofila kontzentrazioa (Chl-a) eta (d) biofilmaren biomasaren hazkunza (EGPL). Erakutsitako balioak batez bestekoak \pm errore estandarrak dira.

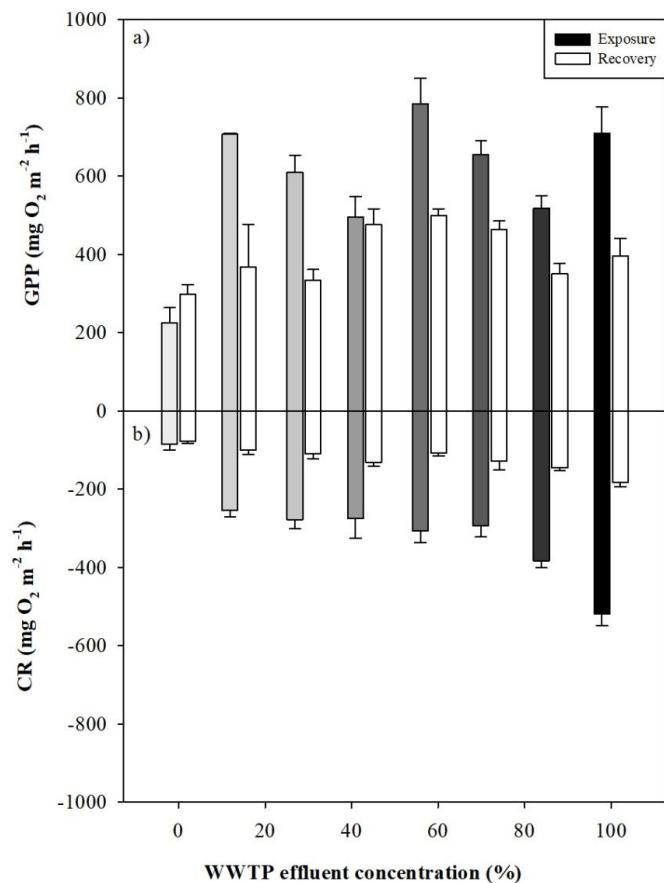
Bentoseko metabolismoa

Efluentearen berehalako efektuek bentoseko komunitatearen ekoizpen primario gordina (EPG) emendatu zuten, kontrol tratamenduan behatutako $225 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ balioak $785 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ -ra arte handitzu kutsadura-maila ertainetan (%58, 3. irudia), datuak eredu koadratikora hobeto doitu zirelarik (3. taula, S6 Irudia). Hala ere, tratamendu kutsatuenen balioak ez zirenez kontrol balioen azpitik murriztu, datuek saturatutako subsidio efektua iradoki ziguten, emendiorik nabarmenena kutsadura-maila ertainetan erakutsiz. Efluentearen legatu-efektuek antzeko eraginak izan zituzten (ekoizpen-tasarik baxuena: $298,2 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, %0; ekoizpen-tasarik altuena: $499,3 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$,

%58; 3. irudia). Era berean, datuak eredu koadratikora doitu ziren hobeto (3. taula, S6 Irudia) eta gainera, kutsaduren legatu-efektu altuenak zituzten tratamenduen balioak ez zirenez kontroletik behera murriztu, kutsadura-maila ertainetan nabarmendutako subsidio efektu bera eman zela iradoki zuten.

Efluentearen berehalako efektuek bentoseko komunitatearen arnasketa (KA) ere emendatu zuten, kontrol tratamenduan lortutako $-83,8 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ balioak $-518,4 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ -ra arte handitzu tratamendu kutsatuenean (3. irudia). Datuak logit eredura doitu ziren hobeto, saturaziorik gabeko subsidio-efektu hutsa iradokiz (3. taula, S7 Irudia). Halaber, kutsadurak legatu-efektu argiak utzi zituen, errekuperazio-fasearen amaieran tratamenduen erantzunek antzeko patroiak jarraitu baitzitzuten (oxigenoaren kontsumo-tasarik baxuena: $-76,8 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, %0; kontsumo-tasarik altuena: $-183,2 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, %100). Kasu honetan ere, datuak logit eredura doitu ziren hobeto (3. taula, S7 Irudia), antzeko subsidio efektua erakutsiz.

Oro har, tratamenduak nagusiki autotrofoak ziren, esposizio eta errekuperazio-faseentzako kalkulatutako batez besteko oxigenoaren ekoizpenaren eta kontsumoaren arteko ratioak (GPP:CR) 1 baino altuagoak baitziren, $2,17 \pm 0,21$ eta $3,52 \pm 0,30$ (batez besteko \pm errore estandarrak), hurrenez hurren, eta gainera kutsadura-maila eta legatu ertainetan erakutsi zituzten haien maximoak.

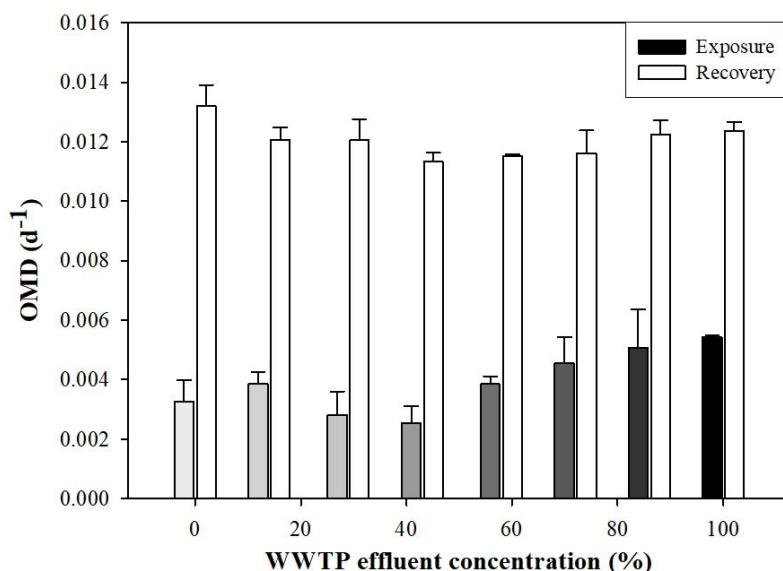


3. Irudia: Araztegiaren efluenteak bentoseko komunitatearen metabolismoa izandako berehalako (esposizio-fasea, zutabe ilunak) eta legatu-efektuak (errekuperazio-fasea, zutabe zuriak). Biofilm epilitiko eta episamikoaren (a)

ekoizpen primario gordina (EPG) eta (b) komunitateen arnasketa (KA). Erakutsitako balioak batez bestekoak \pm errore estandarrak dira.

Materia organikoaren deskonposizioa

Efluentearen berehalako efektuek materia organikoaren deskonposizioa (MOD) emendatu zuten, tratamendu kutsatuenean lortuz $0,005\text{ d}^{-1}$ -ko jarduera maximoa (4. irudia). Hala ere, kasu honetan baliorik baxuenak kutsadura-maila ertainetan lortu ziren ($0,003\text{ d}^{-1}$, %43). Datuak eredu linealera doitu ziren hobeto (3. taula, S8 Irudia), kutsadurak deskonposizioan saturaziorik gabeko subsidio-efektu hutsa eragin zuela adieraziz. Kutsaduraren legatu-efektuak, aitzitik, oso ahulak izan ziren, deskonposizio tasarik geldoenak ($0,011\text{ d}^{-1}$) kutsadura-legatu ertaineko tratamenduetan deskribatu baitziren (kutsaduraren %43ko legatuan), eta tasarik azkarrenak ($0,013\text{ d}^{-1}$) kontrol tratamenduan. Hortaz, datuak hobeto doitu ziren eredu zuzenera (3. taula, S8 Irudia), kutsadurak deskonposizioan ia ez zuela legaturik izan iradoki zezakeena.



4. Irudia: Araztegiaren efluenteak materia organikoaren deskonposizioan (MOD) izandako berehalako (esposizio-fasea, zutabe ilunak) eta legatu-efektuak (errekuperazio-fasea, zutabe zuriak). Erakutsitako balioak batez bestekoak \pm errore estandarrak dira.

3. Taula: Kutsaduraren berehalako (esposizio-fasearen amaieran neurta) eta legatu-efektuen (errekuperazio-fasearen amaieran neurta) eredu zuzenaren eta datuetara hobeto doitutakoaren emaitzak neurtutako aldagai guztientzako [Biofilmaren uretan disolbatutako fosforo errektiboa (DFE) atxikitzeo gaitasuna (U_{SRP}), fosforo atxikimenduaren efizienzia ($U_{SRP}/EGPL$), klorofila kontzentrazioa ($Chl-a$), biomasa totala (EGPL), ekoizpen primario gordina (EPG), komunitatearen arnasketa (KA) eta materia organikoaren deskonposizioa (MOD)]. Kasu bakoitzean, datuetara hobeto doitutako ereduen Akaike Informazio Irizpideen (AII) eta Erlatibizatutako Errore Estandarren (EEE) balioak erakusten dira (Doipen onena, AII onena, EEE onena). Hala ere, kasu guztietai erantzun simpleenaren, lehenetsitako eredu zuzenaren, emaitzak ere erakusten dira (AII zuzena, EEE zuzena). Hortaz, balio hauek baieztatzen dute datuetara hobeto doitutako ereduak zuzenaren emaitzak hobetu zituen edo ez. Azkenik, kutsaduraren efektuek eta legatu-efektuek adierazten dute ea araztegiaren efluentek neurututako aldagaien balioak kontrol tratamenduarekiko (erreka-ur garbia) emendatu (Subsidioa), murriztu (Estresa) edota efektu nahasiak eragin zituen (Subsidio-Estrea). Doitutako ereduen inguruko detaile gehiago artikulu honek eskuragarri duen Material Osagarriko 2-8 irudietan aurki daiteke (S2-S8 irudiak).

Berehalako efektuak							
Prosezua	U_{SRP}	$U_{SRP}/EGPL$	$Chl-a$	EGPL	EPG	KA	MOD
AII Zuzena	78,4	3,2	158,1	16,7	317,5	274,5	-248,2
EEE Zuzena	1,14	0,24	6,01	0,32	166,36	67,95	0,001
Doipen Onena	Logit	Logit	Haldane	Haldane	Koadratikoa	Logit	Zuzena
AII Onena	77,2	-3,3	145,3	11,5	315,1	259,8	-248,2
EEE Onena	1,09	0,20	4,51	0,28	155,35	49,11	0,001
Kutsaduraren efektuak	Estresa	Estresa	Subsidioa	Subsidio-Estresa	Subsidioa	Subsidioa	Subsidioa
Legatu-efektuak							
AII Zuzena	59,3	-13,3	202,6	64,3	291,4	221,4	-258,9
EEE Zuzena	0,77	0,17	15,18	0,85	96,48	22,47	0,001
Doipen Onena	Logit	Haldane	Koadratikoa	Koadratikoa	Koadratikoa	Logit	Zuzena
AII Onena	56,9	-22,8	192,3	62,5	286,6	214,5	-258,9
EEE Onena	0,72	0,14	12,02	0,81	85,73	19,12	0,001
Legatu-efektuak	Estresa	Subsidio-Estresa	Subsidioa	Subsidio-Estresa	Subsidioa	Subsidioa	Efektu-eza

Eztabaida

Ekosistemaren erantzuna araztegien efluenteen kontzentrazio-emendioarekiko

Gure esperimentuan erabilitako efluentearren kontzentrazioa ondo egokitzen zen ekosistema naturaletan aurki dezakegunera, non muturreko kasuetan hondakin-urek erreka edo ibai hartzaleen emariaren parterik handiena suposa dezaketen, erreka eta ibai horiek isurketen menpeko sistema bihurtuz (Rice eta Westerhoff, 2017). Erabili genuen gradienteak kontzentrazioen tarte zabala islatzen zuen arren, biofilmaren biomasak baino ez zuen esperotako subsidio-estres moduko erantzun-patroia jarraitu. Efluentek, aitzitik, neurtutako prozesu gehienak emendatu zituen, biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasuna izan ezik, zeina larriki murriztu zen kutsadura kontzentrazioa handitu heinean. Hala ere, aldagaien erantzun-patroiek eta jarduera maximoak izan zitzateneko kontzentrazioek, prozesu funtzionalek erantzun konplexu eta espezifikoak jarraitu zituztela adierazi zuten.

Ikerketa batzuek (adibidez, Clapcott *et al.*, 2011; Woodward *et al.*, 2012) erreka eta ibai-ekosistemetan konkor-formako erantzunak deskribatu dituzte estresore desberdinaren aurrean, mantenugai-sarreren aurrean esaterako. Erantzun-patroi horiek, orokorrean, beti egotzi izan dira Odumek eta lankideek (1979) proposatutako Subsidio-Estresaren eskemara. Hala ere, Odumek jarduera biologiko “*normaletik*” behera murrizten ziren balioak baino ez zituen estres bezala definitu, konkor-formako erantzun funtzional guztiak ez zutela subsidio-estres patroia islatzen adieraziz. Gure kasuan, neurtutako prozesu gehienek ez zuten subsidio-estres motako erantzun-patroirik jarraitu eta aitzitik, kutsadura kontzentrazioa handitu ahala emendatu ziren, baita %100eko kutsadura-mailan ere. Neurtu genituen prozesuen artean, gutxi batzuk baino ez ziren isurketengatik murriztu, hala nola, biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasuna eta biomasaren hazkuntza, nahiz eta estresatzen hasi zireneko atalaseak kontzentrazio desberdinatan bereganatu zituzten. Biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasuna kutsadura-maila baxuenetik murriztu zen bitartean, biomasaren hazkuntzak subsidio-estres moduko erantzun-patroia jarraitu zuen, subsidiotik estresera igaroz kutsadura-maila ertainenetan. Hortaz, emaitza hauek iradoki dezakete esperimentuan erabilitako araztegiaren efluentek toxikotasun baxua zuela mikrobiar komunitatearen bidez erregulatutako prozesuentzat. Ildo horretatik, Europar Batasunak finantzatutako ENERWATER ikerketa-proiektuaren arabera (ENERWATER Proiektu Europarra 2018), mundu osoko hondakin-uren araztegietatik (HUA) eratorritako efluentek mantenugai-kontzentrazioen tarte zabalak izan ditzakete ($0,1\text{-}95 \text{ mg N L}^{-1}$ eta $0,1\text{-}9 \text{ mg P L}^{-1}$ nitrogeno eta fosforo totalarentzat, hurrenez hurren) (ENERWATER Proiektuaren Benchmarking Datu-basea, 2018). Zehazki, gure esperimentuan erabilitako efluentea bi mantenugai horien beheko mugan aurkitzen zen, eta beraz mantenugai-kontzentrazio altuagoen aurrean estres motako erantzun funtzional gehiago antzeman zitezkeela iradoki zezakeen.

Neurtutako prozesu funtzional batzuen erantzunek (ekoizpen primario gordinaren erantzun koادرatikoa, arnasketaren logit erantzuna eta deskonposizioaren erantzun lineala, alegia) araztegiaren efluentek saturaziorik gabeko subsidioa eragin zuela adierazten zuten. Kasu horietan, kontzentrazio altueretan ere efluentea ez zen toxiko bihurtu eta gainera, esperimentuan erabilitako faktore abiotikoen

arteko bat ere ez zen mugatzaile bihurtu. Ziur asko, mantenugaien eskuragarritasun altuak (kontrol tratamenduan baino 400 aldiz altuagoa izatera ere heldu zena), argiarekiko muga-ezak edota uraren temperatura epelak komunitate mikrobiarraren bidez erregulatutako prozesuak emendatu zituzten, hondakin uren araztegien efluenteetatik behera dauden erreka-tramu irekietan ikusi izan den bezala (Stelzer *et al.*, 2003; Albek, 2003; Martí *et al.*, 2004). Emaitza horiek beste lan batzuekin bat egiten dute, non mantenugaien kontzentrazio altuak eta uraren tenperatura epelak, jatorri urbanoko efluenteek menperatzen dituzten erreketan ikusitako materia organikoaren deskonposizio tasa azkarren erantzule nagusiak bezala deskribatu baitiren (Spähnhoff *et al.*, 2007). Hala ere, guk espero genuen diluzio-gaitasun baxueneko tratamenduetan (hau da, efluentearen kontzentrazio altuenetan) deskribatutako kutsatzaileen kontzentrazio altuek, neurtutako prozesuak murriztu eta efektu toxikoak eragingo zituztela, baina ez zen horrela izan. Bentoseko komunitatearen metabolismoan deskribatu genituen emaitzek, adibidez, mantenugai kontzentrazio altuek ekosistemaren metabolismo orokorra emenda zezaketela bermatzen zuten (Gücker *et al.*, 2006; Izagirre *et al.*, 2008). Kutsadura-kontzentrazio ertainetan, ordea, ekoizpen primarioa saturatu zen bitartean, komunitatearen arnasketak nabarmen egin zuen gora. Araztegiaren efluentearen eraginaren pean 15 egun igaro ondoren, kutsadura-maila altuenetako tratamendu batzuk baldintza hipoxikoak erakusten hasi ziren gauetan zehar (DO kontzentrazioak 4 mg L^{-1} baino txikiagoak), eta 25 egun igaro ondoren, hain zuzen ere, baldintza anoxikoak (1 mg L^{-1}) bereganatu zituzten. Horrelako seinaleak edo efektuak, oro har, erreka eta ibai kutsuetan agertzen diren eutrofizazio baldintzen adibideak dira (Smith, 2003; Brack *et al.*, 2007).

Beste prozesu funtzionaletako batzuk doitu zireneko ereduak (Haldane klorofila eta biomasaren hazkuntzarako) iradokitzen zuten araztegiaren efluenteak saturatutako subsidio efektuak eragin zituela prozesu hauetan, kutsadura kontzentrazio maila altuenetan inhibitzen arte. Kutsadura kontzentrazio ertainek bi prozesuak saturatu zituzten eta kontzentrazio altuenek, ordea, inhibitzen, biofilmaren biomasaren kasuan toxiko bihurtzen arte. Aurretiaz egindako lanetako askok antzeko subsidio efektu saturatuak (Paul eta Meyer, 2001) eta mantenugai kontzentrazio altuek eragin ditzaketen efektu toxikoak (Ribot *et al.*, 2015) deskribatzen dituzte. Hala ere, gure esperimentuan interesgarria da saturazioa bereganatu zeneko kontzentrazioaren atalaseak edo maximoak arinago lortu zirela klorofila kontzentrazio eta biomasarentzat, komunitatearen ekoizpen primario gordinarentzat baino, zeinak komunitatearen egiturarekin erlazionatutako aldagaia funtzionamenduarekin erlazionatutakoak baino sentikorragoak zirela iradoki zezakeen. Hala ere, kontzentrazio altueneko inhibizioak klorofilan eta biomasan eragindako murrizketak ez ziren deskonposizioan edota arnasketan deskribatutako erantzunekin bat etorri, efektuak organismo-motaren araberakoak izan zitezkeela iradokiz. Zentzu horretan, autore askok deskribatu dute espezieen konposizioan aldaketak eman daitezkeela mantenugai kontzentrazio altuen ondorioz (Bernhardt eta Likens, 2004; Domingues *et al.*, 2011), zeinak agian gure erreka artifizialetako ekoizle primarioen eta heterotrofoen komunitateak eraldatu zituen, komunitate erresistenteagoen agerpena faboratuz.

Azkenik, doitutako logit ereduak erakutsi zuen araztegitik eratorritako efluenteak estres efektu hutxa eragin zuela biofilmaren fosforo atxikimendu-gaitasunean eta efizientzian, bi prozesuak nabarmenki murriztu baitziren kutsadura-maila baxuenetik. Uretan disolbatutako mantenugaien eska kizuna

biofilmaren eta ur-zutabearen arteko orekaren araberakoa da eta hortaz, bioilmaren barne-birziklapeneko prozesuek garrantzia hartzen dute kanpo-inguruneko mantenugaien horniketa baxuagoa denean (Mulholland, 1996; Hall *et al.*, 2002). Mantenugai kontzentrazio altuen aurrean, biofilmek eraginkortasuna galdu ohi dute ur-zutabetik mantenugaiak hartzeko (Proia *et al.*, 2017), muturreko kasuetara ere heldu arte, non, mantenugai-atxikimendurik ez den ematen biofilmaren saturazioa dela eta (Earl *et al.*, 2006). Ildo horretatik, gure esperimentuan tratamendu kutsatuena erakutsi zuen disolbatutako fosforo erreaktiboaren (DFE) kontzentrazioa entseguan erabilitako soluzio estandarrekoak baino altuagoak ziren, zeinak agian biofilmaren fosforoaren askapen prozesu abiotikoak bultza zituen. Hori dela eta, gure emaitzek iradokitzenten dute fosforo atxikimenduaren saturazio biotikoaren eta sorztio-desortzio mekanismoetan emandako aldaketen eragin bateratuak, fosforo atxikimenduan deskribatutako murriketa azal dezakeela.

Legatu-efektuak

Efluentearen kutsadurak legatu-efektu nabarmenak utzi zituen neurtutako prozesu funtzional gehienetan, nahiz eta errekuperazio-fasearen amaieran deskribatutako jarduera biologikoak esposizio-fasearen amaierakoak baino altuagoak izan. Legatu-efektuek, ordea, subsidio, estres edota subsidio-estres moduko erantzun-patroi konplexuak eragin zituzten.

Prozesu gehienek errekuperazio-fasean erakutsi zituzten erantzun-patroiak esposizio-fasekoen berdinak izan ziren, errekuperazio-fasearen hasieran Llémena Errekatik hartutako harrien bidez ubide artifizialen errekuperazioa sustatu genuen arren. Honek esperimentuan zehar erreka artifizialetan hazitako biofilm komunitateak inokulu berriarekiko nolabaiteko erresistentzia erakutsi zuela iradoki zezakeen. Esperimentuan zehar, erreka artifizialetan ezarri genuen uraren emaria nahiko geldoa zen, zeinak biofilmaren biomasa, lodiera eta konplexutasunaren emendioa bultza ditzake (Battin *et al.*, 2003). Biofilmaren egitura lodi eta garatuago hauek ur-zutabearen eta biofilmaren arteko elkartruke hidraulikoa murrizten dute, biofilmaren barne-birziklapen prozesuak bultzatzelarik (Earl *et al.*, 2006; Johnson *et al.*, 2015). Hortaz, biofilm garatuago horrek mantenugai kontzentrazio altuak gorde ditzake bere baitan, gure esperimentuan ikusi genuen bezala ur garbiaren fluxua berrezarri eta aste batzuk igaro ondoren. Ondorioz, biofilmak metatu ahal dituen mantenugai eta kutsatzaile horiek kutsaduren berehalako eta legatu-efektuetan antzeko subsidio, estres edota subsidio-estres moduko erantzun-patroiak deskribatzearen arrazoi nagusietako bat izan daiteke. Ideia hau Acuñak eta lankideek (*Prestaketa pean*) gure esperimentu berdinean burututako lan paralelo batean deskribatutako emaitzek indartzen dute, non, sedimentuak fosfato-iturri gisa funtzionatu baitzuen errekuperazio-fasean zehar, fosforo kontzentrazio handiak ingurunera askatzelarik.

Jatorri urbanoa duen kutsaduren eraginak ibai-ekosistemen funtzionamenduan aztertzen dituzten lan gehienak, kutsadura-iturri puntualen sarreretatik gora eta behera dauden tramuen arteko konparaketan oinarritzen dira (Sánchez-Pérez *et al.*, 2009). Nahiz eta landa-esperimentuek laborategikoek baino ikuspuntu errealagoa eskaini, laborategikoak aukera ona dira behaketa-bidezko landa-esperimentuen bidez erantzun ezin diren galderak aztertzeko, hondakin uren araztegietatik eratortzen diren isurketen diluziotasaren efektua, alegia.

Ondorioak

Hondakin uren araztegien efluenteeetatik eratorritako kutsadura urbanoak gure mesokosmo-mailako ekosistemen funtzionamendua eraldatu zuen, nahiz eta orokorrean prozesuek ez zuten esperotako subsidio-estres moduko erantzun-patroia jarraitu. Subsidio motako erantzunak, ordea, neurtutako aldagaien erantzun-patroi ohikoena izan ziren, nahiz eta prozesuek joera konplexu eta espezifikoak erakutsi zituzten. Kutsadurak legatu-efektu nabarmenak utzi zituen neurtutako prozesu funtzional gehienetan eta berehalako efektuen antzeko patroiaik jarraitu zituzten, nahiz eta erantzunak konplexuagoak bihurtu ziren, biofilmeari emandako barne-birziklapen prozesuen ondorioz. Oro har, esperimentuan erabilitako efluenteari efektu konplexuak eragin zituen mesokosmo-mailako ekosistemen funtzionamenduan eta hortaz, ekosistema naturaletako erreka edo ibaiek oraindik ere erantzun konplexuagoak erakustea espero genezake.

Esker onak

Esperimentu hau Europar Batasunaren 7. Azpiegituren Programak babestu zuen (GLOBAQUA; 603629-ENV-2013-6.2.1). Era berean, autoreok Eusko Jaurlaritzak (Ikerketa-talde bateratua: Ibai-ekologia 7-CA-18/10) eta Gobernu Katalanaren Ekonomia eta Ezagutza Sailak (Ikerketa-talde bateratua: ICRA-ENV 2017 SGR 1124) emandako euskarri ekonomikoa eskertzen dugu, baita Euskal Herriko Unibertsitateak, UPV/EHU, doktoratu aurreko tesiak egiteko emandako diru-laguntza (O. Pereda) ere. Azkenik, autoreok bereziki eskertuta gatzaizkie Maria Casellas, Carme Font, Carmen Gutiérrez, Ferran Romero eta Laia Sabater-Liesari laborategi-esperimentuak zehar eskainitako laguntzagatik.

Erreferentziak

- Acuña V., Wolf A., Uehlinger U. & Tockner K. (2008). Temperature dependence of stream benthic respiration in an Alpine river network under global warming. *Freshwater Biology*, 53: 2076-2088. doi: 10.1111/j.1365-2427.2008.02028.x
- Acuña V., Casellas M., Corcoll N., Timoner X. & Sabater S. (2015). Increasing extent of periods of no flow in intermittent waterways promotes heterotrophy. *Freshwater Biology*, 60 (9): 1810-1823. doi: 10.1111/fwb.12612
- Albek E. (2003). Estimation of point and diffuse contaminant loads to streams by non-parametric regressions analysis monitoring data. *Water, Air and Soil Pollution*, 147: 229-243. doi: 10.1023/A:1024592815576
- Alvarez D., Perkins S., Nilsen E. & Morace J. (2014). Spatial and temporal trends in occurrence of emerging and legacy contaminants in the Lower Columbia River 2008-2010. *Science of the Total Environment*, 484: 322-330. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.07.128
- Aristi I., von Schiller D., Arroita M., Barceló D., Ponsatí L., García-Galán M.J., Sabater S., Elosegi A. & Acuña V. (2015). Mixed effects of effluents from a wastewater treatment plant on river ecosystem metabolism: subsidy or stress? *Freshwater Biology*, 60: 1398-1410. doi: 10.1111/fwb.12576
- Aristi I., Casellas M., Elosegi A., Insa S., Petrovic M., Sabater S. & Acuña V. (2016). Nutrients versus emerging contaminants – Or a dynamic match between subsidy and stress effects on stream biofilms? *Environmental Pollution*, 212: 208-215. doi: 10.1016/j.envpol.2016.01.067
- Arroita M., Flores L., Larrañaga A., Martínez A., Martínez-Santos M., Pereda O., Ruiz-Somera E., Solagaistua L. & Elosegi A. (2016). Water abstraction impacts stream ecosystem functioning via wetted-channel contraction. *Freshwater Biology*, 62(2): 243-257. doi: 10.1111/fwb.12864
- Austin M.P. (2002). Spatial prediction of species distribution: an interface between ecological theory and statistical modeling. *Ecological Modelling*, 157: 101-118. doi: 10.1016/S0304-3800(02)00205-3
- Aymerich I., Acuña V., Ort C., Rodríguez-Roda I. & Corominas Ll. (2017). Fate of organic microcontaminants in wastewater treatment and river systems: An uncertainty assessment in view of sampling strategy, and compound consumption rate and degradability. *Water Research*, 125: 152-161. doi: 10.1016/j.watres.2017.08.011
- Battin T.J., Kaplan L.A., Newbold J.D. & Hansen C.M.E. (2003). Contributions of microbial biofilms to ecosystem processes in stream mesocosms. *Nature*, 426: 439-442. doi: 10.1038/nature02152
- Benton T.G., Solan M., Travis J.M.J. & Sait S.M. (2007). Microcosm experiments can inform global ecological problems. *Trends in Ecology & Evolution*, 22 (10): 516-521. doi : 10.1016/j.tree.2007.08.003

Bernhardt E.S. & Likens G.E. (2004). Controls on periphyton biomass in heterotrophic streams. *Freshwater Biology*, 49: 14-27. doi: 10.1046/j.1365-2426.2003.01161.x

Beyene A., Legesse W., Triest L. & Kloos H. (2009). Urban impact on ecological integrity of nearby rivers in developing countries: the Borkena River in highland Ethiopia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 153: 461-476. doi: 10.1007/s10661-008-0371-x

Birk S., Bonne W., Borja A., Brucet S., Courrat A., Poikane S., Solimini A., van de Bund W., Zampoukas N. & Hering D. (2012). Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecological Indicators*, 18: 31-41. doi: 10.1016/j.ecolind.2011.10.009

Bonnineau C., Guasch H., Proia L., Ricart M., Geiszinger A., Romaní A.M. & Sabater S. (2010). Fluvial biofilms: A pertinent tool to assess β-blockers toxicity. *Aquatic Toxicology*, 96 (3): 225-233. doi: 10.1016/j.aquatox.2009.10.024

Brack W., Klamer H.J.C., López de Alda M. & Barceló D. (2007). Effect-directed analysis of key toxicants in European river basins. A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 14: 30-38. doi: 10.1065/espr2006.08.329

Bundschuh M., Pierstorff R., Schreiber W.H. & Schulz R. (2011). Positive effects of wastewater ozonation displayed by *in situ* bioassays in the receiving stream. *Environmental Science and Technology*, 45(8): 3774-3780. doi: 10.1021/es104195h

Camargo J.A. & Alonso A. (2006). Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*, 32: 831-849. doi: 10.1016/j.envint.2006.05.002

Cardinale B.J., Bier R. & Kwan C. (2012). Effects of TiO₂ nanoparticles on the growth and metabolism of three species of freshwater algae. *Journal of Nanoparticle Research*, 14: 913. doi: 10.1007/s11051-012-0913-6

Carl G. & Kühn I. (2007). Analyzing spatial autocorrelation in species distributions using Gaussian and logit models. *Ecological Modelling*, 207: 159-170. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2007.04.024

Chambers J.M. (1992). Linear models. Chapter 4 of Statistical Models in S eds. Chambers J.M. & Hastie T.J., Wadsworth & Brooks/Cole. ISBN: 0534167659, 9780534167653.

Clapcott J., Young R., Goodwin E., Leathwick J. & Kelly D. (2011). Relationships between multiple land-use pressures and individual and combined indicators of stream ecological integrity. NZ Department of Conservation, DOC Research and Development Series 365. Wellington, New Zealand. ISBN: 978-0-478-14915-9.

Corcoll N., Casellas M., Huerta B., Guasch H., Acuña V., Rodríguez-Mozaz S., Serra-Compte A., Barceló D. & Sabater S. (2015). Effects of flow intermittency and pharmaceutical exposure on the structure and

metabolism of stream biofilms. *Science of the Total Environment*, 503-504: 159-170. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.06.093

Domingues R.B., Barbosa A.B., Sommer U. & Galvao H.M. (2011). Ammonium, nitrate and phytoplankton interactions in a freshwater tidal estuarine zone: potential effects of cultural eutrophication. *Aquatic Sciences*, 73: 331-343. doi: 10.1007/s00027-011-0180-0

Earl S.R., Valett H.M. & Webster J.R. (2006). Nitrogen saturation in stream ecosystems. *Ecology*, 87: 3140-3151. doi: 10.1890/0012-9658(2006)87[3140:NSISE]2.0.CO;2

ENERWATER European Project, 2018. ENERWATER Benchmarking Database. <http://www.enerwater.eu/energy-benchmarking-database/>. Accessed date: 6 August 2018.

Englert D., Zubrod J.P., Schulz R. & Bundschuh M. (2013). Effects of municipal wastewater on aquatic ecosystem structure and function in the receiving stream. *Science of the Total Environment*, 454-455: 401-410. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.03.025

Freixa A., Acuña V., Casellas M., Pecheva S. & Romaní A.M. (2017). Warmer night-time temperature promotes microbial heterotrophic activity and modifies stream sediment community. *Global Change Biology*, 23 (9): 3825-3837. doi: 10.1111/gcb.13664

Gücker B., Brauns M. & Pusch M.T. (2006). Effects of wastewater treatment plant discharge on ecosystem structure and function of lowland streams. *Journal of North American Benthological Society*, 25 (2): 313-329. doi: 10.1899/0887-3593(2006)25[313:eowtpd]2.0.co;2

Haggard B.E., Storm D.E. & Stanley E.H. (2001). Effect of a point source input on stream nutrient retention. *Journal of the American Water Resources Association*, 37 (5): 1291-1299. doi: 10.1111/j.1752-1688.2001.tb03639.x

Haggard B.E., Stanley E.H. & Storm D.E. (2005). Nutrient retention in a point-source-enriched stream. *Journal of the North American Benthological Society*, 24 (1): 29-47. doi: 10.1899/0887-3593(2005)024<0029:NRIAPS>2.0.CO;2

Haldane J.B.S. (1930). Enzymes. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 49(44): 919-920. M.A. Monographs on Biochemistry. Edited by Plimmer R.H.A., D.Sc. & Hopkins Sir F.G., M.A., M.B., D.Sc., F.R.S. Longmans, Green & Co., London, U.K. doi: 10.1002/jctb.5000494433

Hall R.O., Bernhardt E.S. & Likens G.E. (2002). Relating nutrient uptake with transient storage in forested mountain streams. *Limnology and Oceanography*, 47 (1): 255-265. doi: 10.4319/lo.2002.47.1.0255

Hanley N., Wright R.E. & Adamowicz V. (1998). Using Choice Experiments to Value the Environment. *Environmental and Resource Economics*, 11(3-4): 413-428. doi: 10.1023/A:1008287310583

Hisdal H., Stahl K., Tallaksen L.M. & Demuth S. (2001). Have streamflow droughts in Europe become more severe or frequent? *International Journal of Climatology*, 21: 317-333. doi: 10.1002/joc.619

Holeton C., Chambers P.A. & Grace L. (2011). Wastewater release and its impacts on Canadian waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 68(10): 1836-1859. doi: 10.1139/f2011-096

Hoppe P.D., Rosi-Marshall E.J. & Bechtold H.A. (2012). The antihistamine cimetidine alters invertebrate growth and population dynamics in artificial streams. *Freshwater Science*, 31 (2): 379-388. doi: 10.1899/11-089

Izagirre O., Agirre U., Bermejo M., Pozo J. & Elosegi A. (2008). Environmental controls of whole-stream metabolism identified from continuous monitoring of Basque streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 27 (2): 252-268. doi: 10.1899/07-022.1

Jeffrey S. & Humphrey G. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher-plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 167: 191-194. doi: 10.1016/S0015-3796(17)30778-3

Johnson Z.C., Warwick J.J. & Schumer R. (2015). Nitrogen retention in the main channel and two transient storage zones during nutrient addition experiments. *Limnology and Oceanography*, 60: 57-77. doi: 10.1002/limo.10006

Jones B. & O'Neill B.C. (2016). Spatially explicit global population scenarios consistent with the Shared Socioeconomic Pathways. *Environmental Research Letters*, 11: 084003. doi: 10.1088/1748-9326/11/8/084003

Lee S.S., Paspalof A.M., Snow D.D., Richmond E.K., Rosi-Marshall E.J. & Kelly J.J. (2016). Occurrence and Potential Biological Effects of Amphetamine on Stream Communities. *Environmental Science and Technology*, 50 (17): 9727-9735. doi: 10.1021/acs.est.6b03717

Marquet P.A., Quiñones R.A., Abades S., Labra F., Tognelli M., Arim M. & Rivadeneira M. (2005). Review: Scaling and power-laws in ecological systems. *The Journal of Experimental Biology*, 208: 1749-1769. doi: 10.1242/jeb.01588

Martí E., Aumatell J., Godé L., Poch M. & Sabater F. (2004). Nutrient retention efficiency in streams receiving inputs from wastewater treatment plants. *Journal of Environmental Quality*, 33: 285-293. doi: 10.2134/jeq2004.0285

Martí E., Riera J.L. & Sabater F. (2009). Effects of wastewater treatment plants on stream nutrient dynamics under water scarcity conditions. In: Sabater S., Barceló D. (eds). Water scarcity in the Mediterranean. *The Handbook of Environmental Chemistry*, 8: 173-195. Springer, Berlin, Heidelberg. ISBN: 978-3-642-03971-3. doi: 10.1007/698_2009_33

McFadden D. (1974). Conditional Logit Analysis of Qualitative Choice Behavior, in P. Zarembka, ed. *Frontiers in Econometrics*. New York: Academic Press.

Merseburger G.C., Martí E. & Sabater F. (2005). Net changes in nutrient concentrations below a point source input in two streams draining catchments with contrasting land uses. *Science of the Total Environment*, 347: 217-229. doi: 10.1016/j.scitotenv.2004.12.022

Merseburger G.C., Martí E., Sabater F. & Ortiz J.D. (2011). Point-source effects on N and P uptake in a forested and an agricultural Mediterranean streams. *Science of the Total Environment*, 409: 957-967. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.11.014

Millennium Ecosystem Assessment (2005). Ecosystems and human well-being: biodiversity synthesis. World Resources Institute.

Mogens H., Gujer W., Mino T. & van Loosdrecht M. (2000). Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3. IAWPRC scientific and technical reports, 9. IWA Publishing, London, U.K. ISBN: 9781780402369

Monod J. (1949). The growth of bacterial cultures. *Annual Review of Microbiology*, 3: 371-394. doi:10.1146/annurev.mi.03.100149.002103

Mulholland P.J. (1996). Role in nutrient cycling in streams. In: *Algal Ecology* (Eds R.J. Stevenson, M.L. Bothwell & R.L. Lowe), pp. 609-639. Academic Press, California. ISBN: 9780080526942

Murphy J. & Riley J.P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27: 31-36. doi: 10.1016/S0003-2670(00)88444-5

Navarro E., Guasch H., Muñoz I., Real M. & Sabater S. (2000). Aplicación de un sistema de canales artificiales en el estudio ecotoxicológico de comunidades microbentónicas. *Limnetica*, 18: 1-14.

Odum E.P., Finn J.T. & Franz E.H. (1979). Perturbation theory and the subsidy-stress gradient. *Bioscience*, 29: 349-352. doi: 10.2307/1307690

Otto S.P. & Day T. (2007). A Biologist's Guide to Mathematical Modeling in Ecology and Evolution. Princeton University Press, 744 pp. ISBN: 9780691123448

Pascoal C., Pinho M., Cássio F. & Gomes P. (2003). Assessing structural and functional ecosystem condition using leaf breakdown: studies on a polluted river. *Freshwater Biology*, 48: 2033-2044. doi: 10.1046/j.1365-2427.2003.01130.x

Paul M.J. & Meyer J.L. (2001). Streams in the urban landscape. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*, 32: 333-365. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114040

Peters R.H. (1983). The Ecological Implications of Body Size. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press.
ISBN: 9780511608551. doi: 10.1017/CBO9780511608551

Peters K., Bundschuh M. & Schäfer R.B. (2013). Review on the effects of toxicants on freshwater ecosystem functions. *Environmental Pollution*, 180: 324-329. doi: 10.1016/j.envpol.2013.05.025

Petersen R.C. & Cummins K.W. (1974). Leaf processing in a woodland stream. *Freshwater Biology*, 4: 345-368.
doi: 10.1111/j.1365-2427.1974.tb00103.x

Pinheiro J., Bates D., DebRoy S., Sarkar D. & R Core Team (2018). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1.-131. <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.

Proia L., Romaní A. & Sabater S. (2017). Biofilm phosphorus uptake capacity as a tool for the assessment of pollutant effects in river ecosystems. *Ecotoxicology*, 26 (2): 271-282. doi: 10.1007/s10646-017-1761-z

R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL. <https://www.R-project.org>.

Ribot M., Martí E., von Schiller D., Sabater F., Daims H. & Battin T.J. (2012). Nitrogen processing and the role of epilithic biofilms downstream of a wastewater treatment plant. *Freshwater Science*, 31: 1057-1069. doi: 10.1899/11-161.1

Ribot M., von Schiller D., Sabater F. & Martí E. (2015). Biofilm growth and nitrogen uptake responses to increases in nitrate and ammonium availability. *Aquatic Sciences*, 77(4): 695-707. doi: 10.1007/s00027-015-0412-9

Rice J. & Westerhoff P. (2017). High levels of endocrine pollutants in US streams during low flow due to insufficient wastewater dilution. *Nature Geoscience*, 10:587-591. doi: 10.1038/ngeo2984

Ricklefs R.E. (1967). A Graphical Method of Fitting Equations to Growth Curves. *Ecology*, 48(6): 978-983. doi: 10.2307/1934545

Rodríguez-Mozaz S. & Weinberg H.S. (2010). Meeting Report: Pharmaceuticals in Water – an interdisciplinary approach to a public health challenge. *Environmental Health Perspectives*, 118: 1016-1020. doi: 10.1289/ehp.0901532

Rosi-Marshall E.J., Snow D., Bartelt-Hunt S.L., Paspalof A. & Tank J.L. (2015). A review of ecological effects and environmental fate of illicit drugs in aquatic ecosystems. *Journal of Hazardous Materials*, 282: 18-25.
doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.06.062

Sánchez-Pérez J.M., Gerino M., Sauvage S., Dumas P., Maneux É., Julien F., Winterton P. & Vervier P. (2009). Effects of wastewater treatment plant pollution on in-stream ecosystems functions in an agricultural watershed. *Annales de Limnologie – International Journal of Limnology*, 45: 79-92. doi: 10.1051/limn/2009011

Santos L.H.M.L.M., Gros M., Rodriguez-Mozaz S., Delerue-Matos C., Pena A., Barceló D. & Montenegro M.C.B.S.M. (2013). Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Science of the Total Environment*, 461-462: 302-316. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.04.077

Segner H., Schmitt-Jansen M. & Sabater S. (2014). Assessing the impact of multiple stressors on aquatic biota: the receptor's side matters. *Environmental Science and Technology*, 48: 7690-7696. doi: 10.1021/es405082t

Serra A., Guasch H., Admiraal W., Van der Geest H.G. & Van Beusekom S.A.M. (2010). Influence of phosphorus on copper sensitivity of fluvial periphyton: the role of chemical, physiological and community-related factors. *Ecotoxicology*, 19 (4): 770-780. doi: 10.1007/s10646-009-0454-7

Serrano A. (2007). Plan Nacional de Calidad de las Aguas 2007-2015. *Ambienta*, 69: 6-13.

Sharpley A., Jarvie H. P., Buda A., May L., Spears B. & Kleinman P. (2013). Phosphorus Legacy: Overcoming the Effects of Past Management Practices to Mitigate Future Water Quality Impairment. *Journal of Environmental Quality*, 42(5): 1308-1326. doi: 10.2134/jeq2013.03.0098

Smith V.H. (2003). Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems a global problem. *Environmental Science and Pollution Research*, 10: 126-139. doi: 10.1065/espr2002.12.142

Spähnhoff B., Bischof R., Böhme A., Lorenz S., Neumeister K., Nöthlich A. & Küsel K. (2007). Assessing the impact of effluents from a Modern waste water treatment plan on breakdown of coarse particulate organic matter and benthic macroinvertebrates in a lowland river. *Water, Air & Soil Pollution*, 180: 119-129. doi: 10.1007/s11270-006-9255-2

Steinman A.D., Lamberti G.A. & Leavitt P.R. (2006). Biomass and pigments of benthic algae. In: *Methods in Stream Ecology* (Eds. F.R. Hauer & G.A. Lamberti), Chapter 17, pp. 357-379. Academic Press, San Diego. ISBN: 978-0-12-416558-8. doi: 10.1016/B978-012332908-0.50024-3

Stelzer R.S., Heffernan J. & Likens G.E. (2003). The influence of dissolved nutrients and particulate organic matter quality on microbial respiration and biomass in a forest stream. *Freshwater Biology*, 48: 1925-1937. doi: 10.1046/j.1365-2427.2003.01141.x

Tchobanoglou G. & Burton F.L. (1991). Wastewater engineering: treatments, disposal and reuse. Series in water resources and environmental engineering. New York: McGraw-Hill, 1334 pp. 3rd edition. ISBN: 978-0070416901

Tilman D., Isbell F. & Cowles J.M. (2014). Biodiversity and ecosystem functioning. *The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 45: 471-493. doi: 10.1146/annurev-ecolsys-120213-091917

von Schiller D., Acuña V., Aristi I., Arroita M., Basaguren A., Bellin A., Boyero L., Butturini A., Ginebreda A., Kalogianni E., Larrañaga A., Majone B., Martínez A., Monroy S., Muñoz I., Paunović M., Pereda O., Petrovic M., Pozo J., Rodríguez-Mozaz S., Rivas D., Sabater S., Sabater F., Skoulidakis N., Solagaistua L.,

Vardakas L. & Elosegi A. (2017). River ecosystem processes: A synthesis of approaches, criteria of use and sensitivity to environmental stressors. *Science of the Total Environment*, 596-597: 465-480. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.04.081

Vandermeer J. (2010). How Populations Grow: The Exponential and Logistic Equations. *Nature Education Knowledge*, 3(10): 15.

Vörösmarty C.J., McIntyre P.B., Gessner M.O., Dudgeon D., Prusevich A., Green P., Glidden S., Bun S.E., Sullivan C.A., Reidy Liermann C. & Davies P.M. (2010). Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature*, 467: 555-561. doi: 10.1038/nature09440

Wagenhoff A., Townsend C.R., Phillips N. & Matthaei C.D. (2011). Subsidy-Stress and multiple-stressor effects along gradients of deposited fine sediment and dissolved nutrients in a regional set of streams and rivers. *Freshwater Biology*, 56: 1916-1936. doi: 10.1111/j.1365-2427.2011.02619.x

Wagenhoff A., Townsend C.R. & Matthaei C.D. (2012). Macroinvertebrate responses along broad stressor gradients of deposited fine sediment and dissolved nutrients: a stream mesocosm experiment. *Journal of Applied Ecology*, 49: 892-902. doi: 10.1111/j.1365-2664.2012.02162.x

Wagenhoff A., Lange K., Townsend C.R. & Matthaei C.D. (2013). Patterns of benthic algae and cyanobacteria along twin-stressor gradients of nutrient and fine sediment: a stream mesocosm experiment. *Freshwater Biology*, 58: 1849-1863. doi: 10.1111/fwb.12174

Weir I.S. & Pettit A.N. (2000). Binary probability maps using a hidden conditional autoregressive Gaussian process with an application to Finnish common toad data. *Journal of Applied Statistics*, 49: 473-484. doi: 10.1111/1467-9876.00206

Woodward G., Gessner M.O., Giller P.S., Gulis V., Hladyz S., Lecerf A., Malmqvist B., Mckie B.G., Tiegs S.D., Cariss H., Dobson M., Elosegi A., Ferreira V., Graça M.A., Fleituch T., Lacoursière J.O., Nistorescu M., Pozo J., Risnoveanu G., Schindler M., Vadineanu A., Vought L.B. & Chauvet E. (2012). Continental-scale effects of nutrient pollution on stream ecosystem functioning. *Science*, 336 (6087): 1438-1440. doi: 10.1126/science.1219534

5. KAPITULUA

Eztabaida Orokorra

1. Erreken eta isurketen ezaugarriak: oreka erabakigarria efektuak zehazten

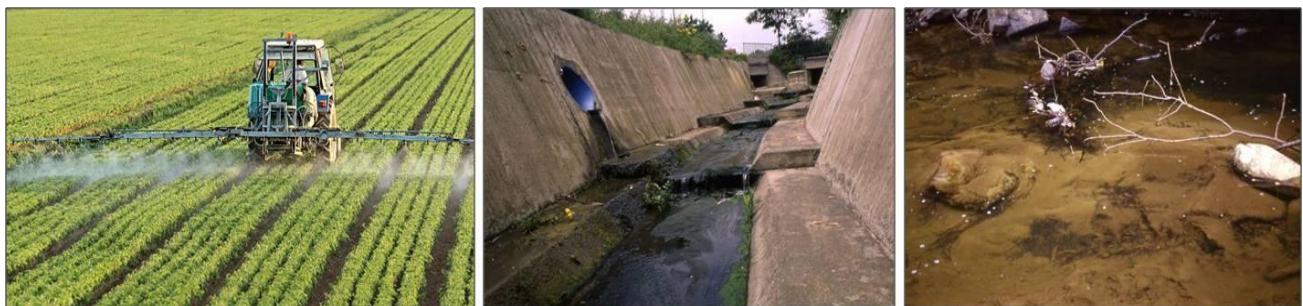
Tesi honek jatorri urbanoko isurketak jasotzen dituzten erreka oso desberdinak aztertu ditu, eremu geografiko nahiko zabalean, eta ekosistema-mailako zenbait prozesu funtzional deskribatu ditu, erantzun funtzionalak deskribatzeko. Hala ere, espero ez genuen bezala, neurtutako prozesu funtzionalek erantzun-patroi desberdinak jarraitu zitzuten. Jatorri urbanoko isurketek neurtutako prozesu gehienak emendatu zitzuten, eta nabarmen murriztu zuten prozesu bakarra biofilmaren uretan disolbatutako fosforo errektiboa (DFE) atxikitzeko gaitasuna izan zen (2., 3. eta 4. kapituluak). Horrez gain, biofilmaren biomasa izan zen espero genuen subsidio-estres motako erantzun-patroia erakutsi zuen prozesu bakarra, laborategi-esperimentuan aztertutako kutsadura gradientearen aurrean (4. kapitulua). Hortaz, emaitza hauek iradoki dezakete beste faktore batzuek ere gure emaitzetan eragina izan zezaketela eta ondorioz, kontutan hartu beharko liratekeela kutsadura urbanoak globalki duen garrantzia aztertzerako orduan.

1.1. Zelan modula ditzakete estresore anitzek kutsadura urbanoaren efektuak?

Ur gezetako ekosistemak, orokorrean, aldi berean eragiten duten estresore anitzen presioaren eraginpean daude (Sabater *et al.*, 2018b). Hori dela eta, azken hamarkadetan izugarri emendatu dira estresore anitzek komunitate biologikoetan (Sabater *et al.*, 2016) edota ekosistemen funtzionamenduan (Johnston *et al.*, 2015) eragin ditzaketen efektu ekologikoen inguruko kezkak. Estresoreen arteko elkarrekintzak, ordea, ez ohi dira beti zuzenak eta askotan espero ez diren emaitzak ematen dituzte, estresoreen arteko zeharkako erlazioen ondorioz (Romero *et al.*, 2018), erantzun biologikoen aldakortasunaren ondorioz (Berthelsen *et al.*, 2018), edota ekosistema bakoitzak eduki dezakeen erresistentzia-gaitasun desberdinaren ondorioz (Jackson *et al.*, 2016). Ildo horretatik, kutsadura urbanoaren eta aldaketa hidrologikoen arteko elkarrekintza aztertu zuen gure behaketa-bidezko landa-esperimentuak (2. kapitulua) erakutsi zigun, isurketa urbanoek neurtutako prozesu gehienak emendatu zitzuten arren, erantzun funtzionalak konplexuak eta espezifikoak zirela. Konplexutasun hori, aitzitik, estresore kopurua minimora murriztean ere mantendu zen (3. eta 4. kapituluak), kutsatzaileen arteko orekak ekosistema-mailako prozesuak modu desberdinean alda ditzaketela azpimarratuz. Azken bi azterketa horietan, isurketa urbanoek komunitate mikrobiarraren bidez erregulatutako prozesu funtzionalak murriztu zitzuten, nahiz eta erantzun horiek ez ziren beti ekosistema-mailako prozesuetan islatu.

Estresore askok kutsadura urbanoaren eragina areagotu dezakete ibai-ekosistemen funtzionamenduan. Esaterako, nekazaritza-jardueretatik eratorritako sarrera lausoek mantenugaien eta pestiziden kontzentrazio basalak emendatzen dituzte, horren ondorioz toxikotasun-maila nabarmenki emendatuz. Era berean, kutsatzaile horien kontzentrazioek altuek erreken atxikimendu biotikoa satura dezakete, errekek mantenugaiak sistematik kanporatzeko duten gaitasuna murriztuz (Merseburger *et al.*, 2011) eta hortaz, uretan behera garraiatzen den mantenugaien kopurua emendatuz (Earl *et al.*, 2006). Bestalde, ur gezetako ekosistema gehienek giza jardueren ondoriozko ur-baliabideen gehiegizko ustiapena jasaten dute, presa txiki edo handiagoen, kanalizazioen, lurpeko uren ustiapenen edota uraren abstrakzioaren ondorioz, alegia (Elosegi eta Sabater, 2013; Sabater *et al.*, 2018a). Inpaktu horiek erreken

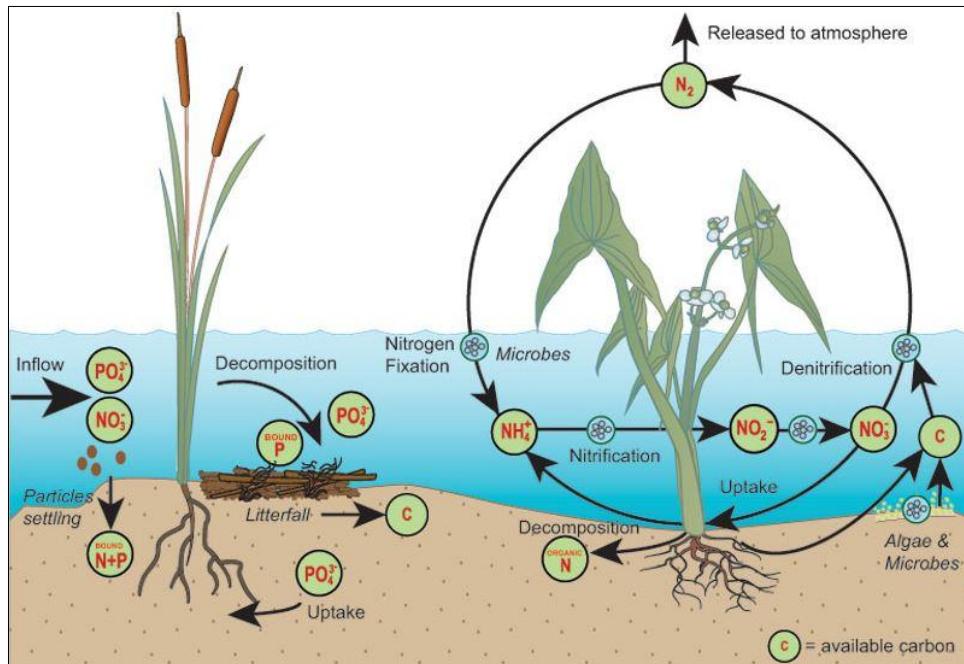
zein ibaien emaria murrizten dute, sedimentuen garraioa eta ibilguaren morfologia eraldatu, uraren temperatura emendatzen dute eta uraren ezaugarri kimikoak kaltetu (Arroita *et al.*, 2016), aldaketa guztiok, aldi berean, kutsadura kimikoarekin elkarrekintza dezaketelarik. Behaketa-bidezko landa-esperimentuan (2. kapitulua), agorraldiak isurketa urbanoak jasotzen zituzten sistema hartzaleen diluzio-gaitasuna murriztu zuten, uretako kutsatzaileen kontzentrazioa nabarmenki emendatuz (Rice eta Westerhoff, 2017) eta ondorioz, ekosistema-mailako prozesu gakoak kaltetuz, besteak beste, biofilmaren gaitasuna mantenugaiak atxikitzeo. Era berean, hala ere, emari baxuek egonkortasun hidrologikoa eta atxikimendu hidraulikoa emenda ditzakete, zeinak kutsatzaileen transformazioa, degradazioa edota asimilazioa emenda baititzakeen (Arenas-Sánchez *et al.*, 2016). Adibidez, autore batzuek komunitate biologiko desberdinaren hazkuntza deskribatu izan dute egonkortasun hidrologiko handiko sasoietan (Aristi *et al.*, 2014), ondorioz ekosistema-mailako prozesuak emenda ditzakeena, hala nola, mantenugaien atxikimendua edota metabolismoa (Sabater *et al.*, 2018a). Azkenik, nekazaritza, basogintza intentsiboa edota mineralen erauzketaren moduko giza jarduerek lurzoruaren edo sedimentuen higadura eragin dezakete, eta hortaz, sedimentu finen proportzioa handitu erreka eta ibaietan (Wood eta Armitage, 1997). Sedimentu finek isurketa urbanoekin elkarrekintza dezakete, zeintzuk sedimentu finen iturri garrantzitsu gisa ere deskribatuak izan baitiren (Miserendino *et al.*, 2008). Elkarrekintza horren ondorioz, biofilm (Wagenhoff *et al.*, 2013) eta ornogabe (Piggot *et al.*, 2015) komunitateen egitura eralda daiteke eta azkenik, ekosistema-mailako prozesu gakoak ere (Niyogi *et al.*, 2003; Young *et al.*, 2008). Zentzu horretan, gure landa-esperimentu biek erakutsi zuten jatorri urbanoko isurketek biofilmak mantenugaiak atxikitzeo zuen gaitasuna murriztu zezaketela, baina erantzun hori ez zela beti ekosistema-mailako prozesuetan islatzen. Hori dela eta, horrek iradoki dezake ekosistemako beste konpartimentu batzuek, agian, funtzio garrantzitsua izan zutela biofilm-mailan deskribatutako erantzun negatibo horiek konpentsatzu.



1. irudia. Kutsadura urbanoarekin elkarrekintza dezaketen estresoreetako batzuk: pestizidak, ibilguaren kanalizazioa eta sedimentu finen ugaritzea. Argazkiak Arturo Elosegi.

Erreka eta ibaietan konpartimentuetako asko izan ahal dira biogeokimikoki aktiboak eta hortaz, funtzio garrantzitsua bete ekosistema-mailako prozesuak erregulatzen, mantenugaien atxikimendua edota metabolismoa, alegia (2. irudia). Gure manipulazio-bidezko landa-esperimentuan (3. kapitulua), HUAren isurketaren kontribuzioa erreka hartzalean oso txikia izan zen eta gainera, erreka ez zegoen bestelako giza jardueren eraginaren pean. Ibilguaren ohea arroka amaz zegoen osatuta, hain handi batean, non hiporreosak ez baitzuen, noski, garrantzia handirik hartuko. Ibilguaren ertzetan hazten ziren zuhaitzek, ordea, sustrai

luze eta trinkoak zituzten, uretarra ere iristen zirenak. Hori dela eta, baliteke manipulazio-bidezko landa-esperimentu honetan sustraiok funtzio garrantzitsua betetzea tramu-mailako mantenugaien atxikimenduan. Behaketa-bidezko landa-esperimentuan, aitzitik, lezkak eta antzeko makrofitoen komunitateek funtzio garrantzitsua izango zuten ziur asko erreketako batzuen ekosistemaren funtzionamenduan. Gainera, esperimentu berean sedimentu finen geruza lodiak zeuden aztertutako tramu batzuetan, ziurrenik jatorri urbanoko isurketek (Miserendino *et al.*, 2008) zein nekazaritza-jarduerak (Wood eta Armitage, 1997) sortuak. Sedimentu finok ibilgu-oheko partikulen arteko tarteak buxa ditzakete eta ondorioz, ekosistemaren konpartimentuen arteko konexioa murriztu, hiporreosarena batez ere (Descloux *et al.*, 2013). Horregatik, behaketa-bidezko landa-esperimentuan aztertutako erreketan, ekosistemaren beste konpartimentu batzuek, sedimentu finek (Withers eta Jarvie, 2008) edota makrofito komunitateek (Riis *et al.*, 2012) alegia, funtzio garrantzitsua izan zezaketen biofilm- eta ekosistema-mailen artean ikusitako desberdintasunak azaltzerako orduan. Hala ere, tesian zehar ekosistemaren erantzun funtzionala bi maila desberdinatan baino ez nuenez neurtu, prozesu gakoetan funtzio garrantzitsua izan dezaketen gainerako konpartimentuak alde batera utziz, honi buruz espekulatu baino ezin dut egin. Hortaz, uste dut oso interesgarria izango litzatekeela ekosistemaren beste konpartimentuetako batzuek eduki dezaketen funtzioa aztertzea bai manipulazio-bidezko esperimentuan aztertutako Apraitz Errekan, baita behaketa-bidezko landa-esperimentuan aztertutako Ebro Ibaiaren ibaiadarretan. Izan ere, horrek konpartimentu desberdinek ekosistema-mailako prozesuan izan dezaketen kontribuzioa zehazten eta kuantifikatzen baimenduko liguke eta ondorioz, etorkizunerako iragartzen diren estresore anitzen egoeren aurrean, definitzen zeintzuk izango liratekeen funtzio garrantzitsuena izango luketen ekosistemaren konpartimentuak (Hoellein *et al.*, 2009; Acuña *et al.*, 2011).



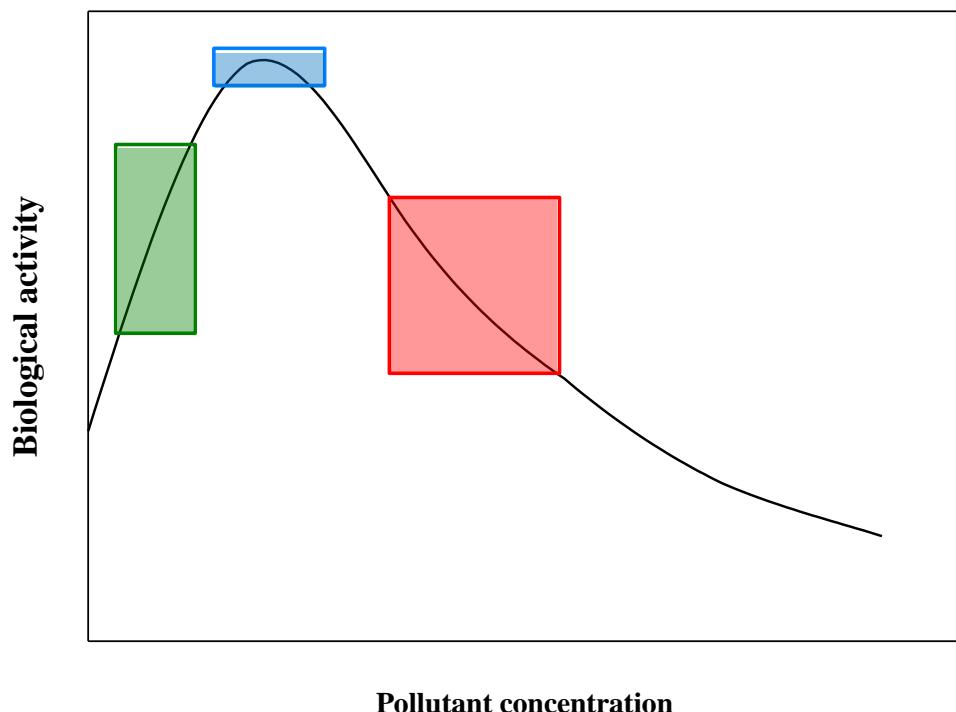
2. irudia. Tramu-mailako mantenugaien atxikimenduan eta metabolismoan funtzio garrantzitsua izan dezaketen ekosistemaren konpartimentu desberdinak. Domeinu publikoko irudia.

1.2. Zelan modula dezake isurketaren izaerak ekosistema-mailako erantzuna?

Azken urteotan, aurrerapen teknologiko eta optimizazio mekanismo ugari garatu izan dira HUAen tratamendu prozesuak hobetzeko. Horren ondorioz, araztegien implementazioaren gastu ekonomikoei aurre egiteko gaitasuna izan duten herrialdeek nabarmenki hobetu dituzte haien giza osasuna eta uraren segurtasuna (Vörösmarty *et al.*, 2010). Egoera honek, aitzitik, larriki egiten du txarrera herrialde azpigaratuetan, non, oraindik ere, hondakin uren gehiena inolako tratamendurik gabe askatzen baiten ingurunera (WHO eta UNICEF, 2017). Nahiz eta HUAek ezin dituzten kutsatzaileak erabat desagerrarazi, eskaintzen dituzten tratamendu prozesuak beharrezkoak dira kutsatzaileen kopurua eta patogenoak maila onargarrietara arte murrizteko, efluenteak ur-inguruneetara askatu baino lehen (Alfonsín *et al.*, 2014; Aymerich *et al.*, 2016). Ildo horretatik, autore batzuek inolako tratamendurik jasaten ez duten eta araztegietan tratatzen diren isurketak konparatu izan dituzte, eta ikusi dute araztegiak esangarriki murritzut ditzaketela kutsatzaile desberdin askoren kontzentrazioa, hala nola, produktu farmazeutikoena (Mandaric *et al.*, 2018), garbiketa eta zaintza-produktuena (Kasprzyk-Horden *et al.*, 2009), metal astunena (Cantinho *et al.*, 2016) edota patogeno desberdinena (Vaz-Moreira *et al.*, 2014; Subirats *et al.*, 2017). Kutsadura kimikoak aldi berean eragiten duten substantzien nahasketa konplexuak eta aldakorrak erakusten dituenez, autore askok estresore anitz gisa deskribatzen dute bere horretan (Jackson *et al.*, 2016). Hala ere, beste autore askok azpimarratzen dute oso garrantzitsua dela nahasketa konplexu horien konposizioa (Altenburger *et al.*, 2015) eta konposatu bakoitzen akzio-mekanismo zehatzak deskribatzea (Cleuvers, 2003) kutsatzaileen arteko oreka alda dezakeelako eta hortaz, modu desberdinean eragin erreken funtzionamenduan. Era berean, hondakin uren efluenteen konposizio kimikoa erreka eta ibaien inguruan gailentzen den giza jarduera motaren araberakoa ere bada (Posthuma *et al.*, 2008). Horrela, nekazaritzajarduerek mantenugaien eta pestiziden kontzentrazioak emenda ditzakete (Kuster *et al.*, 2008), industria-jarduerek, ordea, metal astunak (Holeton *et al.*, 2011), eta herri- edota hiri-guneek bestelako mikro-kutsatzaileen kontzentrazioa, adibidez farmazeutikoena, garbiketa eta zaintza-produktuena edota debekatutako drogena (Kuzmanovic *et al.*, 2015; Rosi-Marshall *et al.*, 2015; de Solla *et al.*, 2016). Azkenik, isurketa urbanoen eragina ekosistema hartzalean izango duten amaierako kontzentrazioaren araberakoa izango da, zeina aldi berean erreka edo ibai hartzaleen diluzio-gaitasunaren, hondakin urak tratatzeko araztegiaren efizientziaren edota askatutako efluentearen bolumenaren araberakoa izango baiten. Horrez gain, efluenteen askapenaren aldakortasun temporalak ere eragin garrantzitsuak izan ditzake. Esaterako, Nyman eta lankideek (2013) laborategi-esperimentu batean erakutsi baitzuten, intsektizida batekiko esposizio iraunkorrik *Gammarus pulex* anfipodoaren jarduera eta fisiologia murritzut zitzakeela, baina intsektizidaren kontzentrazio bera pulsuetaen aplikatzen zenean efektu horiek desagertu egiten zirela.

Tesian zehar, ordea, ez ditut aurretiaz aipatutako faktore guztiak zuzenean aztertu eta hortaz, haien eraginari buruz espekulatu baino ezin dut egin. Hala ere, uste dut faktore horietako asko kontutan izan beharko liratekeela kutsadura urbanoak ibai-ekosistemen funtzionamenduan izan ditzakeen efektuak aztertzerako orduan, esate baterako, isurketen konposizio kimiko zehatza (Jackson *et al.*, 2016). Demagun prozesu funtzionalek edota jarduera biologikoek Subsidio-Estres moduko erantzun-patroia jarraituz

erantzuten dutela kutsadura gradiente baten aurrean (Odum *et al.*, 1979). Hortaz, emaitza desberdin asko isurketaren kontzentrazio edota substantzia asimilagarri eta toxikoen arteko orekaren ondoriozkoak izango dira. Hori dela eta, lan batzuek aurki dezakete jarduera biologikoa hazi dela isurketa urbanoen sarreretatik behera, isurketaren kontzentrazio baxuaren ondorioz edota substantzia asimilagarriak toxikoengen gailentzen direlako (kutxa berdea, 3. irudia). Beste lan batzuek, ordea, kontrakoa aurki dezakete, jarduera biologikoa murriztu dela, efluentearen azken kontzentrazioa altuagoa bada edota substantzia toxikoak asimilagarriengan gailentzen badira (kutxa gorria, 3. irudia). Eta azkenik, litekeena da beste lan batzuk ez topatzea aldaketa esangarririk ekosistema-mailako prozesuetan, isurketak tarteko kontribuzioa badute edota substantzia asimilagarrien eta toxikoen artean oreka ematen bada (kutxa urdina, 3. irudia).

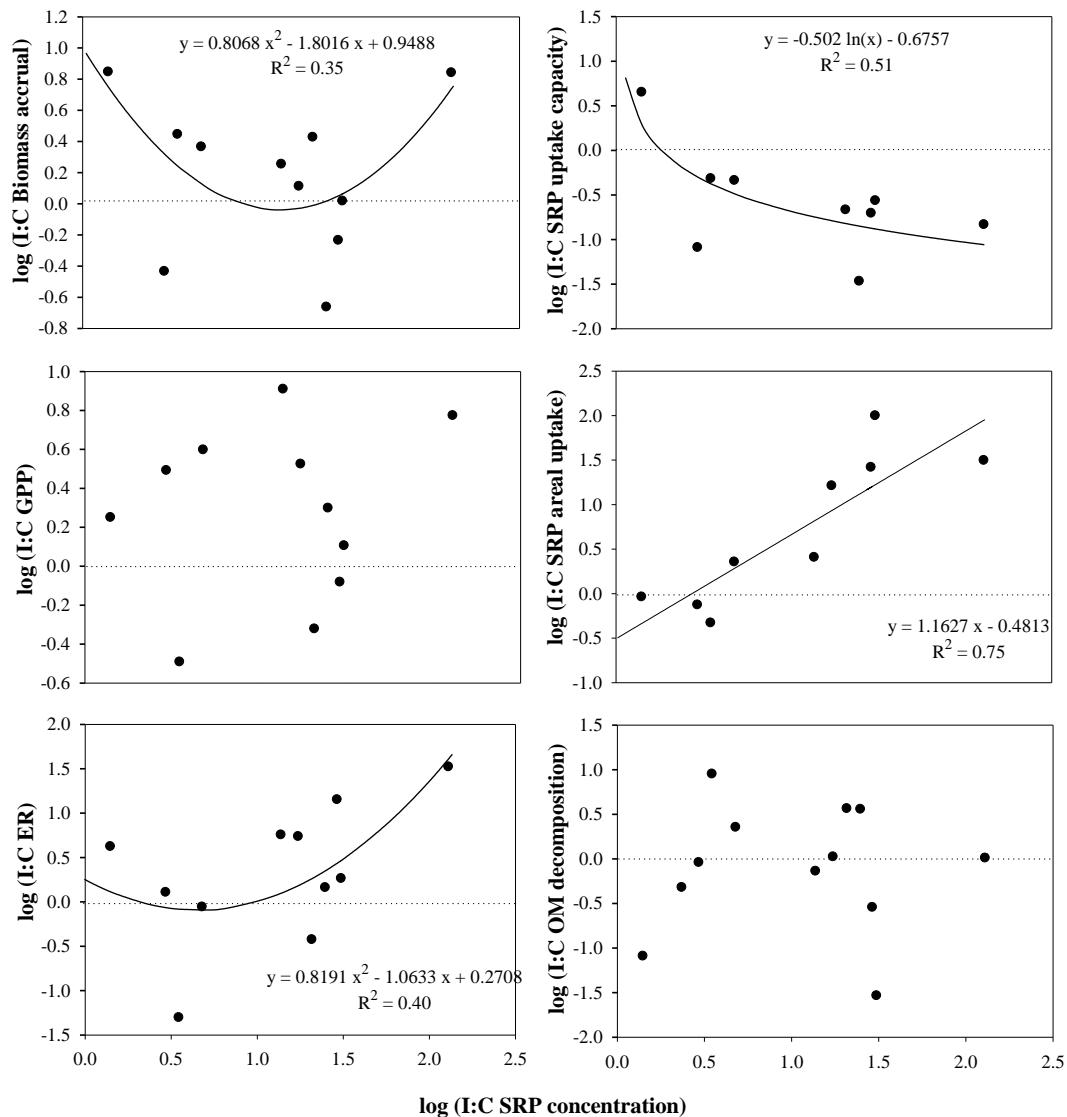


3. irudia. Jarduera biologikoek kutsatzaileen kontzentrazioaren gradiente batekiko jarraituko zuten Subsidio-Estres motako erantzun-patroi hipotetikoa. Gainera, irudiak kutsatzaileen kontzentrazioaren eragina ibai-ekosistemen funtzionamenduan aztertzen duten lanek deskribatutako emaitza kontrajarrien iturri potentzialak islatzen ditu. Kutxa berdearen tartean geldituko liratekeen experimentuek ondorioztatuko lukete kutsadura urbanoak jarduera biologikoak emendatzen dituela. Kutxa gorriaren tartean geldituko liratekeenek, ordea, kutsadura urbanoak jarduera biologikoak murrizten dituela. Eta azkenik, bi kontzentrazioak aztertuko lituzketen experimentuek, kontzentrazio bat tarte berdean eta bestea tarte gorrian edukiko luketenek, hain zuzen, ondorioztatuko lukete kutsadura urbanoak ez duela eragin esangarririk jarduera biologikoetan.

1.3. Zelan modula ditzake erreka edo ibaien diluzio-gaitasunak isurketaren efektuak?

Isurketa urbanoak erreka edo ibaien emarian hartzen duen proportzioak sistema hartziale horien diluzio-gaitasuna definitzen du (Rice eta Westerhoff, 2017) eta ekosistemaren funtzionamenduan edukiko dituen efektuak baldintzatuko ditu. Tesi honetan aztertutako laginketa puntuek gradiente oso zabala erakutsi zuten

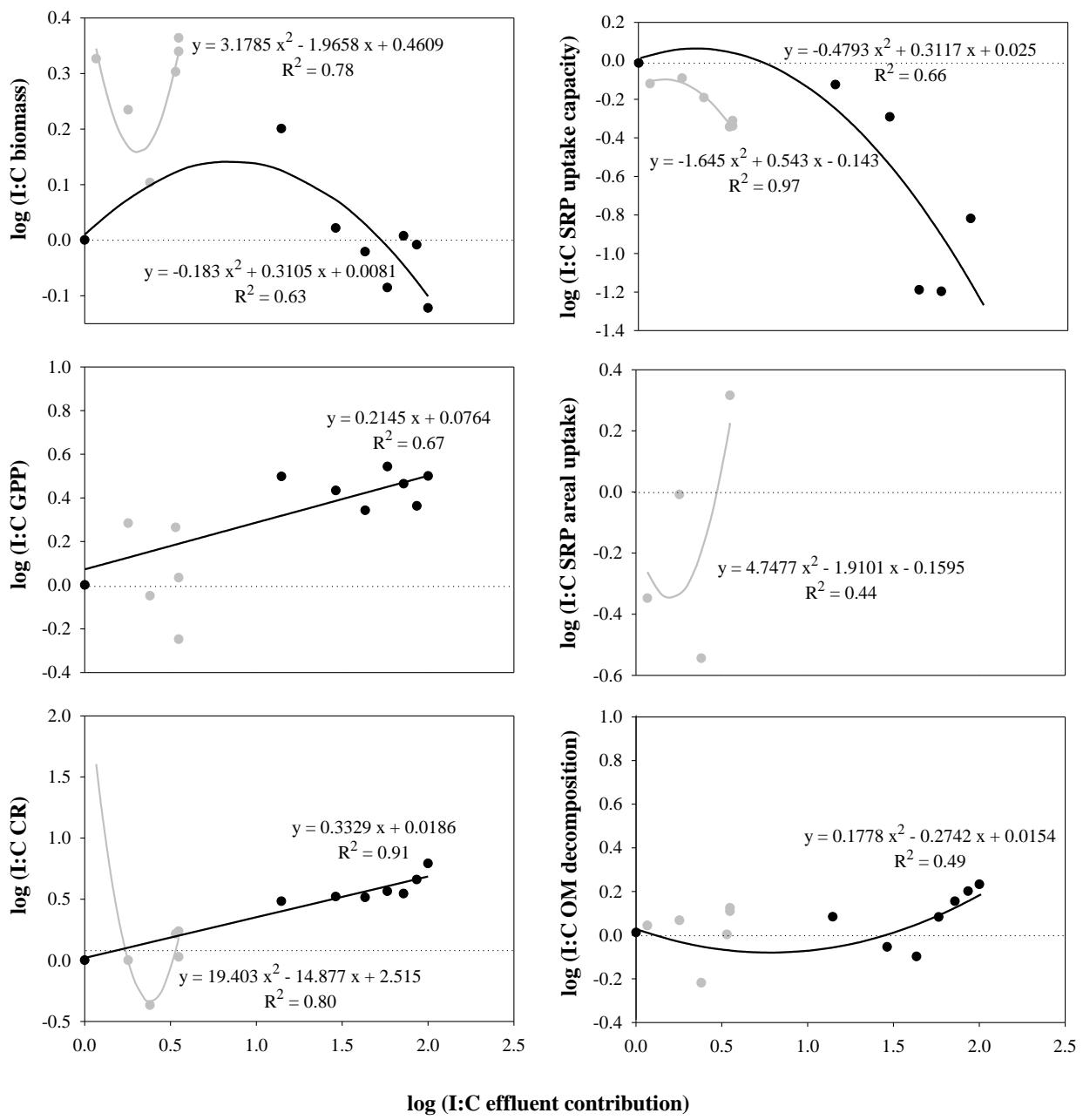
isurketa urbanoen kontribuzioari dagokiola. Esaterako, aztertutako erreka naturalek %3tik %90 baino gehiagora arteko tarteetan mugitzen ziren balioak erakutsi zituzten, manipulazio-bidezko landa esperimentuaren Apraitz Errekan eta behaketa-bidezko esperimentuaren Ebro Ibaiaren ibaiadarretan (Els Reguers edo La Sènia Erreketan, adibidez), hurrenez hurren. Aztertutako erreka artifizialek, aitzitik, gradienterik zabalena erakutsi zuten, %0tik %100ra arteko tarteetan mugitzen ziren balioak, alegia. Ekosistema-mailako impaktuak edo eraginak isurketen kontzentrazioa emendatu ahala handitu beharko liratekeen arren, emaitzek askotan sorpresa ekologikoak eragiten dituzte (Jackson *et al.*, 2016), erantzun-patroi ez-linealak erakutsiz (Pereda *et al.*, 2019). Hori dela eta, eztabaidaren atal honetan tesiko hiru kapituluetan zehar neurtutako ekosistema-mailako prozesu funtzionaletan isurketen kontribuzioak edo proportzioak eduki zuen eragina aztertzen dugu (4-5. irudiak), erantzun funtzionalen Inpaktu eta Kontrol tramuene arteko ratioa kalkulatz (I:K), eta horietako bakoitza isurketaren kontribuzioaren I:K ratioarekiko irudikatuz.



4. irudia. Ebro Ibaiaren ibaiadarretan neurtutako prozesu funtzional batzuen I:K ratioak vs. uretan disolbatutako fosforo erreaktiboaren (DFE) kontzentrazioaren I:K ratioa (2. kapitulua). Esperimendu honetan ezin izan genuen isurketak erreka

hartzaileetan eduki zuen kontribuzioa kalkulatu. Hortaz, disolbatutako fosforo erreaktiboaren (DFE = SRP) kontzentrazioaren Inpaktu eta Kontrol tramu arteko ratioa erakusten dugu, isurketaren kontribuzioaren hurbilketa gisa. Irudiko emaitzak eskala logaritmikoan adierazten dira.

Behaketa-bidezko landa-esperimentuaren emaitzek (2. kapitulu, 4. irudia) erakutsi zuten jatorri urbanoa zuten isurketen kontribuzioren eragina prozesuaren arabera aldatzen zela. Alde batetik, biofilmaren biomasaren hazkuntza-tasa, ekosistemaren arnasketa eta tramu-mailako fosforoaren atxikimendua isurketaren kontribuzioa handitu ahala emendatu ziren, nahiz eta erantzun-patroi desberdinak erakutsi. Biomasaren hazkuntzak eta ekosistemaren arnasketak isurketaren kontribuzio-maila altuentean (5-10 I:K ratioetatik aurrera, alegia) emendatutako erantzun ez-lineal ahulak erakutsi zituzten bitartean, fosforoaren atxikimenduak erantzun lineal positibo oso estua erakutsi zuen fosforo-kontzentrazioaren emendioarekiko. Bestalde, biofilmak fosforoa atxikitzeko duen gaitasuna izan zen isurketen kontribuzioagatik esangarriki murriztu zen prozesu bakarra, eta erantzun ez-lineal negatibo oso estua erakutsi zuen isurketaren kontribuzio-maila baxuenetatik (5 baino txikiagoak ziren I:C ratioetatik, hain zuzen). Azkenik, ekosistemaren ekoizpen primario gordinak eta materia organikoaren deskonposizioak ez zuten erlazio esangarririk erakutsi emendatutako isurketen kontribuzioarekiko, prozesu hauetan bestelako kanpo-faktoreek isurketek baino eragin garrantzitsuagoa izan zezaketela iradokiz.



5. irudia. Neurtutako prozesu funtzional batzuen I:K ratioak vs. isurketen kontribuzioaren I:K ratioa manipulazio-bidezko landa-esperimentuan (3. kapitulua, kolore grisez irudikatua) eta ubide artifizialak erabiliz burututako laborategi-esperimentuan (4. kapitulua, kolore beltzez irudikatua). Irudiko emaitzak eskala logaritmikoan adierazten dira.

Manipulazio-bidezko landa-esperimentuaren (3. kapitulua, 5. irudian kolore grisez irudikatua) eta laborategiko esperimentuaren (4. kapitulua, 5. irudian kolore beltzez irudikatua) emaitzek erakutsi zuten jatorri urbanoa zuten isurketen kontribuzioak ere eragin desberdinak izan zituela sistema hartzaleen funtziotan. Manipulazio-bidezko landa-esperimentuaren emaitzek behaketa-bidezko esperimentuan deskribatutako antzeko erantzun-patroiak erakutsi zituzten (4. irudia), hala nola, emendatutako biofilmaren biomasa, komunitate biologikoaren arnasketa edota tramu-mailako fosforo atxikimendu-azalera. Manipulazio-esperimentuan, ordea, prozesu edo funtzioguztiekin erantzun-patroi ez-linealak erakutsi

zituzten isurketarekiko (%2ko isurketaren kontribuziotik aurrera, hain zuzen). Era berean, biofilmaren fosforoa atxikitzeo gaitasuna izan zen esangarriki murriztutako prozesu bakarra, erantzun-patroi ez-lineala ere erakutsi zuelarik (%2ko isurketa-kontribuzio baino balio baxuagoetatik, alegia). Azkenik, ekoizpen primario gordina eta materia organikoaren deskonposizioa, kasu honetan ere, aldaketa esangarriek erakutsi gabe mantendu ziren isurketarekiko. Azkenik, emaitzak nahiko desberdinak izan ziren laborategiko esperimentuan (4. kapitulua, 5. irudian kolore beltzez irudikatua). Kasu horretan, isurketaren kontribuzioak komunitatearen arnasketa emendatzeaz gain, ekoizpen primario gordina eta materia organikoaren deskonposizioa ere emendatu zituen (%10-30eko isurketaren kontribuziotik aurrera). Biofilmaren mantenugaiak atxikitzeo gaitasuna, beste behin ere, isurketaren kontribuzioa emendatu ahala murriztu zen (%10eko kontribuziotik aurrera, alegia), erantzun-patroi negatibo oso sendoa erakutsiz. Azkenik, biofilmaren biomasa izan zen esperotako subsidio-estres moduko erantzun-patroia jarraitu zuen prozesu bakarra, isurketaren kontribuzio maximo batera arte emendatu zena (%15eko kontribuziora arte, gutxi gorabehera), non saturatu eta hortik aurrera, kontroleko balioetatik behera murriztu baitzen.

Jatorri urbanoko isurketek antzeko efektuak eragin zituzten bi landa-esperimentuetan, baina erantzun-patroiak zertxobait desberdinak izan ziren esperimentuaren arabera. Landa-esperimentuek antzeko erantzunak erakutsi zituzten, nahiz eta funtzionalitatearen eta kutsaduraren arteko erlazioak argiagoak izan ziren behaketa bidezko landa-esperimentuan (4. vs. 5. irudiak). Emaitza horiek behaketa-bidezko esperimentuan isurketaren kontzentrazio-gradiente zabalagoa lortu izanari egotzi dakizkioke, gradienteak efluenteen sarreren ondorioz ia eraginik jasan gabe mantendu ziren erreketatik(disolbatutako fosforo erreaktiboaren (DFE) kontzentrazioaren I:K erlazioa = 1), efluenteak sistema hartzalean nagusitu eta hortaz, izugarri eraldatutako tramuak erakusten dituzten erreketara (DFE kontzentrazioaren I:K erlazioa = 129) barneratzen baitzituen. Horrez gain, manipulazio-bidezko esperimentuan erreketaren inguruan hazitako ibar-baso itxiak ibilgura heltzen zen argiaren kantitatea mugatzen zuen, zeinak agian biofilm-mailan erantzunak moteldu ahal izan zituen (von Schiller *et al.*, 2007; Bernot *et al.*, 2010). Bestalde, laborategiko esperimentuan deskribatutako erantzun-patroi argiagoak, kutsadura kontzentrazioaren gradiente zabalagoaren ondoriozkoak, edota biofilmaren hazkuntza sustatu zuten baldintza abiotiko hobeen ondoriozkoak (temperatura eta argi-intentsitate altuagoak) izan daitezke (Stelzer *et al.*, 2003).

Oro har, emaitza hauek iradoki dezakete jatorri urbanoko isurketak %30tik beherako kontzentrazioetara diluitu beharko liratekeela, ekosistema hartzaleen funtzionamendua ez kaltetzeko. Hortaz, uste dugu horrelako mugak erabilgarriak izan daitezkeela araztegi berrien implementaziorako.

2. Atzera begiratuz: emaitza nagusien bilketa

Tesi honetan, behaketa- eta manipulazio-bidezko, landa eta laborategiko esperimentuak konbinatu nituen kutsadura urbanoaren efektuak aztertzeko ibai-ekosistemen funtzionamenduan (1. taula). Behaketa-bidezko landa-esperimentuaren (2. kapitulua) helburua zen kutsadura urbanoaren eta ur-eskasiaren arteko elkarrekintza aztertzea erreken eta ibaien funtzionamenduan. Horretarako, diluzio-gaitasun desberdineko errekkak aukeratu nituen eta horietako bakoitzean, jatorri urbanoa zuten isurketen sarreretatik gora eta

behera zeuden tramuen funtzionamendua konparatu nuen. Oro har, hondakin uren isurketak txikiak izan ziren eta ez zuten eragin esangarririk izan sistema hartzaileen hidrologian. Hala ere, larriki kaltetu zuten uraren kalitatea eta ondorioz, inpaktu nabarmenak eragin zituzten ekosistemen funtzionamenduan. Aldaketa horiek bereziki erlazionatuta egon ziren isurketen ondorioz askatutako mikro-kutsatzaile organikoekin. Neurtutako prozesuen artean, ordea, batek ere ez zuen esperotako subsidio-estres moduko erantzun-patroirok jarraitu eta horren ordez, prozesu gehienak kutsadura gradientearekiko emendatu ziren. Kutsaduraren ondorioz murritzutako prozesu bakarrak komunitate mikrobiarraren bidez erregulatutakoak izan ziren, ekosistema-mailan eman zitezkeen efektu negatiboak bestelako konpentsazio-mekanismoen bidez arindu zirela iradoki zezakeena. Ondorioz, emaitza hauek azpimarratzen dute kutsadura urbanoak efektu oso konplexuak eragin ditzakeela estresore anitzen presioaren menpean.

Beraz, ekosistemaren erantzunean eragina izan dezaketen nahasketa-faktoreak ahalik eta gehien murrizteko, ekosistema-mailako manipulazio-esperimentu bat egin nuen BACI motako diseinu esperimentala jarraituz (3. kapitulua), aurrekaririk gabekoa nik ezagutzen dudanera arte. Araztegitik eratorritako isurketa erreka hartzalean oso diluituta egon arren, isurketak neurtutako prozesu gehienak emendatu zituen eta gutxi batzuk baino ez ziren eragin esangarririk jasan gabe mantendu. Aurreko kapituluan ikusi nuen bezala (2. kapitulua), kasu honetan ere, biofilmaren mantenugaiak atxikitzeko gaitasuna izan zen araztegiaren isurketaren ondorioz murritzutako prozesu bakarra. Oro har, emaitza hauek aditzeria ematen dute araztegietatik eratorritako isurketek, nahiz eta tratamendu egokiak jasan edota erreka eta ibai hartzalean oso diluituta egon, efektu esangarriak eta konplexuak eragin ditzaketela ibai-ekosistemen egitura eta funtzionamenduan.

Aurretiaz burututako bi landa-esperimentuek huts egin zuten esperotako subsidio-estres moduko erantzun-patroia detektatzen neurtutako prozesu funtzionaletan. Horregatik, egoera horrek isurketa urbanoen erabateko kutsadura kontzentrazio gradientearen aurrean ekosistemaren funtzionamenduak erakutsiko lukeen erantzunari buruzko galdera azaleratu zidan, zeina laborategiko esperimentu baten bidez hurbildu nuen (4. kapitulua). Hargatik, biofilmaren biomasaren hazkuntza izan zen esperotako subsidio-estres moduko erantzun-patroia erakutsi zuen prozesu bakarra, eta horren ordez, neurtutako prozesu gehienek emendatutako erantzun konplexuak erakutsi zituzten. Beste behin ere, biofilmaren mantenugaiak atxikitzeko gaitasuna izan zen efluentearren kontzentrazioarekiko murritzutzen prozesu bakarra. Era berean, neurtutako prozesu gehienek kutsaduraren legatu-efektu argiak erakutsi zituzten, nahiz eta erantzun-patroi kontrajarriak deskribatu. Hori dela eta, horrelako emaitzek kutsadura urbanoak ibai-ekosistemen funtzionamenduan eduki ditzakeen eraginak ulertzten lagun gaitzake, baina erantzunaren konplexutasuna ere azpimarratzen dute.

1. taula. Tesian lortutako emaitza nagusiak: isurketa urbanoen eragina prozesu funtzionaletako bakoitzak erakutsi zuen erantzun-patroian (Subsidioa, Estresa, Subsidio-Estresa edo Efektu eza).

	Biofilmaren hazkuntza Jarduera entzimatikoak	Biofilmaren DFE atxikimendu-gaitasuna	Tramu-mailako mantenugaien atxikimendua	NH ₄ ⁺	DFE	EPG	EA / KA	Materia organikoaren deskonposizioa
2. kapitulua	↑ Subsidioa EGLP	↓ Estresa	↑ Subsidioa	≈ Efektu eza	≈ Efektu eza	↑ Subsidioa	≈ Efektu eza	
3. kapitulua	↑ Subsidioa EGLP ↑ Subsidioa Chl-a ↑ Subsidioa AP ↑ Subsidioa BG	↓ Estresa	≈ Efektu eza	≈ Efektu eza	≈ Efektu eza	≈ Efektu eza	≈ Efektu eza mikrobiarra ↑ Subsidioa totala	
4. kapitulua	∅ Subsidio-estresa EGLP ↑ Subsidioa Chl-a	↓ Estresa Atxikimendua ↓ Estresa efizientzia	-	-	↑ Subsidioa	↑ Subsidioa	↑ Subsidioa	
	<u>Errekuperazioa</u>	<u>Errekuperazioa</u>			<u>Errekuperazioa</u>	<u>Errekuperazioa</u>	<u>Errekuperazioa</u>	
	∅ Subsidio-estresa EGLP ↑ Subsidioa Chl-a	↓ Estresa Atxikimendua ↓ Estresa efizientzia	-	-	↑ Subsidioa	↑ Subsidioa	≈ Efektu eza	

3. Behatutako emaitzen mekanismo-erantzuleak

Ibai-oheetan hazten diren biofilm komunitateek errekako mantenugaiak eta materia organikoa prozesatu eta transformatzen dute, asimilazio eta disimilazio prozesuen konbinazioaren bidez (Romaní, 2010; Battin *et al.*, 2016). Jarduera horiei esker, mantenugaien eta materia organikoaren kontzentrazioak murriztu daitezke, temporalki gutxienez, eta hortaz, gehiegizko mantenugai kontzentrazioekin erlazionatutako ingurumen-arazoak ekidin (Bernhardt *et al.*, 2003; Ribot *et al.*, 2013). Tesian zehar, ikusi nuen jatorri urbanoko isurketek biofilmaren egitura eraldatu zezaketela, biofilmaren klorofila kontzentrazioa eta biomasa emendatuz (2., 3. eta 4. kapituluak). Horrek iradoki dezake antzeko subsidio efektua eman zela komunitate autotrofo eta heterotrofoetan (Ribot *et al.*, 2015). Emaitza horiek bereziki nabariak izan ziren bi landa-esperimentuetan eta ez ziren hain argiak izan, ordea, laborategiko esperimentuan. Azken kasu horretan, biofilmaren biomasak subsidio-estres motako erantzun-patroia jarraitu zuen (hau da, maximo edo atalase batera arte emendatu zen, non isurketa toxiko bihurtu zen eta jarduera biologikoak maila “*normaletik*” behera murriztu baitzituen), baina klorofila kontzentrazioak saturatutako subsidio-motako erantzuna erakutsi zuen. Horregatik, nahiz eta horren inguruan espekulatu baino ezin dudan egin, emaitza horiek bultza nazakete pentsatzena isurketa urbanoek biofilm komunitatearen egitura eraldatu zutela. Balizko egitura aldaketa horretan, komunitate eta espezie eresistenteagoak gailendu izan zitezkeen (Drury *et al.*, 2013; Rosi *et al.*, 2018), antibiotikoen aurkako eresistentzia-geneak garatuz (Subirats *et al.*, 2017), zeinetan agian komunitate autotrofoen heterotrofoen aurrean gailendu izan zitezkeen (Proia *et al.*, 2013). Azkenik, manipulazio-bidezko esperimentuan isurketa urbanoek biofilmaren jarduera entzimatikoak ere emendatu zitzuten, nahiz eta orokorrean mantenugaien eskuragarritasunaren emendioak haien adierazpena murrizten baituen (Romaní *et al.*, 2012). Ondorioz, ziur asko, biofilm komunitateen egituraren emandako aldaketek bultzatuko zitzuten ekosistemaren funtzionamenduan emandako aldaketak.

Biofilmaren fosforoa atxikitzeko gaitasuna nabarmen murriztu zen tesiko esperimentu guztietaan (2., 3. eta 4. kapituluak). Biofilm komunitateek uretan disolbatutako mantenugaien kifikidutu duten eskakizuna biofilm komunitatearen beraren eta ur-zutabearen arteko balantzearen araberakoa da (Hall *et al.*, 2002). Hortaz, orokorrean, inguruneko mantenugaien kontzentrazioa emendatuz doan heinean, biofilm komunitateen atxikimendu-gaitasunaren eraginkortasuna murriztu ohi da, gaitasun hori zeroraino ere murriztuz biofilma saturatzen deneko muturreko kasuetan (Earl *et al.*, 2006). Gure emaitzek erakutsi zuten isurketa urbanoen inpaktuak jasaten zitzuten biofilm komunitateak ez zirela hain eraginkorrik ur-zutabetik disolbatutako mantenugaiak atxikitzen, baldintza esperimental zehatzetan fosfatoa askatzen ere heldu zirelarik. Isurketa urbanoek materia organikoaren eta mantenugaien kantitate handiak askatzen dituzte ur gezetara (Meyer *et al.*, 2005; Carey eta Migliaccio, 2009). Ildo horretatik, tesiko esperimentu guztietaan, isurketa urbanoek esangarriki emendatu zuten uretako fosforo kontzentrazioa, zeinak agian biofilm komunitatearen atxikimendu-gaitasunaren saturazioa eragin izan zezakeen. Alabaina, isurketa urbanoak mikro-kutsatzaile organikoen sarrera garrantzitsua ere badira (Rosi-Marshall *et al.*, 2015; Sabater *et al.*, 2016; Aymerich *et al.*, 2016), eta kutsatzaile horiek, hain zuzen, biofilmaren fosfatoa atxikitzeo gaitasuna

ere murriztu izan zezaketen gure esperimentuetan (2. kapitulua), aurretiaz beste autore batzuek ikusi izan duten bezala (Proia *et al.*, 2017). Hori dela eta, biofilm komunitatearen mantenugaiak atxikitzeo gaitasunean deskribatutako murriketak, ur-ingurune sentikorrenetarako mantenugaien garraioa emenda dezake eta ondorioz, eutrofizazio arazoekin erlazionaturiko sintomak handitu (Brack *et al.*, 2007; Alexander *et al.*, 2008).

Hala eta guztiz ere, biofilm-mailan deskribatutako erantzun honek ez zuen bat egin tramu- edo ekosistema-mailan ikusitakoarekin. Aurretiaz egindako lan askok deskribatu izan dute errekek eta ibaiek mantenugaiak atxikitzeo eta eraldatzeko duten gaitasuna altua dela baldintza naturaletan edo egoera ekologiko onean dauden sistemetan, eta orokorrean, gaitasun hori murriztu egiten dela inguruneko mantenugai-kontzentrazioak emendatu ahala (Ensign eta Doyle, 2006). Gure esperimentuetan deskribatutako emaitzak, ordea, ez dato bat literaturan deskribatu izan denarekin. Behaketa-bidezko landa-esperimentuan, hain zuzen, isurketa urbanoen sarrerek ez zuten fosforoa atxikitzeo gaitasuna esangarriki eraldatu, nahiz eta amonioaren atxikimendua esangarriki emendatu. Manipulazio-bidezko landa-esperimentuan, bestalde, fosforoaren atxikimendu-tasan emandako murriketa ahul estatistiko ez-esangarriaz gain, isurketa urbanoek ez zuten eragin nabaririk izan tramu-mailako mantenugaien dinamikan. Ziur asko, kontrajarritako emaitza horien atzean dagoen arrazoi nagusietariko bat da, isurketa urbanoek biofilm komunitateen atxikimendu-gaitasuna murriztu arren, ekosistema-mailan bestelako komunitate biologikoek edota konpartimentuek arindu izan zitzaketela efektu negatibo horiek, hala nola, hiporreosak, sedimentu finek edota makrofito komunitateek (Newbold *et al.*, 1981; Covino *et al.*, 2010; Johnson *et al.*, 2015). Aski ezaguna da, isurketa urbanoak sedimentu finen iturri garrantzitsua izan daitezkeela (Miserendino *et al.*, 2008), eta behaketa-bidezko esperimentuan, hain zuzen, isurketen eraginaren pean zeuden tramu askotan ohikoak ziren sedimentu finek funtzio garrantzitsua bete izan zezaketen mantenugaiak atxikitzen (Withers eta Jarvie, 2008), ibilgu nagusian edota ibaiertzetan hazten ziren lezka-motako makrofito komunitateekin batera (Riis *et al.*, 2012). Manipulazio-bidezko esperimentuan, ordea, errekanren sedimentua arroka amaz eta harri handiz zegoen osatuta, gehienbat, non makrofito komunitateak ez baitziren garatu. Ibilguaren ertzetan hazten ziren zuhaitzek, ordea, sustrai luze eta trinkoak zituzten, errekanren ibilgura arte ateratzen zirenak, eta hortaz, funtzio garrantzitsua izan zezaketen biofilm-mailan ikusitako emaitzak konpentsatzen.

Era berean, ekosistema-mailako metabolismoa ez zuen bat egin biofilm-mailan deskribatutako emaitzekin. Erreka eta ibaien metabolismoa ekosistemaren konpartimento zehatzetan ere neur daiteke, horietako bakoitzak ekosistema osoko prozesuari egiten dion ekarpena zehazten eta kuantifikatzen baimentzen duclarik (Acuña *et al.*, 2011). Behaketa-bidezko landa-esperimentuan ikusi genuen isurketa urbanoek ekosistemaren metabolismoa emendatu zutela, batez ere ekosistemaren arnasketa, eta gainera, bai arnasketa eta bai ekoizpen primario osoa ere, esangarriki emendatu zirela kutsatzaileen kontzentrazioarekiko. Emaitza horiek bat datozen tesiko laborategi-esperimentuan deskribatutakoarekin, non isurketa urbanoak biofilmaren jarduera metabolikoak ere emendatu baitzituen. Kasu honetan ere, emendioa argiagoa izan zen komunitate-arnasketaren kasuan ekoizpen primario gordinaren kasuan baino, ekoizpena

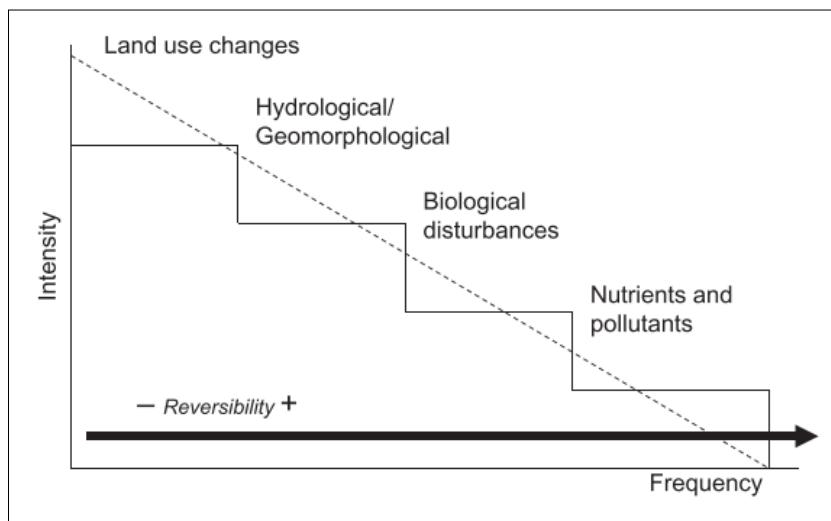
kutsadura-maila ertainetan saturatu baitzen. Bi esperimentu horietako emaitzak, aitzitik, ez dato bat manipulazio-bidezko landa-esperimentuan deskribatu genuenarekin. Izan ere, esperimentu horretako emaitzek tendentzia ahul estatistikoki ez-esangarriak baino ez zituzten erakutsi emendatutako arnasketa eta ekoizpen tasekiko. Hirugarren kapitulu honetan zehar aipatu bezala, arrazoi desberdinek eragotzi izan zezaketen emaitza edo efektu argiagoak ikustea, besteak beste, erreplika kopuru nahikoaren falta, isurketa urbanoaren kontribuzioa errekan oso baxua izan izana edota isurketa modu etenean askatu izana errekarra. Hortaz, 3. kapituluko emaitzek, agian, baldintza esperimental zehatzak baino ez dituzte islatzen, baina beste bi kapituluetako emaitzak (2. eta 4. kapituluak) bat datoaz aurretiaz literaturan deskribatu denarekin. Lan askok deskribatzen dute ekosistemaren metabolismoa isurketa urbanoen eraginaren pean dauden erreka eta ibaietan emenda daitekeela (adibidez, Gücker *et al.*, 2006), nahiz eta horietako gehienek arnasketa deskribatzen duten kutsadurarekiko bereziki sentikorra izateagatik (Izagirre *et al.*, 2008; Aristi *et al.*, 2015). Orokorean, ekosistema edota komunitate-mailako ekoizpen primario gordinak isurketa urbanokiko duen erantzuna ez da hain argia, eta askotan, erantzun-eza ekoizpena beste ingurumen-faktore batzuek erregulatu ahal izateari egotzi izan zaio, argiari (Aristi *et al.*, 2015), ibar-basoari (Bernot *et al.*, 2010) edota uraren uhertasunari (Izagirre *et al.*, 2008), alegia. Ondorioz, erreka eta ibaien metabolismoa eman daitezkeen aldaketa hauek prozesu autotrofo eta heterotrofoen arteko oreka eraldatu dezakete, sistema heterotrofiarantz bultzatuz eta hortaz, kutsadura urbanoaren estres seinaleak oraindik ere argiagoak bilakatuz sistema hartzaleetan (Brack *et al.*, 2007).

Azkenik, kutsadura urbanoak modu desberdinean eragin zuen komunitate mikrobiarrek edo ornogabeek materia organikoaren deskonposizioan zuten eragina. Materia organikoaren deskonposizioa faktore biotiko eta abiotikoen menpeko ondoz ondoko prozesu multzoek osatzen dute, zeintzuek deskonposizioa ingurumen-faktore desberdin askorekiko sentikor bihurtzen baitutenean (Young *et al.*, 2008; Chauvet *et al.*, 2016). Behaketa-bidezko landa esperimentuak erakutsi zuen isurketa urbanok ez zutela eragin esangarririk izan komunitate mikrobiarraren bidez erregulatutako deskonposizioan, nahiz eta murrizteko joera ahul bat erakutsi zuen kutsatzaile kontzentrazioa emendatu ahala. Emaitza hauek bat datoaz manipulazio-bidezko landa-esperimentukoekin, isurketa urbanoak ez baitzuen eragin esangarririk izan deskonposizio mikrobiarrean, nahiz eta ornogabeen bidezkoa esangarriki emendatu. Bi esperimentuen emaitzak, ordea, ez dato bat laborategian deskribatu genuenarekin, azken kasu honetan deskonposizio mikrobiarra esangarriki emendatu baitzen kutsadurarekin. Autore askok deskonposizio tasaren gorakada deskribatu izan dituzte laborategiko esperimentuetan (Biasi *et al.*, 2017), nahiz eta emaitza horiek askotan ez islatu landa-esperimentuetan (Solagaistua *et al.*, 2018). Hortaz, emaitza horiek iradoki dezakete laborategiko esperimentuan erabilitako faktore abiotikoei, mantenugai kontzentrazio altuek, argi ez mugatzialeak edota uraren tenperatura epelek, funtziogarrantziotsua izan zutela deskonposizioa emendatzen (Spähhoff *et al.*, 2007). Horregatik, beste autore batzuk deskribatu bezala (Ferreira *et al.*, 2015), baldintza kontrolatuen pean egindako esperimentuek erantzun-patroi argiago eta sendoagoak erakutsi ditzakete, haien izaera sinplistikoa landa-esperimentuen emaitza kontrajarrien erantzule izan daitezkeen nahasketa-faktoreak ezabatzea baitakar. Amaitzeko, ornogabeen bidez erregulatutako deskonposizioa neurtu genuen esperimentu bakarrean (3. kapitulua), ikusi genuen kontsumo-tasak esangarriki emendatu zirela isurketa

kontzentrazioarekin, ziurrenik inkubatutako hostoen palabilitatea handitzearen ondorioz (Ferreira *et al.*, 2015) edo ornogabeen dentsitatea emendatzearen ondorioz (Pascoal *et al.*, 2003). Emaitzak horiek, beraz, bat datozen ornogabeak kutsadurarekiko komunitate mikrobiarrak baino sentikorragoak izan daitezkeela iradokitzen duten lanekin (Hieber eta Gessner, 2002). Araztegien isurketek komunitate mikrobiarren jarduerak bultza ditzakete, jarduera entzimatikoak eta arnasketa kasu, eta ondorioz materia organikoaren deskonposaketa azkartu (Ferreira *et al.*, 2006). Ornogabeak komunitate mikrobiarren jardueraren menpekoak direnez hostoen egokitzapenerako eta palabilitatea emendatzeko, ornogabeen bidezko deskonposizioa efektu zuzen eta ez-zuzenen ondorioz eralda daitekeela esan ohi da (Bundschuh *et al.*, 2011, 2013), zeinak, agian, ornogabeak kutsadurarekiko sentikorrago bihurtu ditzakeen. Gainera, komunitate mikrobiarren eta ornogabeen funtzioa kutsadura urbanoaren ondorioz eraldatu daiteke (Hieber eta Gessner, 2002). Zentzu horretan, autore batzuek ornogabeen dentsitate maximoak deskribatu izan dituzte kutsadura-maila ertainetan (Friberg *et al.*, 2011), eta honek iradokitzen du kutsadura-maila zehatzetan ornogabeen funtzioa mikrobioen aurrean gailendu daitekeela.

4. Erreka urbanoen etorkizuna

Kutsadura urbanoa ur gezetako ekosistemak mehatxatzen dituen estres-iturri ohikoenetariko bat da, askotan, gainera, beste hainbat estresorerekin batera eragin dezakeena, aldaketa hidromorfologikoekin, adibidez (EC, 2015; Birk *et al.*, 2018). Estresore motak eta dituzten efektuak energian oinarritutako ikuspuntu baten arabera sailkatu daitezke, haien intentsitatea, maiztasuna edota eskala espaziala kontutan hartuz (6. irudia; Stevenson eta Sabater, 2010). Sailkapen horren arabera, mantenugaiak eta kutsatzaileak maitasun altuan baina intentsitate baxuarekin agertu ohi diren estresore gisa definitzen dira, eta hortaz aldaketa edo impaktu itzulgarritzat hartzen dira (6. irudia). Horren arabera, estresore hauek komunitate biologikoak haien egoera fisiologiko normaleetik baino ez dituzte mugituko, eta komunitateen adaptaziorako mekanismoak, oro har, nahikoak izango dira estres-mailari aurre egiteko. Ondorioz, horrelako impaktuek aldaketa leunak baino ez dituzte eragiten (Segner *et al.*, 2014), zeintzuek sistemaren errekuperazio-gaitasuna ahalbidetzen duten (Sabater *et al.*, 2018b).

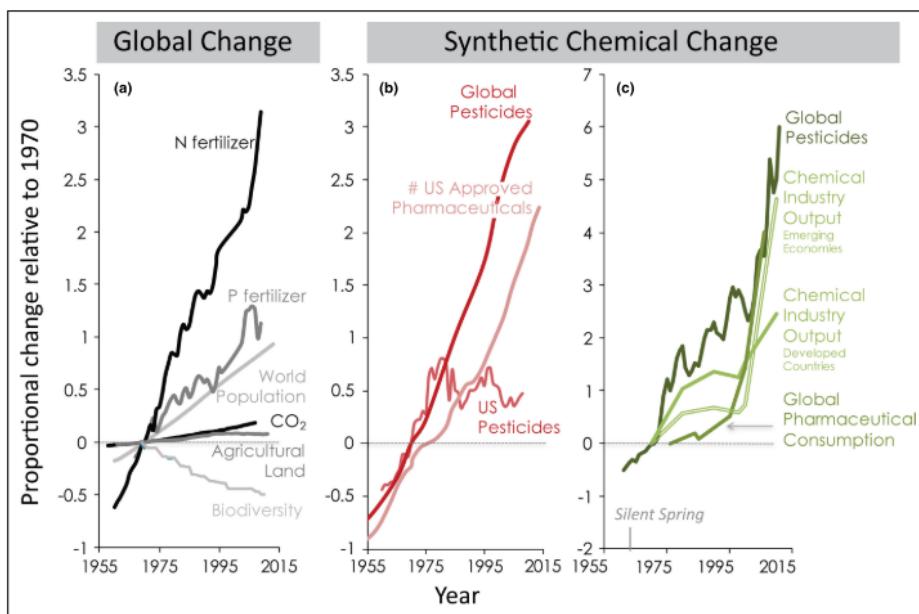


6. irudia. Estresoreen sailkapena haien erlazionatutako energiaren arabera, intentsitatearen eta maiztasunaren bidez neurtua. Irudia Sabater *et al.* (2018b) lanetik hartutako da.

Tesi honetako emaitzak, hala ere, ez dato bat aurreko sailkapenarekin. Izan ere, tesian aztertutako erreka batzuetan argi ikusi genuen isurketa urbanoek larriki kalte dezaketela uraren kalitatea, baldintza anoxikoak eraginez edota Europako erreka kutsatuenen pareko mantenugai kontzentrazioak emanez (Grizzetti *et al.*, 2017). Uraren kalitatean emandako aldaketa horiek kalte larriak eragin ditzakete komunitate biologikoetan, ornogabe-komunitateen egituran aldaketa larriak eraginez, adibidez, behaketa-bidezko landa-esperimenturekiko paraleloan egindako beste lan batean ikusi izan genuen bezala (Mor *et al.*, *Errebisiopian*). Horrez gain, aldaketa horiek ondorio garrantzitsuak izan ditzakete ekosistemaren funtzionamenduan eta gakoak diren ekosistema-mailako zenbait prozesu funtzional eraldatu, biofilmaren mantenugaiak atxikitzeko gaitasuna edota arnasketa, alegia. Hori dela eta, gure emaitzek iradokitzen dute kutsadura urbanoa intentsitate eta frekuentzia altuko estres-iturri gisa sailkatu beharko litzatekeela, zeinak legatu-efektu larriak eragin ditzakeen, ekosistemen errekuperazio-gaitasuna murriztuz (Jarvie *et al.*, 2013).

Etorkizunerako aurreikuspenek ez dituzte oso egoera baikorrak iragartzen, efektu hauek oraindik ere gehiago larriagotu baitaitezke estresoreak eskala espazial eta temporal handigoetan agertzearen ondorioz edota estres-iturri berrien ondorioz, pestiziden eta produktu farmazeutikoen mundu-mailako hedapenaren ondorioz, adibidez (Ricart *et al.*, 2010). Alde batetik, aurreko mendearen amaieratik herri eta hirietako biztanleriak nabarmen egin du gora, eta datozen hamarkadetan joera honek bere horretan jarraituko duela iragartzen da, populazioaren tamaina eta banaketa espaziala oraindik ere gehiago handituz eta hirien inguruan kontzentratuz (Jones eta O'Neill, 2016). Horren ondorioz, kutsadura urbanoaren eraginak oraindik ere nabariagoak izango dira, “*Erreka Urbanoen Sindromea*” jasaten duten erreken eta ibaien kopurua nabarmen emendatuz (Walsh *et al.*, 2005). Beste aldetik, aurreikusitako lehortearen emendioak oraindik ere gehiago areagotuko ditu kutsadura urbanoaren efektuak, hurrengo urteetan espero baita erreka eta ibaietako asko iragankor bihurtzea klima aldaketaren edota uraren abstrakzioaren ondorioz (Acuña *et al.*, 2014). Egoera horien aurrean, erreka eta ibai askoren diluzio-gaitasuna nabarmen murriztuko da eta hortaz, isurketa urbanoek proportzio handiagoa izango dute sistema hartzileen emarian (Rice eta Westerhoff, 2017), nabarmen emendatuz isurketa urbanoen menpeko erreka eta ibaien kopurua (Döll eta Schmied, 2012). Horrez gain, aldaketa globalak aurreikusten dituen egoeren ildotik (Hisdal *et al.*, 2001), espero da euri-patrioik aldatu eta errekkak uharragoak bilakatuko direla, zeinak baldintza lehorren eta muturreko euri-zaparraden arteko txandakatzea eragingo duen (Räisänen *et al.*, 2004). Euri-sasoi horiek, hain zuzen, araztegien funtzionamendua zaildu dezakete, tratatu gabeko hondakin uren halabeharrezko isurketak eraginez (Corada-Fernández *et al.*, 2017). Halabeharrezko isurketa horiek larriki kalte dezakete uraren kalitatea kutsatzaile desberdin askoren kontzentrazioa emendatzearen ondorioz: mantenugaiak, metal astunak, lehentasunezko bestelako kutsatzaileak, hala nola, farmazeutikoa eta garbiketa eta zaintza-produktuena, alegia (Canobbio *et al.*, 2009; Guasch *et al.*, 2010; Corada-Fernández *et al.*, 2017). Dena den, beste autore askoren ustez, produktu kimiko berrien ekoizpena eta dibertsifikazioa izango da aldaketa globalaren eragile nagusia (Bernhardt *et al.*, 2017). Azken hamarkadetan produktu hauek, nahiz eta alde

batera utzi izan diren aldaketa globalaren efektuak aztertzerako orduan (Stehle eta Schulz, 2015), izugarri emendatu dira kantitatean, dibertsitatean eta hedapen geografikoan (7. irudia). Haien ekoizpenaren eta dibertsifikazioaren hazkuntzak, batez ere pestizida eta produktu farmazeutikoa, aurretiaz aldaketa globalaren eragile nagusi gisa sailkatu izan diren beste faktore askoren tasak gailendu ditu, adibidez, CO₂ kontzentrazio atmosferiko altua, mantenugaiak, lurzoruaren erabileraren aldaketa edota biodibertsitatearen galera (7a vs. 7b eta 7c irudiak). Gainera, konposatu hauek epe-luzeko ingurumen-aldeketa eragiten dituzte. Horrez gain, ingurumen-arazo oso larri bilakatzen ari da ur inguruneetan ematen ari den plastikozko partikulen metaketa masiboa (Geyer *et al.*, 2017). Aurretiaz gai honen inguruan egin diren ikerketa gehienek, ur gaziko inguruneetan eta bertako komunitateei ekar dakizkiekeen arriskuetan erreparatu izan dute, ur gezetako ekosistemek askoz ere atentzio gutxiago jaso izan dutelarik. Hala ere, azken urteotan egindako azterketek erakutsi dute plastikozko partikulak ur gezetako inguruneetan ere agertu ez ezik, ozeano eta itsasoetan adina kutsakorrak izan daitekeela, eta beraz, ur gezetako komunitate biologikoak ere larriki kalte daitezke (Wagner *et al.*, 2014; Dris *et al.*, 2015; Eerkes-Medrano *et al.*, 2015). Ondorioz, beldur gara konposatu kimiko berri hauen ekoizpen masiboak kalte larriak eragingo dituela komunitate biologikoetan, eta azkenik ekosistemaren funtzionamenduan (Malaj *et al.*, 2014; Bernhardt *et al.*, 2017).



7. irudia. Azken hamarkadetan zehar emendatu diren faktore desberdinaren hazkuntza-tasak (a) orain arte ingurumen aldaketa globalaren erantzule gisa deskribatuak izan diren faktoreena, (b) bai AEBtan baita mundu-mailan ere pestiziden eta produktu farmazeutikoen jasandako dibertsifikazio eta aplikazioarena, eta (c) konposatu kimiko sintetikoen, pestiziden eta produktu farmazeutikoen sektoreek bakarka jasan izandako balio komertzial globalarena. Irudia Bernhardt *et al.*, (2017) lanetik hartutakoa da.

Egoera kezkagarri horiekin erlazionatutako ingurumen-arazoei aurre egin eta epe-luzera ekidin ahal izateko, argi dago dagoeneko existitzen diren kudeaketa estrategiak garatu eta hobetu beharko genituzkeela. Alde batetik, beharrezkoa da mundu-mailako saneamendua eta arazketa hobetzea, herrialde

azpigaratuetan ez ezik herrialde garatuetan ere, inolako tratamendurik gabeko hondakin uren isurketak oraindik ere existitzen baitira. Beste aldetik, gaur egun hondakin uren araztegietan dauden tratamendu prozesuak hobetu beharko lirateke sofistikazio-maila altuagoko tratamendu tertziarioak ezarriz, bereziki kutsatzale berrien ezabapenera moldatutakoak, produktu farmazeutikoenera, adibidez. Egia da gaur egun neurri hauek izugarri garestiak direla, baina inongo zalantzarak gabe, prezio hauek behera egingo dute kutsatzale berriak ugaritu ahala. Azkenik, esan beharrekoa da kutsadura urbanoa ez dela gizabanako gutxi batzuek konpon dezaketen arazo eta horregatik, giza populazio osoa jabetu beharko litzatekeela dimentsio globalak dituen arazo honi buruz, neurriak hartu eta horrela, kutsatzaleen kontzentrazioak eta kantitateak murrizteko. Asko irabazi baitaiteke, adibidez, gure erabilera beharrezko kutsatzaleetara mugatze hutsarekin, plastiko edo farmazeutikoen erabilerara, esaterako. Askok pentsatuko dute kutsadura murrizteko neurri hauek, agian, bakunegiak izan daitezkeela eta horrez gain, garestiegiak gaur egungo ekonomia sistemara aplikatzeko. Azken hau, ordea, askotan errepikatu izan da ingurumen-administrazioak ezarritako beste neurri batzuekin. Esaterako, orain dela hamarkada batzuk, Euskal Herriko errekkak eta ibaiak munduko kutsauenen artean aurkitzen ziren (8. irudia). Aurkezten zuten egoera ekologiko txiroa gizarte garatu batean bizi ahal izateko ordaindu beharreko prezioa zela uste zen, eta ingurumenaren kalitatea hobetzeko egindako inbertsio guztiak, ordea, giza ekonomiarentzat eta ongizatearentzat zeuden mehatxu larrienetako bat. Zorionez, ezin gintezke okertuago egon! Noski, herrialde-mailan saneamendu eta tratamendu prozesu egokiak ezartzeko diru-kantitate handiak behar izan dira, baina aldi berean horrek gizarte garatuago eta ekonomia dinamikoago baterako bidea zabaldu du. Gustatuko litzaidake pentsatzea giza populazioa norabide berean ari dela lanean, eta ondorioz, aurrerapen ekologiko garrantzitsuak ikusi ahal izango ditugula hurrengo hamarkadetan zehar.



8. irudia. Urumea Ibaia Donostiatik igarotzean (Iberiar Penintsularen ipar-ekialdea) 1960 urtean (ezkerrean) eta 2018 urtean (eskuman). Argazkiak Arturo Elosegik eskainitakoak dira.

Erreferentziak

- Acuña V., Vilches C. eta Giorgi A. (2011). As productive and slow as a stream can be - the metabolism of a Pampean stream. *Journal of the North American Benthological Society*, 30 (1): 71-83. doi: 10.1899/09-082.1
- Acuña V., Datry T., Marshall J., Barceló D., Dahm C.N., Ginebreda A., McGregor G., Sabater S., Tockner K. eta Palmer M.A. (2014). Why should we care about temporary waterways? *Science*, 343 (6175), 1080-1081. doi: 10.1126/science.1246666
- Alexander R.B., Smith R.A., Schwarz G.E., Boyer E.W., Nolan J.V. eta Brakebill J.W. (2008). Differences in phosphorus and nitrogen delivery to the Gulf of Mexico from the Mississippi River Basin. *Environmental Science & Technology*, 42 (3): 822-830. doi: 10.1021/es0716103
- Alfonsín C., Hospido A., Omil F., Moreira M.T. eta Feijoo G. (2014). PPCPs in wastewater – Update and calculation of characterization factors for their inclusion in LCA studies. *Journal of Cleaner Production*, 83 (15): 245-255. doi: 10.1016/j.jclepro.2014.07.024
- Altenburger R., Ait-Aissa S., Antczak P., Backhaus T., Barceló D., Seiler T.B., Brion F., Busch W., Chipman K., López de Alda M., de Aragão Umbuzeiro G., Escher B.I., Falciani F., Faust M., Focks A., Hilscherova K., Hollender J., Hollert H., Jäger F., Jahnke A., Kortenkamp A., Krauss M., Lemkine G.F., Munthe J., Neumann S., Schymanski E.L., Scrimshaw M., Segner H., Slobodnik J., Smedes F., Kughathas S., Teodorovic I., Tindall A.J., Tollesen K.E., Walz K.H., Williams T.D., Van den Brink P.J., van Gils J., Vrana B., Zhang X. eta Brack W. (2015). Future water quality monitoring - adapting tools to deal with mixtures of pollutants in water resource management. *Science of the Total Environment*, 512-513: 540-551. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.12.057
- Arenas-Sánchez A., Rico A. eta Vighi M. (2016). Effects of water scarcity and chemical pollution in aquatic ecosystems: State of the art. *Science of the Total Environment*, 572: 390-403. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.07.211
- Aristi I., Arroita M., Larrañaga A., Ponsatí L., Sabater S., von Schiller D., Elosegi A. eta Acuña V. (2014). Flow regulation by dams affects ecosystem metabolism in Mediterranean rivers. *Freshwater Biology*, 59: 1816-1829. doi: 10.1111/fwb.12385
- Aristi I., von Schiller D., Arroita M., Barceló D., Ponsatí L., Carcía-Galán M.J., Sabater S., Elosegi A. eta Acuña V. (2015). Mixed effects of effluents from a wastewater treatment plant on river ecosystem metabolism: subsidy or stress? *Freshwater Biology*, 60: 1398-1410. doi: 10.1111/fwb.12576
- Arroita M., Flores L., Larrañaga A., Martínez A., Martínez-Santos M., Pereda O., Ruiz-Somera E., Solagaistua L. eta Elosegi A. (2016). Water abstraction impacts stream ecosystem functioning via wetted-channel contraction. *Freshwater Biology*, 62(2): 243-257. doi: 10.1111/fwb.12864

Aymerich I., Acuña V., Barceló D., García M.J., Petrovic M., Poch M., Rodriguez-Mozaz S., Rodríguez-Roda I., Sabater S., von Schiller D. eta Corominas Ll. (2016). Attenuation of pharmaceuticals and their transformation products in a wastewater treatment plant and its receiving river ecosystem. *Water Research*, 100: 126-136. doi: 10.1016/j.watres.2016.04.022

Battin T.J., Besemer K., Bengtsson M.M., Romaní A.M. eta Packmann A.I. (2016). The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 14: 251-263. doi: 10.1038/nrmicro.2016.15

Bernhardt E.S., Likens G.E., Buso D.C. eta Driscoll C.T. (2003). Instream uptake dampens effects of major forest disturbance on watershed nitrogen export. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100 (18): 10304–10308. doi: 10.1073/pnas.1233676100

Bernhardt E.S., Rosi E.J. eta Gessner M.O. (2017). Synthetic chemicals as agents of global change. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 15 (2): 84-90. doi: 10.1002/fee.1450

Bernot M.J., Sobota D.J., Hall R.O., Mulholland P.J., Dodds W.K., Webster J.R., Tank J.L., Ashkenas L.R., Cooper L.W., Dahm C.N., Gregory S.V., Grimm N.B., Hamilton S.K., Johnson S.L., McDowell W.H., Meyer J.L., Peterson B., Poole G.C., Valett H.M., Arango C., Beaulieu J.J., Burgin A.J., Crenshaw C., Helton A.M., Johnson L., Merriam J., Niederlehner B.R., O'Brien J.M., Potter J.D., Sheibley R.W., Thomas S.M. eta Wilson K. (2010). Inter-regional comparison of land-use effects on stream metabolism. *Freshwater Biology*, 55 (9): 1874-1890. doi: 10.1111/j.1365-2427.2010.02422.x

Berthelsen A., Atalah J., Clark D., Goodwin E., Patterson M. eta Sinner J. (2018). Relationships between biotic indices, multiple stressors and natural variability in New Zealand estuaries. *Ecological Indicators*, 85: 634-643. doi: 10.1016/j.ecolind.2017.10.060

Biasi C., Graça M.A.S., Santos S. eta Ferreira V. (2017). Nutrient enrichment in water more than in leaves affects aquatic microbial litter processing. *Oecologia*, 184 (2): 555-568. doi: 10.1007/s00442-017-3869-5

Birk S. eta Hering D. (2018). Hering D., Birk S., Jeppesen E., Borja A., Schmutz S., Kodeš V., Ormerod S., Hangau J., Kuijper M., Buijse T., Nöges T., Venohr M., Cardoso A.C., Argillier C., Beklioğlu M., Carvalho L., Solheim A.L., Panagopoulos Y., Järvinen M., Globevnik L., Ferreira T., Alves H., Mühlmann H., Schinegger R., Pitt J.A., Höld E., Boscornea C. eta collaborators. MARS Project: Managing Aquatic Ecosystems and Water Resources Under Multiple Stress. Final Report, April 2018.

Brack W., Klamer H.J.C., López de Alda M. eta Barceló D. (2007). Effect-directed analysis of key toxicants in European river basins. A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 14 (1): 30-38. doi: 10.1065/espr2006.08.329

Bundschuh M., Zubrod J.P. eta Schulz R. (2011). The functional and physiological status of *Gammarus fossarum* (Crustacea; Amphipoda) exposed to secondary treated wastewater. *Environmental Pollution*, 159 (1): 244-249. doi: 10.1016/j.envpol.2010.08.030

Bundschuh M., Zubrod J.P., Klemm P., Elsaesser D., Stang C. eta Schulz R. (2013). Effects of peak exposure scenarios on *Gammarus fossarum* using field relevant pesticide mixtures. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 95: 137-143. doi: 10.1016/j.ecoenv.2013.05.025.

Canobbio S., Mezzanotte V., Sanfilippo U. eta Benvenuto F. (2009). Effect of multiple stressors on water quality and macroinvertebrate assemblages in an effluent-dominated stream. *Water, Air and Soil Pollution*, 198: 359-371. doi: 10.1007/s11270-008-9851-4

Cantinho P., Matos M., Trancoso M.A. eta Correia dos Santos M.M. (2016). Behavior and fate of metals in urban wastewater treatment plants: a review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13 (1): 359-386. doi: 10.1007/s13762-015-0887-x

Carey R.O. eta Migliaccio K.W. (2009). Contribution of Wastewater Treatment Plant Effluents to Nutrient Dynamics in Aquatic Systems: a Review. *Environmental Management*, 44: 205-217. doi: 10.1007/s00267-009-9309-5

Chauvet E., Ferreira V., Giller P.S., McKie B.G., Tiegs S.D., Woodward G., Elosgi A., Dobson M., Fleituch T., Graça M.A.S., Gulis V., Hladyz S., Lacoursière J.O., Lecerf A., Pozo J., Preda E., Riipinen M., Rîşnoveanu G., Vadineanu A., Vought L.B.M. eta Gessner M.O. (2016). Litter decomposition as an indicator of stream ecosystem functioning at local-to-continental scales: insights from the European *RivFunction* project. *Advances in Ecological Research*, 55: 99-182. doi: 10.1016/bs.aecr.2016.08.006

Cleuvers M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters*, 142 (3): 185-194. doi: 10.1016/S0378-4274(03)00068-7

Corada-Fernández C., Candela L., Torres-Fuentes N., Pintado-Herrera M.G., Paniw M. eta González-Mazo E. (2017). Effects of extreme rainfall events on the distribution of selected emerging contaminants in surface and groundwater: The Guadalete River basin (SW, Spain). *Science of the Total Environment*, 605-606: 770-783. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.06.049

Covino T.P., McGlynn B.L. eta McNamara R.A. (2010). Tracer Additions for Spiraling Characterization (TASCC): Quantifying stream nutrient uptake kinetics from ambient to saturation. *Limnology and Oceanography: Methods*, 8 (9): 484-498. doi: 10.4319/lom.2010.8.484

Descloux S., Datry T. eta Marmonier P. (2013). Benthic and hyporheic invertebrate assemblages along a gradient of increasing streambed colimation by fine sediment. *Aquatic Sciences*, 75(4): 493–507. doi:10.1007/S00027-013-0295-6

Döll P. eta Schmied H.M. (2012). How is the impact of climate change on river flow regimes related to the impact on mean annual runoff? A global-scale analysis. *Environmental Research Letters*, 7: 014037 (11 pp.). doi: 10.1088/1748-9326/7/1/014037

Dris R., Imhof H., Sanchez W., Gasperi J., Galgani F., Tassin B. eta Laforsch C. (2015). Beyond the ocean: contamination of freshwater ecosystems with (micro-) plastic particles. *Environmental Chemistry*, 12 (5): 539-550. doi: 10.1071/EN14172

Drury B., Rosi-Marshall E. eta Kelly J.J. (2013). Wastewater treatment effluent reduces the abundance and diversity of benthic bacterial communities in urban and suburban rivers. *Applied and Environmental Microbiology*, 79 (6): 1897-1905. doi: 10.1128/AEM.03527-12

Earl S.R., Valett H.M. eta Webster J.R. (2006). Nitrogen saturation in stream ecosystems. *Ecology*, 87: 3140-3151. doi: 10.1890/0012-9658(2006)87[3140:NSISE]2.0.CO;2

EC - European Commission (2015). The water framework directive and the floods directive: action towards the “good status” of EU water and to reduce flood risks, COM (2015), 120.

Eerkes-Medrano D., Thompson R.C. eta Aldridge D.C. (2015). Microplastics in freshwater systems: A review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritization of research needs. *Water Research*, 75: 63-82. doi: 10.1016/j.watres.2015.02.012

Elosegi A. eta Sabater S. (2013). Effects of hydromorphological impacts on river ecosystem functioning: a review and suggestions for assessing ecological impacts. *Hydrobiologia*, 712 (1): 129–143. doi: 10.1007/s10750-012-1226-6

Ensign S.H. eta Doyle M.W. (2006). Nutrient spiraling in streams and river networks. *Journal of Geophysical Research*, 111: G04009. doi: 10.1029/2005JG000114

Ferreira V., Gulis V. eta Graça M.A.S. (2006). Whole-stream nitrate addition affects litter decomposition and associated fungi but not invertebrates. *Oecologia*, 149: 718-729. doi: 10.1007/s00442-006-0478-0

Ferreira V., Castagneyrol B., Koricheva J., Gulis V., Chauvet E. eta Graça M.A. (2015). A meta-analysis of the effects of nutrient enrichment on litter decomposition in streams. *Biological Reviews*, 90: 669-688. doi: 10.1111/brv.12125

Friberg N., Bonada N., Bradley D.C., Dunbar M.J., Edwards F.K., Grey J., Hayes R.B., Hildrew A.G., Lamouroux N., Trimmer M. eta Woodward G. (2011). Biomonitoring of human impacts in freshwater ecosystems: The good, the bad and the ugly. *Advances in Ecological Research*, 44: 1-60. doi: 10.1016/B978-0-12-374794-5.00001-8

Geyer R., Jambeck J.R. eta Lavender Law K. (2017). Production, use and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3 (7): e1700782. doi: 10.1126/sciadv.1700782

Grizzetti B., Pistocchi A., Liquete C., Udiás A., Bouraoui F. eta van de Bund W. (2017). Human pressures and ecological status of European rivers. *Scientific Reports*, 7 (1): 1-11. doi: 10.1038/s41598-017-00324-3

Guasch H., Atli G., Bonet B., Corcoll N., Leira M. eta Serra A. (2010). Discharge and the response of biofilms to metal exposure in Mediterranean rivers. *Hydrobiologia*, 657 (1): 143-157. doi: 10.1007/s10750-010-0116-z

Gücker B., Brauns M. eta Pusch M.T. (2006). Effects of wastewater treatment plant discharge on ecosystem structure and function of lowland streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 25 (2): 313-329. doi: 10.1899/0887-3593(2006)25[313:EOWTPD]2.0.CO;2

Hall R.O., Bernhardt E.S. eta Likens G.E. (2002). Relating nutrient uptake with transient storage in forested mountain streams. *Limnology and Oceanography*, 47 (1): 255-265. doi: 10.4319/lo.2002.47.1.0255

Hieber M. eta Gessner M.O. (2002). Contribution of stream detritivores, fungi and bacteria to leaf breakdown based on biomass estimates. *Ecology*, 83 (4): 1026-1038. doi: 10.1890/0012-9658(2002)083[1026:COSDFA]2.0.CO;2

Hisdal H., Stahl K., Tallaksen L.M. eta Demuth S. (2001). Have streamflow droughts in Europe become more severe or frequent? *International Journal of Climatology*, 21: 317-333. doi: 10.1002/joc.619

Hoellein T.J., Tank J.L., Rosi-Marshall E.J. eta Entrekin S.A. (2009). Temporal variation in substratum-specific rates of N uptake and metabolism and their contribution at the stream-reach scale. *Journal of the North American Benthological Society*, 28 (2): 305-318. doi: 10.1899/08-073.1

Holetón C., Chambers P.A. eta Grace L. (2011). Wastewater release and its impacts on Canadian waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 68(10): 1836-1859. doi: 10.1139/f2011-096

Izagirre O., Agirre U., Bermejo M., Pozo J. eta Elosegi A. (2008). Environmental controls of whole-stream metabolism identified from continuous monitoring of Basque streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 27 (2): 252-268. doi: 10.1899/07-022.1

Jackson M.C., Loewen C.G., Vinebrooke R.D. eta Chimimba C.T. (2016). Net effects of multiple stressors in freshwater ecosystems: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 22: 180-189. doi: 10.1111/gcb.13028

Jarvie H.P., Sharpley A.N., Withers P.J., Scott J.T., Haggard B.E. eta Neal C. (2013). Phosphorus mitigation to control river eutrophication: Murky waters, inconvenient truths, and “Postnormal” science. *Journal of Environmental Quality*, 42 (2): 295–304. doi:10.2134/jeq2012.0085

Johnson Z.C., Warwick J.J. eta Schumer R. (2015). Nitrogen retention in the main channel and two transient storage zone during nutrient addition experiments. *Limnology and Oceanography*, 60 (1): 57-77. doi: 10.1002/lo.10006

Johnston E.L., Mayer-Pinto M. eta Crowe T.P. (2015). Chemical contaminant effects on marine ecosystem functioning. *Journal of Applied Ecology*, 52 (1): 140-149. doi: 10.1111/1365-2664.12355

Jones B. eta O'Neill B.C. (2016). Spatially explicit global population scenarios consistent with the Shared Socioeconomic Pathways. *Environmental Research Letters*, 11: 084003. doi: 10.1088/1748-9326/11/8/084003

Kasprzyk-Horden B., Dinsdale R.M. eta Guwy A.J. (2009). The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. *Water Research*, 43(2): 363-380. doi: 10.1016/j.watres.2008.10.047

Kuster M., López de Alda M.J., Hernando M.D., Petróvic M., Martín-Alonso J. eta Barceló D. (2008). Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). *Journal of Hydrology*, 358: 112-123. doi: 10.1016/j.jhydrol.2008.05.030

Kuzmanovic M., Ginebreda A., Petrović M. eta Barceló D. (2015). Risk assessment based prioritization of 200 organic micropollutants in 4 Iberian rivers. *Science of the Total Environment*, 503-504: 289-299. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.06.056

Malaj E., von der Ohe P.C., Grote M., Kühne R., Mondy C.P., Usseglio-Polatera P., Brack W. eta Schäfer R.B. (2014). Organic chemicals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111 (26): 9549–9554. doi: 10.1073/pnas.1321082111

Mandaric L., Mor J.R., Sabater S. eta Petrovic M. (2018). Impact of urban chemical pollution on water quality in small, rural and effluent-dominated Mediterranean streams and rivers. *Science of the Total Environment*, 613-614: 763-772. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.128

Merseburger G. C., Martí E., Sabater F. eta Ortiz J.D. (2011). Point-source effects on N and P uptake in a forested and an agricultural Mediterranean streams. *Science of the Total Environment*, 409: 957-967. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.11.014

Meyer J.L., Paul M.J. eta Taulbee W.K. (2005). Stream ecosystem function in urbanizing landscapes. *Journal of the North American Benthological Society*, 24 (3): 602-612. doi: 10.1899/04-021.1

Miserendino M.L., Brand C. eta Di Prinzio C.Y. (2008). Assessing urban impacts on water quality, benthic communities and fish in streams of the Andes Mountains, Patagonia (Argentina). *Water, Air and Soil Pollution*, 194 (1-4): 91-110. doi: 10.1007/s11270-008-9701-4

Mor J.R., Dolédec S., Acuña V., Sabater S. eta Muñoz I. (2019). Invertebrate community responses to urban wastewater effluent pollution under different hydro-morphological conditions. *Environmental Pollution*, 252: 483-492. doi: 10.1016/j.envpol.2019.05.114

Newbold J.D., Elwood J.W., Oneill R.V. eta Vanwinkle W. (1981). Measuring nutrient spiralling in streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38 (7): 860-863. doi: 10.1139/f81-114

Nyman A.M., Hintermeister A., Schirmer K. eta Ashauer R. (2013). The insecticide imidacloprid causes mortality of the freshwater amphipod *Gammarus pulex* by interfering with feeding behavior. *PlosOne*, 8 (5): e62472. doi: 10.1371/journal.pone.0062472

Niyogi D.K., Simon K.S. eta Townsend C.R. (2003). Breakdown of tussock grass in streams along a gradient of agricultural development in New Zealand. *Freshwater Biology*, 48: 1698-1708. doi: 10.1046/j.1365-2427.2003.01104.x

Odum E.P., Finn J.T. eta Franz E.H. (1979). Perturbation theory and the subsidy-stress gradient. *Bioscience*, 29: 349-352. doi: 10.2307/1307690

Pascoal C., Pinho M., Cássio F. eta Gomes P. (2003). Assessing structural and functional ecosystem condition using leaf breakdown: studies on a polluted river. *Freshwater Biology*, 48: 2033-2044. doi: 10.1046/j.1365-2427.2003.01130.x

Pereda O., Acuña V., von Schiller D., Sabater S. eta Elosegi A. (2019). Immediate and legacy effects of urban pollution on river ecosystem functioning: A mesocosm experiment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169: 960-970. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.11.103

Piggott J.J., Townsend C.R. eta Matthaei C.D. (2015). Climate warming and agricultural stressors interact to determine stream macroinvertebrate community dynamics. *Global Change Biology*, 21: 1887-1906. doi: 10.1111/gcb.12861

Posthuma L., Eijackers H., Koelmans J.P.A. eta Vijver M.G. (2008). Ecological effects of diffuse mixed pollution are site-specific and require higher-tier risk assessment to improve site management decisions: a discussion paper. *Science of the Total Environment*, 406 (3): 503-517. doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.06.065

Proia L., Osorio V., Soley S., Köck-Schulmeyer M., Pérez S., Barceló D., Romaní A.M. eta Sabater S. (2013). Effects of pesticides and pharmaceuticals on biofilms in a highly impacted river. *Environmental Pollution*, 178: 220-228. doi: 10.1016/j.envpol.2013.02.022

Proia L., Romaní A.M. eta Sabater S. (2017). Biofilm phosphorus uptake capacity as a tool for the assessment of pollutant effects in river ecosystems. *Ecotoxicology*, 26 (2): 271-282. doi: 10.1007/s10646-017-1761-z

Räisänen J., Hansson U., Ullerstig A., Döscher R., Graham L.P., Jones C., Meier H.E.M., Samuelsson P. eta Willén U. (2004). European climate in the late twenty-first century: regional simulations with two driving global models and two forcing scenarios. *Climate Dynamics*, 22 (1): 13-31. doi: 10.1007/s00382-003-0365-x

Ribot M., von Schiller D., Peipoch M., Sabater F., Grimm N.B. eta Martí E. (2013). Influence of nitrate and ammonium availability on uptake kinetics of stream biofilms. *Freshwater Science*, 32 (4): 1155-1167. doi: 10.1899/12-209.1

Ribot M., von Schiller D., Sabater F. eta Martí E. (2015). Biofilm growth and nitrogen uptake responses to increases in nitrate and ammonium availability. *Aquatic Sciences*, 77(4): 695-707. doi: 10.1007/s00027-015-0412-9

Ricart M., Guasch H., Barceló D., Brix R., Conceição M.H., Geiszinger A., López de Alda M.J., López-Doval J.C., Muñoz I., Postigo C., Romaní A.M., Villagrassa M. eta Sabater S. (2010). Primary and complex stressors in polluted Mediterranean rivers: Pesticide effects of biological communities. *Journal of Hydrology*, 383 (1-2): 52-61. doi: 10.1016/j.jhydrol.2009.08.014

Rice J. eta Westerhoff P. (2017). High levels of endocrine pollutants in US streams during low flow due to insufficient wastewater dilution. *Nature Geoscience*, 10:587-591. doi: 10.1038/ngeo2984

Riis T., Dodds W.K., Kristensen P.B. eta Baisner A.J. (2012). Nitrogen cycling and dynamics in a macrophyte-rich stream as determined by a $^{15}\text{N}-\text{NH}_4^+$ release. *Freshwater Biology*, 57: 1579-1591. doi: 10.1111/j.1365-2427.2012.02819.x Romaní A.M., (2010). Freshwater biofilms. In *Biofouling* (Eds. Dürr S. eta Thomason J.C.). Blacwell Publishing Ltd., Oxford, UK, pp. 137–153. ISBN: 978-1-4051-6926-4

Romaní A.M., (2010). Freshwater biofilms. In *Biofouling* (Eds. Dürr S. eta Thomason J.C.). Blacwell Publishing Ltd., Oxford, UK, pp. 137–153. ISBN: 978-1-4051-6926-4

Romaní A.M., Artigas J. eta Yilla I. (2012). Extracellular enzymes in aquatic biofilms: Microbial interactions versus water quality effects in the use of organic matter, pp. 153-174. In Lear G. eta Lewis G.D. [eds.], from *Microbial biofilms: Current research and applications*. Caister Academic Press, U.K.. ISBN: 978-1-904455-96-7.

Romero F., Sabater S., Timoner X. eta Acuña V. (2018). Multistressor effects on river biofilms under global change conditions. *Science of the Total Environment*, 627: 1-10. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.161

Rosi-Marshall E.J., Snow D., Bartelt-Hunt S.L., Paspalof A. eta Tank J.L. (2015). A review of ecological effects and environmental fate of illicit drugs in aquatic ecosystems. *Journal of Hazardous Materials*, 282: 18-25. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.06.062

Rosi E.J., Bechtold H.A., Snow D., Rojas M., Reisinger A.J. eta Kelly J.J. (2018). Urban stream microbial communities show resistance to pharmaceutical exposure. *Ecosphere*, 9 (1): e02041. doi: 10.1002/ecs2.2041

Sabater S., Barceló D., De Castro-Catalá N., Ginebreda A., Kuzmanovic M., Petrovic M., Picó Y., Ponsatí L., Tornés E. eta Muñoz I. (2016). Shared effects of organic microcontaminants and environmental stressors on biofilms and invertebrates in impaired rivers. *Environmental Pollution*, 210: 303-314. doi: 10.1016/j.envpol.2016.01.037

Sabater S., Bregoli F., Acuña V., Barceló D., Eloegi A., Ginebreda A., Marcé R., Muñoz I., Sabater-Liesa L. eta Ferreira V. (2018a). Effects of human-driven water stress on river ecosystems: a meta-analysis. *Scientific Reports*, 8 (11462): 1-11. doi: 10.1038/s41598-018-29807-7

Sabater S., Elosegi A. eta Ludwig R. (2018b). Multiple stressors in river ecosystems. *Status, impacts and prospects for the future*. (Eds. Sabater S., Elosegi A eta Ludwig R.), Elsevier, pp. 404. ISBN: 978-0-12-811713-2. doi: 10.1016/C2016-0-01770-9

Segner H., Schmitt-Jansen M. eta Sabater S. (2014). Assessing the impacts of multiple stressors on aquatic biota: The receptor's side matters. *Environmental Science & Technology*, 48: 7690-7696. doi: 10.1021/es405082t

Solagaistua L., de Guzmán I., Barrado M., Mijangos L., Etxebarria N., García-Baquero G., Larrañaga A., von Schiller D. eta Elosegi A. (2018). Testing wastewater treatment plant effluent effects on microbial and detritivore performance: A combined field and laboratory experiment. *Aquatic Toxicology*, 203: 159-171. doi: 10.1016/j.aquatox.2018.08.006

de Solla S.R., Gilroy È.A.M., Klinck J.S., King L.E., McInnis R., Struger J., Backus S.M. eta Gillis P.L. (2016). Bioaccumulation of pharmaceuticals and personal care products in the unionid mussel *Las�igona costata* in a river receiving wastewater effluent. *Chemosphere*, 146: 486-496. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.12.022

Spähhoff B., Bischof R., Böhme A., Lorenz S., Neumeister K., Nöthlich A. eta Küsel K. (2007). Assessing the impact of effluents from a Modern waste water treatment plan on breakdown of coarse particulate organic matter and benthic macroinvertebrates in a lowland river. *Water, Air & Soil Pollution*, 180: 119-129. doi: 10.1007/s11270-006-9255-2

Stehle S. eta Schulz R. (2015). Agricultural insecticides threaten surface waters at the global scale. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112 (18): 5750–55. doi: 10.1073/pnas.1500232112

Stelzer R.S., Heffernan J. eta Likens G.E. (2003). The influence of dissolved nutrients and particulate organic matter quality on microbial respiration and biomass in a forest stream. *Freshwater Biology*, 48: 1925-1937. doi: 10.1046/j.1365-2427.2003.01141.x

Stevenson R.J. eta Sabater S. (2010). Understanding global change in river ecosystems: science to support policy in a changing world. *Hydrobiologia*, 657 (1): 3-18. doi: 10.1007/s10750-010-0392-7

Subirats J., Triadó-Margarit X., Mandaric L., Acuña V., Balcázar J.L., Sabater S. eta Borrego C.M. (2017). Wastewater pollution differently affects the antibiotic resistance gene pool and biofilm bacterial communities across streambed compartments. *Molecular Ecology*, 26 (20): 5567-5581. doi: 10.1111/mec.14288

Vaz-Moreira I., Nunes O.C. eta Manaia C.M. (2014). Bacterial diversity and antibiotic resistance in water habitats: Searching the links with the human microbiome. *FEMS Microbiology Reviews*, 38: 761-778. doi: 10.1111/1574-6976.12062

von Schiller D., Martí E., Riera J.Ll. eta Sabater F. (2007). Effects of nutrients and light on periphyton biomass and nitrogen uptake in Mediterranean streams with contrasting land uses. *Freshwater Biology*, 52 (5): 891-906. doi: 10.1111/j.1365-2427.2007.01742.x

Vörösmarty C.J., McIntyre P.B., Gessner M.O., Dudgeon D., Prusevich A., Green P., Glidden S., Bunn S.E., Sullivan C.A., Reidy Liermann C. eta Davies P.M. (2010). Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature*, 555-561. doi: 10.1038/nature09440

Wagenhoff A., Lange K., Townsend C.R. eta Matthaei C.D. (2013). Patterns of benthic algae and cyanobacteria along twin-stressor gradients of nutrient and fine sediment: a stream mesocosm experiment. *Freshwater Biology*, 58: 1849-1863. doi: 10.1111/fwb.12174

Wagner M., Scherer C., Alvarez-Muñoz D., Brennholt N., Bourrain X., Buchinger S., Fries E., Grosbois C., Klasmeier J., Marti T., Rodriguez-Mozaz S., Urbatzka R., Vethaak A.D., Winther-Nielsen M. eta Reifferscheid G. (2014). Microplastics in freshwater ecosystems: what we know and what we need to know. *Environmental Sciences Europe*, 26: 12. doi: 10.1186/s12302-014-0012-7

Walsh C.J., Roy A.H., Fominella J.W., Cottingham P.D., Groffman P.M. eta Morgan II R.P. (2005). The urban stream syndrome: current knowledge and the search for a cure. *Journal of the North American Benthological Society*, 24 (3): 706-723. doi: 10.1899/04-028.1

WHO (World Health Organization) eta UNICEF (United Nations Children's Foundation) (2017). Progress on drinking water, sanitation and hygiene: 2017 update and SDG baselines. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. ISBN: 978-92-4-151289-3.

Withers P.J.A. eta Jarvie H.P. (2008). Delivery and cycling of phosphorus in rivers: a review. *Science of the Total Environment*, 400 (1-3): 379-395. doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.08.002

Wood P.J. eta Armitage P.D. (1997). Biological effects of fine sediment in the lotic environment. *Environmental Management*, 21 (2): 203–221. doi: 10.1007/s002679900019

Young R.G., Matthaei C.D. eta Townsend C.R. (2008). Organic matter breakdown and ecosystem metabolism: functional indicators for assessing river ecosystem health. *Freshwater Science*, 27 (3): 605-625. doi: 10.1899/07-121.1

6. KAPITULUA

Ondorio Orokorrak



1. Tesi honetan zehar aztertutako isurketa urbanoek pH eta oxigeno disolbatuaren kontzentrazio baxuak, baina eroankortasun elektriko altuak zituzten. Horrez gain, mantenugaien eta bestelako mikro-kutsatzaileen kontzentrazio altuak zituzten, hala nola, produktu farmazeutikoa eta metal astunena.
2. Isurketa urbanoek esangarriki eraldatu zuten aztertutako erreken funtzionamendua. Orokorrean, neurtutako ekosistema-mailako prozesu gehienak emendatu zituzten, nahiz eta erantzun-patroi konplexu eta espezifikoak jarraitu.
3. Behaketa bidezko landa-hurbilketak erantzun-patroi konplexuak erakutsi zituen erreka mediterraneoen funtzionamenduan, batik bat kutsadura urbanoaren eta ur-eskasiaren arteko elkarrekintzaren ondorioz. Deskribatutako erlaziorik esangarrienak konposatu farmazeutiko aktiboekin agertzen ziren, isurketa urbanoen izaera konplexuak kausalitate erlazio zuzenak ezartzea eragotzi zuen arren.
4. Manipulazio bidezko landa-hurbilketak azpimarratu zuen isurketa urbanoek, nahiz eta oso diluituta egon sistema hartzalean, ondorio oso konplexuak eragin ditzaketela ekosistemaren egitura eta funtzionamenduan, zeinak agian oharkabeen mantenduko liratekeen baldintza esperimental ez hain zorrotzeten.
5. Oro har, bi landa-esperimentuek erakutsi zuten isurketa urbanoek ekosistema-mailako prozesu gehienak emendatu zituztela, biofilmaren mantenugaiak atxikitzeko gaitasunaren salbuespen bakarrarekin. Eta gainera, argi uzten dute biofilm-mailako erantzunak eta ekosistema-mailakoak desberdinak izan daitezkeela.
6. Kutsadura gradiente osoa bildu zuen laborategi esperimentuak ez zuen subsidio-estres moduko erantzun-patroi orokorrik sortu, neurtutako prozesu gehienak kutsadura kontzentrazioarekiko emendatu egin baitziren. Aurresan genezake, agian, subsidio-estres motako erantzun-patroiak aurkituko liratekeela gutxiago tratatutako isurketen kasuan.
7. Emaitza hauek aditzera ematen dute berebiziko garrantzia duela erreka eta ibai hartzaleen diluzio-gaitasuna mantentzeak. Gainera, orain arte dauden tratamendu prozesuak hobetu beharko liratekeela iradokitzen dute, modu horretan kutsatzaile nahasketa konplexu horien inpaktu ekologikoak murrizteko.

