



Universidad de Granada

Facultad de Ciencias

Departamento de Zoología

Diversidad, estrategias vitales y filogeografía de especies sensibles al cambio climático:

Tricópteros en el Parque Nacional de Sierra Nevada

*Biodiversity, life history and phylogeography of sensitive species to climate change:
Trichoptera in the Sierra Nevada National Park*

Marta Sáinz Bariáin

TESIS DOCTORAL

2014

Programa de Doctorado: Biología Fundamental y de Sistemas



Universidad de Granada

Facultad de Ciencias

Departamento de Zoología

**Diversidad, estrategias vitales y
filogeografía de especies sensibles al
cambio climático:**

**Tricópteros en el Parque Nacional de
Sierra Nevada**

*Biodiversity, life history and phylogeography of sensitive species to climate
change: Trichoptera in the Sierra Nevada National Park*

Marta Sáinz Bariáin

TESIS DOCTORAL

Granada, 2014

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Marta Sáinz Bariáin
D.L.: GR 2041-2014
ISBN: 978-84-9083-226-4

DIVERSIDAD, ESTRATEGIAS VITALES Y
FILOGEOGRAFÍA DE ESPECIES SENSIBLES AL
CAMBIO CLIMÁTICO: TRICÓPTEROS EN EL
PARQUE NACIONAL DE SIERRA NEVADA

Biodiversity, life history and phylogeography of sensitive species to
climate change: Trichoptera in the Sierra Nevada National Park

Memoria presentada por la Licenciada Marta Sáinz Bariáin para optar al
Grado de Doctora en Biología por la Universidad de Granada.

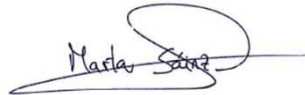
Tesis realizada bajo la dirección de la Dra. Carmen Zamora Muñoz

VºBº Directora



Fdo.: Dra. Carmen Zamora Muñoz

La doctoranda



Fdo.: Lda. Marta Sáinz Bariáin

Granada, 23 de junio de 2014

La Dra. Carmen Zamora Muñoz, Profesora Titular de la Universidad de Granada

CERTIFICA:

Que los trabajos de investigación desarrollados en la Memoria de Tesis Doctoral: “Diversidad, estrategias vitales y filogeografía de especies sensibles al cambio climático: Tricópteros en el Parque Nacional de Sierra Nevada”, son aptos para ser presentados por la Lda. Marta Sáinz Bariáin ante el Tribunal que en su día se designe, para optar al Grado de Doctora por la Universidad de Granada.

Y para que así conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, extiendo el presente certificado a 23 de junio de 2014.



Fdo.: Dra. Carmen Zamora Muñoz

*La doctoranda, **Marta Sáinz Bariáin** y la directora de la tesis, **Carmen Zamora Muñoz***

GARANTIZAMOS:

Que el trabajo ha sido realizado por la doctoranda bajo la dirección de la directora de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, **se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.**

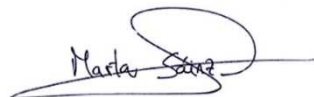
Granada, 23 de junio de 2014

La Directora



Fdo.: Dra. Carmen Zamora Muñoz

La doctoranda



Fdo.: Lda. Marta Sáinz Bariáin

Este trabajo estuvo financiado por el proyecto “Diversidad, estrategias vitales y filogeografía de especies sensibles al cambio climático: Tricópteros en el Parque Nacional de Sierra Nevada” concedido por el Organismo Autónomo de Parques Nacionales del Ministerio de Medio Ambiente de España, ref.: 39/2007.

Durante el tiempo de realización de esta Tesis Doctoral, la doctoranda ha disfrutado de una beca del programa de Ayudas Predoctorales para realizar una Tesis Doctoral del Gobierno de Navarra, desde septiembre de 2008 hasta agosto de 2012.

Además se le concedió una beca financiada por el “Research Council of Norway” (Programa: Yggdrasil) para llevar a cabo el proyecto titulado “Life history strategies of *Annitella obscurata* (Trichoptera: Limnephilidae) in Norway” en el “Natural History Museum” de Oslo donde realizó una estancia breve bajo la dirección del Profesor John E. Brittain desde marzo a septiembre de 2010.

La investigación presentada en esta Tesis Doctoral se ha realizado en el Grupo de investigación de la Junta de Andalucía denominado Biología y ecología animal de medios acuáticos lóticos (RNM-102) del Departamento de Zoología de la Universidad de Granada.

A mi familia



Zalba (Navarra)

*Borders? I have never seen one.
But I have heard they exist in the minds
of some people.*

Thor Heyerdahl (1914-2002)



Museo Kon-Tiki, Oslo, Noruega

Gracias

A todas aquellas personas con las que durante estos años he tenido la oportunidad de compartir parte del tiempo invertido en esta tesis por su ánimo, cariño y confianza. A todos los que perdieron parte de su tiempo en hacer el mio más agradable y a todos los que se preocuparon porque este trabajo saliera adelante.

A Carmen, mi directora de tesis, por la ayuda y la confianza depositada en mí. Gracias por los consejos que siempre me has dado y por tu preocupación para que durante estos años no solo realizara la tesis sino que lo complementara con otras actividades que me han servido para aprender tanto profesional como personalmente. A pesar de muchas dificultades, al final pudimos sacar el trabajo adelante. A Juan por tu ayuda con los análisis y por la preocupación por cómo iba mi trabajo durante estos años. A Carmen y Cristina por las veces que nos acompañaron al campo y la alegría que transmiten.

A mis compañeros del grupo de investigación con los que he compartido tan buenos ratos. A Javier, por tratarme siempre como tu “nieta en la investigación” y por todos los buenos consejos mientras compartimos despacho. A Manolo, mi primer tutor del DEA por la ayuda que siempre me has ofrecido y el cariño que me has transmitido durante estos años y porque siempre era un buen momento para hablar un rato. Gracias también por estar siempre pendiente de si pudiera necesitar ayuda, sobre todo a la hora de hacer el depósito. A Careli porque siempre has tenido palabras agradables para mí y has confiado más que yo en que pudiera terminar esta tesis. Además, parte del trabajo no se podría haber llevado a cabo si no hubieras conservado tan bien el material de la tesis, gracias! A Manu porque siempre que te he pedido consejo me has ayudado con una sonrisa y sin poner nunca mala cara a pesar de que tú también tenías que sacar adelante tu trabajo. A Virginia, por ayudarme con los tricópteros al principio de mi estancia en el laboratorio y porque a pesar de la distancia siempre has mostrado interés no sólo por mi trabajo sino

también por cómo estaba. A Nacho, por los buenos ratos en el laboratorio y los ánimos y alegría que transmites.

A Pepa, Marta, Patrizia, Mode y Alejandra por los buenos momentos que hemos pasado en el laboratorio, el campo y fuera de la Universidad. A Pepa, por tu paciencia, ayuda y cariño que me has transmitido siempre. A Marta por los consejos y agonías que compartimos en el laboratorio y por los buenos ratos que hemos pasado delante de una cerveza y las noches subrealistas “rompiendo hielo” y demás. A Patrizia porque durante este tiempo me has ayudado muchísimo, tanto en el trabajo como en lo personal. Gracias por los consejos y por abrirme los ojos tantas veces. A Mode, por aguantar los últimos dos meses de campo, todo un mérito, por tus ánimos y buenos consejos. Y gracias por hacer de chófer más de una vez. A Alejandra por hacer que el muestreo durante un año complicado se hiciera tan llevadero. Gracias por confiar en mi criterio y por apoyarme en los momentos de bajón. Tampoco puedo olvidarme de Æon, la tercera compañera de campo y quien se encargaba de colocar al azar los “jules”.

A Belén, Susana (a la que también quiero agradecerle su ayuda con los análisis de la fotosíntesis), Ramón, Eulogio, Moba, Mati, Javi... por acogermme a la hora del café y haber compartido conmigo otros buenos momentos que me llevo como recuerdo.

A mis compañeros de departamento. A pesar de que durante unos años fui el “fantasma del departamento”, me quedan muy buenos recuerdos de todos ellos. Gracias a Alberto, Paqui, Juanga, Cristina, Adela, Luis, José Miguel, Carmen Hidalgo, Juan Diego, Olivia y a todos los demás que siempre estuvistéis pendientes de mi trabajo y mostrastéis tanto interés en cómo me iba. Gracias a mis compañeros de becaría; Merche, Senda, Elena, Quique, Óscar, Maribel... por los ánimos en la última etapa. En especial, a Merche porque has sido la mejor compañía que se puede

tener en la última etapa. Al final lo celebramos juntas! Gracias a Manolo y a Javi por vuestra ayuda cuando la he necesitado.

A Núria, gracias por ofrecer tu ayuda y echarme una mano siempre que te lo he pedido. A Cesc, gracias por tus consejos y por todo lo que aprendí en Londres trabajando contigo. Además, a Cesc, junto con Stefano Fenoglio, gracias por los informes que os pedí con tan poco tiempo. A John Brittain y Louis Boumans del NHM de Oslo. Gracias por vuestra ayuda en el campo en los muestreos en Noruega. John, gracias por acogerme en el museo y mover tierra y cielo para que yo estuviera cómoda. Gracias al resto de compañeros del museo. A Alfried Vogler del NHM de Londres por acogerme en su laboratorio y ser tan amable conmigo durante las semanas que trabajé con él. Gracias al resto de compañeros de Londres con los que pasé buenos ratos también fuera del museo. A Jesús Martínez por tu ayuda para la localización de las especies del norte. A Marija Ivkovic por estar siempre pendiente de mi tesis y al tanto de si pudiera necesitar tu ayuda. A los miembros de Hydraena por la ayuda en los muestreos de algunas localidades. A todos los que alguna vez me acompañaron al campo; Julio, Isabel, Maria Luisa, Juan, Carmen, Cristina, Manu, Yanira, Crisitna, Victor, Óscar, María, Rubén, Patrizia, Mode (no como técnico). Así como a las personas que trabajan en el Parque Nacional de Sierra Nevada por toda la ayuda que me han brindado cuando he necesitado apoyo logístico para visitar alguna de las localidades.

A Fátima, María, Rubén, Cristina, Amaia, Mónica y Adriana por seguir demostrándome cariño después de tantos años. Por apoyarme en los momentos de bajón y animarme y por los buenos ratos que hemos pasado.

A mi familia porque sé que son lo que siempre han estado ahí y los que sé que nunca me fallarán aunque yo siempre pueda mejorar. A mis padres porque siempre han creído en mí y han hecho todo lo que ha estado en sus manos y un poco más por ayudarme. A mi padre por acompañarme unos días al campo y hacer el

“jules” y a mi madre por acompañarme a Granada cuando todavía no sabía ni que iba a poder hacer aquí. A mi tío, del que todavía tengo mucho que aprender, gracias por ser un tercer padre. A mis hermanos, Eduardo, Isabel y Elena, gracias por vuestro cariño y por los buenos consejos, la ayuda en lo que habéis podido y por hacer que la vida sea más llevadera. Y a mis tías Ángeles y Carmen por vuestra preocupación, cariño y ánimo.

Marta

BLOQUE INTRODUCTORIO	7
Resumen	9
RESUMEN	11
ABSTRACT	13
Introducción general	17
INTERÉS DEL TEMA Y ANTECEDENTES	19
ESTRUCTURA Y OBJETIVOS DE LA TESIS	36
Material y métodos	39
ÁREAS DE ESTUDIO	41
MATERIAL ESTUDIADO	43
<i>Revisión bibliográfica y estudio de material de colección</i>	43
<i>Muestreos de tricópteros</i>	43
DATOS MEDIOAMBIENTALES	48
<i>Toma de datos y análisis de muestras medioambientales</i>	48
<i>Datos históricos de caudal en Sierra Nevada</i>	50
METODOLOGÍA Y ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	50
<i>Identificación de tricópteros</i>	50
<i>Descripciones larvarias</i>	51
<i>Descripción de ciclos de vida y estudio de estrategias vitales</i>	51
<i>Caracterización y estudio del hábitat de las especies endémicas</i>	52
<i>Análisis genéticos y filogenéticos</i>	53
<i>Evaluación del esfuerzo de muestreo realizado entre décadas</i>	55
<i>Estudio del efecto del cambio climático en las condiciones ambientales de los ríos de Sierra Nevada</i>	55
<i>Estudio del efecto del cambio climático sobre la riqueza y distribución de tricópteros de Sierra Nevada</i>	56
Resultados y discusión	57
BLOQUE 1: Diversidad de tricópteros en Sierra Nevada.....	59
<i>Listado faunístico</i>	59
<i>Descripciones larvarias</i>	65
BLOQUE 2: Estrategias vitales de especies endémicas	72
<i>Caracterización y estudio del hábitat de las especies endémicas</i>	72
<i>Descripción de los ciclos de vida y estudio de las estrategias vitales</i>	79

BLOQUE 3: Filogenia de la subfamilia Limnephilinae y análisis genéticos poblacionales de dos especies europeas del género <i>Annitella</i>	82
<i>Estudio poblacional de A. esparraguera y A. iglesiasi y vulnerabilidad ante el cambio global</i>	82
<i>Análisis filogenético del género Annitella</i>	83
BLOQUE 4: Los tricópteros como indicadores del cambio global.....	89
<i>Efecto del cambio climático en las condiciones ambientales de los ríos de Sierra Nevada</i>	89
<i>Efecto del cambio climático sobre la riqueza y distribución de tricópteros de Sierra Nevada</i>	91
Conclusiones	99
CONCLUSIONES.....	101
CONCLUSIONS	103
Bibliografía	107
BIBLIOGRAFÍA	109
Anexos	123
ANEXO 1: Localización de las estaciones de muestreo en Sierra Nevada y Sierra de Baza	125
ANEXO 2: Localización de procedencia del material del género <i>Annitella</i> distinta a Sierra Nevada y Sierra de Baza.....	128
ANEXO 3: Localización de las especies colectadas durante los muestreos realizados en los años 2008 y 2009 en el Espacio Natural de Sierra Nevada	129
<hr/>	
BLOQUE 1: DIVERSIDAD DE TRICÓPTEROS EN SIERRA NEVADA	141
<hr/>	
Capítulo 1. Los Tricópteros (Trichoptera)	143
RESUMEN-ABSTRACT	145
INTRODUCCIÓN	147
MATERIAL Y MÉTODOS	149
RESULTADOS	151
<i>Listado comentado de especies</i>	151
DISCUSIÓN.....	173
AGRADECIMIENTOS.....	175
BIBLIOGRAFÍA	176
ANEXO 1: Localización de las estaciones muestreadas	181

Capítulo 2. The larva and life history of *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875) (Trichoptera: Limnephilidae) in high mountain streams (Sierra Nevada, Spain) and key to the Iberian larvae of the genus..... 189

ABSTRACT	191
INTRODUCTION	193
MATERIAL AND METHODS.....	194
RESULTS AND DISCUSSION.....	197

Description of the final (5th) instar larva and case..... 197

Taxonomic remarks..... 201

Identification key..... 202

Habitat, ecological preferences and life cycle..... 204

ACKNOWLEDGEMENTS..... 207

REFERENCES..... 208

Capítulo 3. Larval description of *Annitella esparraguera* (Schmid, 1952) and *Annitella iglesiasi* González & Malicky, 1988 (Trichoptera: Limnephilidae), two endemic species from Southern Europe 211

ABSTRACT

INTRODUCTION

MATERIAL AND METHODS.....

RESULTS AND DISCUSSION.....

*Description of the final (5th) instar larva and case of *Annitella esparraguera* and *Annitella iglesiasi*.....* 218

Taxonomic remarks..... 228

Identification key..... 229

Habitat and ecological preferences..... 231

ACKNOWLEDGEMENTS..... 232

REFERENCES..... 232

BLOQUE 2: ESTRATEGIAS VITALES DE ESPECIES ENDÉMICAS 235

Capítulo 4. Life-history strategies of two endemics and one widespread species of genus *Annitella* Klapálek, 1907 (Trichoptera; Limnephilidae)..... 237

ABSTRACT

INTRODUCTION

MATERIAL AND METHODS.....

Study area..... 244

Sampling methods..... 246

Laboratory procedures..... 248

RESULTS..... 249

<i>Annitella</i> species distribution and characteristics of the habitat.....	249
<i>Life cycle of Annitella species</i>	258
DISCUSSION	262
ACKNOWLEDGEMENTS	265
REFERENCES	265
APPENDIX.....	271

BLOQUE 3: FILOGENIA DE LA SUBFAMILIA LIMNEPHILINAE Y ANÁLISIS GENÉTICOS POBLACIONALES DE DOS ESPECIES EUROPEAS DEL GÉNERO *ANNITELLA* **277**

Capítulo 5. Integrating evolutionary history, species distribution and population dynamics for predicting species vulnerability to extinction of two endemic species of *Annitella* (Trichoptera: Limnephilidae) in the Sierra Nevada (Iberian Peninsula) **279**

ABSTRACT	281
INTRODUCTION	283
MATERIAL AND METHODS.....	287
<i>Study sites and habitat preferences of A. esparraguera and A. iglesiasi</i>	287
<i>Intraspecific genetic structure of A. esparraguera and A. iglesiasi</i>	290
<i>Phylogenetic analysis</i>	291
RESULTS	293
DISCUSSION	297
ACKNOWLEDGEMENTS.....	301
REFERENCES	302

BLOQUE 4: LOS TRICÓPTEROS COMO INDICADORES DEL CAMBIO GLOBAL **307**

Capítulo 6. Effects of climate change in Mediterranean high mountain Trichoptera over a 20-year period **309**

ABSTRACT	311
INTRODUCTION	313
MATERIAL AND METHODS.....	316
<i>Study area</i>	316
<i>Biological data collection</i>	317
<i>Ecological data collection</i>	318
<i>Statistical analyses</i>	319
RESULTS	322
<i>Inter-year variation in discharge</i>	322

Biodiversity and climate change 323
Altitudinal distribution of caddisfly species 327
DISCUSSION 328
ACKNOWLEDGEMENTS 333
REFERENCES 333
APPENDIX 341

BLOQUE INTRODUCTORIO



Río Guarnón, primavera 2009

Resumen



Barranco de Manuel Casas, primavera 2009

RESUMEN

Sierra Nevada es un Espacio Natural que representa a la alta montaña mediterránea. Por su elevado rango altitudinal, climatología y por albergar una elevada biodiversidad resulta un lugar ideal para testar los efectos del cambio climático. Especialmente vulnerables van a ser sus ecosistemas fluviales, afectados por las extremas condiciones climáticas de inviernos nevados y relativamente frecuentes sequías estivales. Se espera que dichos efectos sean especialmente severos en especies de alta montaña con un estrecho rango de distribución. El objetivo general de esta tesis doctoral es ampliar el conocimiento del orden Trichoptera en el sur de la Península, en concreto en dicho Espacio Natural de Sierra Nevada, y aplicar dicho conocimiento en la utilización de los tricópteros como indicadores del cambio global. Para ello se ha realizado un estudio en profundidad de este grupo de insectos en el macizo desde un punto de vista faunístico, zoogeográfico, genético y ecológico.

Los resultados obtenidos durante el desarrollo de esta tesis se han agrupado en bloques temáticos según los objetivos particulares planteados. En el **Bloque 1**, encaminado a estudiar la diversidad real del orden Trichoptera en Sierra Nevada, se presenta una revisión faunística de las especies presentes en el macizo así como herramientas para su identificación. Concretamente la descripción de la fase larvaria de algunas especies y la construcción de nuevas claves taxonómicas. Así, se amplía a 42 el número de especies citadas en Sierra Nevada, de las que el 21% corresponden a endemismos ibéricos. Además se presenta el estudio morfológico de las larvas de último estadio de tres especies de la familia Limnephilidae, *Stenophylax nycterobius*, *Annitella esparraguera* y *A. igleiasi*, las dos últimas endémicas del sur peninsular. Se aportan a su vez datos sobre la biología, ecología y vulnerabilidad de dichas especies. En el **Bloque 2** se amplía el conocimiento de las dos especies de alta-media montaña, endémicas de las sierras Béticas orientales, pertenecientes al género *Annitella*. Se describen sus ciclos de vida y estrategias vitales en varias localidades de estudio y se comparan con las de la única especie del mismo género que

presenta un amplio rango de distribución y que fue estudiada en Noruega. Los resultados muestran que las tres especies presentan un ciclo de vida univoltino, pero sus poblaciones tienen estrategias vitales diferentes dependiendo de las condiciones ambientales de los ríos en que se desarrollan. Así en las localidades situadas a mayor altitud en Sierra Nevada y en las localidades situadas en Noruega, con unas condiciones climáticas alpinas similares, el desarrollo del ciclo es más rápido. Las larvas crecen a mayor velocidad en los meses de verano y los adultos emergen a finales de verano. Sin embargo en las localidades situadas en Sierra Nevada a menor altitud y en la Sierra de Baza, donde el clima es propiamente mediterráneo, las larvas presentan un ciclo vital más lento y los adultos emergen en otoño. En el **Bloque 3** se estudia la estructura genética y el grado de aislamiento de las poblaciones de las dos especies del género endémicas de las sierras Béticas orientales (*A. esparraguera* y *A. iglesiasi*), para conocer el riesgo al que podrían estar sometidas ante los efectos del cambio climático. El estudio genético de sus poblaciones en Sierra Nevada indica la fuerte vulnerabilidad de estas dos especies al presentar una distribución muy localizada y un escaso flujo genético entre sus poblaciones. Además se realiza el estudio filogenético del género *Annitella*, formado por 14 especies, la mayoría endemismos de distintos sistemas montañosos europeos. En el **Bloque 4** se estudia si en los últimos 20 años se produjeron variaciones en las condiciones ambientales de los ríos de Sierra Nevada (concretamente en la temperatura del agua y el caudal fluvial), achacables al cambio global, y su posible efecto sobre la comunidad de tricópteros. Los resultados muestran que la temperatura media del agua de los ríos de Sierra Nevada aumentó cerca de 2 °C en dicho periodo, que el caudal de los ríos disminuyó y dichos cambios fueron acompañados por un aumento de la riqueza de especies de tricópteros. Este aumento fue más acentuado al incrementar la altitud, presentando un máximo en altitudes intermedias, como consecuencia de la ampliación del rango de distribución de especies de tramos medios hacia cotas más elevadas y de colonización desde sierras próximas.

Los resultados de esta tesis doctoral ponen de manifiesto la vulnerabilidad de la biodiversidad acuática en Sierra Nevada y sugieren que, durante periodos de cambio climático, las montañas con un amplio gradiente altitudinal podrían funcionar como refugio de especies y poblaciones. Es relevante, por tanto, desarrollar estrategias de conservación que en particular consideren a los ecosistemas fluviales del macizo.

ABSTRACT

Sierra Nevada represents the Mediterranean high mountains into the Iberian National Parks. This is an ideal place to test the effects of climate change for its high biodiversity and the elevated altitude and climate gradient. River ecosystems are especially vulnerable to climate change in this particular area due to the extreme climate conditions of snowy winters and relatively frequent summer droughts. It is expected that these effects will be especially severe in high mountain species with a narrow distribution range. The main objective of this thesis is to extend current knowledge of the order Trichoptera in the south of the Iberian Peninsula, particularly in such Natural Area of Sierra Nevada. A thorough study was made of this group of insects in the massif from different points of view; faunistic, zoogeographic, genetic and ecological. Especial attention was paid to the possible use of Trichoptera as indicators of global change.

The results obtained during the development of this thesis have been grouped into thematic sections according to the specific objectives proposed. **Section 1** includes a faunistic review of the species present in the Sierra Nevada as well as key-tools for identification. Thus, this block is aimed at studying the actual diversity of the order Trichoptera in the Sierra Nevada, specifically, the description of the larval stage of some species and the construction of new taxonomic keys. Results showed that 42 species are recorded in the massif, of which 21 % are endemic of the Iberian Peninsula. Besides, it includes the morphological study of the last instar larvae of three species of Limnephilidae family, *Stenophylax nycterobius*, *A. esparraguera* and *A.*

iglesiassi, the last two are endemics to the Betic ranges. Recorded information on the biology, ecology and vulnerability of these species are included. **Section 2** expands the knowledge of the two endemic species of high-mid-mountain from the eastern Betic ranges belonging to the genus *Annitella*, *A. esparraguera* and *A. iglesiassi*. The life cycles and life history of these species are described and compared with the only species of the same genus that has a wide distribution range and was studied in Norway. The results show that the three species have a univoltine life cycle, but differences in the life history depending on their altitude and environmental conditions were detected. In Norwegian localities as well as in those at high altitude in the Sierra Nevada, with similar climatic conditions, the life cycle is faster. The larvae grow faster in the summer months and adults emerge in late summer. However in localities at lower altitude in the Sierra Nevada and the Sierra de Baza, with typical Mediterranean climatic conditions, the larvae have a slower life cycle and the adults emerge in autumn. In **Section 3**, the genetic structure and the degree of isolation by distances of populations of the two endemic species in the eastern Betic ranges (*A. esparraguera* and *A. iglesiassi*) are studied to evaluate their vulnerability due to the climate change. Genetic studies of populations indicate a strong vulnerability of these species to climate change in the Sierra Nevada because of their restricted distribution and the low gene flow between populations. Besides, a phylogenetic study of the genus *Annitella*, comprising 14 species, most of them endemic to different European mountain systems is performed. **Section 4** examines whether environmental conditions of the rivers of the Sierra Nevada (specifically water temperature and river flow) have changes during the last 20 years and its relationship with changes in the community of caddisflies. The results show that the average temperature of water in the rivers of Sierra Nevada rose about 2 °C during this period, the river flow decreased, and these changes were accompanied by an increase in species richness of caddisflies. This increase in species richness was more pronounced with increasing altitude, with its maximum at intermediate

altitudes, which may be explained as a consequence of climate change inducing the expansion of the species distribution range of middle reaches towards higher levels and colonization from nearby mountain ranges.

The results of this thesis highlight the vulnerability of aquatic biodiversity in the Sierra Nevada and suggest that, during periods of climate change, mountains with a wide altitudinal gradient could act as a refuge for species and populations. Therefore, developing conservation strategies that consider especially the riverine ecosystems of the massif is of prime importance.

Introducción general



Barranco de los Pasillos, primavera 2008

INTERÉS DEL TEMA Y ANTECEDENTES

En la presente tesis doctoral se realiza un estudio del orden Trichoptera en Sierra Nevada desde un punto de vista faunístico, zoogeográfico, genético, ecológico y aplicado a la utilización de este grupo de insectos como indicadores del cambio global.

El cambio global hace referencia al impacto de la actividad humana sobre el funcionamiento de la biosfera. Bajo este término se incluyen aquellas actividades que, aunque ejercidas localmente, tienen efectos que trascienden el ámbito local o regional para afectar el funcionamiento global del sistema Tierra, como la destrucción, fragmentación y sobreexplotación de los ecosistemas, la entrada de especies invasoras y pérdida de biodiversidad, la alteración de los ciclos biogeoquímicos, los cambios del uso del suelo y especialmente, la actuación del hombre sobre el sistema climático global (Duarte, 2006). El cambio climático, uno de los componentes del cambio global, se refiere al efecto de la actividad humana sobre el sistema climático global, que siendo consecuencia del cambio global afecta, a su vez, a otros procesos fundamentales del funcionamiento del sistema Tierra, como por ejemplo, el ciclo hidrológico o perturbaciones en los ciclos de los elementos (Duarte, 2006).

El cambio climático está produciendo graves efectos tanto en los ecosistemas terrestres como acuáticos. Durante los últimos 150 años, la temperatura del aire ha aumentado globalmente alrededor de 0,8 °C, los patrones de lluvia están cambiando, los glaciares se están derritiendo a un ritmo acelerado y el nivel del mar está subiendo (IPCC, 2007; EEA, 2008). Se ha detectado que este calentamiento global del Planeta está afectando a especies tanto vegetales como animales, cambiando su fenología, sus rangos de distribución y la composición y dinámica de sus comunidades (Walther *et al.*, 2002; Menéndez *et al.*, 2006). Además las proyecciones futuras sobre el cambio climático no son nada optimistas, advirtiendo de una gran pérdida de biodiversidad global a lo largo de los próximos 50 años (Jenkins, 2003;

Thuiller, 2004).

Uno de los puntos calientes (“hotspots”) de biodiversidad más vulnerables del mundo es la Cuenca Mediterránea (Malcolm *et al.*, 2006; Cuttelod *et al.*, 2008). Aunque se han desarrollado numerosos planes internacionales y locales para preservar la biodiversidad en las regiones mediterráneas, todas estas áreas están actualmente amenazadas por una gran variedad de factores, como la fragmentación del hábitat, las especies invasoras, la contaminación y el cambio global. Las cinco partes del Mundo catalogadas como regiones mediterráneas (Cuenca Mediterránea, costa de California, Chile central, región del Cabo en Sudáfrica y algunas partes del sudoeste y sur de Australia) vienen definidas por el clima mediterráneo, que presenta una elevada estacionalidad en los patrones de precipitación y temperatura, con predominio de veranos cálidos y secos e inviernos fríos y húmedos (Köppen, 1936, en (Bonada & Resh, 2013). En general, se piensa que las regiones con clima mediterráneo serán especialmente sensibles al cambio global (Thuiller, 2004; Ulbrich *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2010; Filipe *et al.*, 2012; Domisch *et al.*, 2013; Bonada & Resh, 2013). Y se espera que los cambios producidos en el clima viren hacia generar ambientes más desérticos (Lavorel *et al.*, 1998). Sin embargo las predicciones de cambio climático varían entre las distintas regiones mediterráneas, con una expansión de la región mediterránea en la Cuenca Mediterránea y en la zona chilena y una contracción en las regiones mediterráneas de Sudáfrica y Australia (Klausmeyer & Shaw, 2009).

Por otro lado, los ecosistemas montañosos son especialmente interesantes para estudiar el efecto del cambio global. Sobre todo por ser los únicos ecosistemas que pueden encontrarse distribuidos por todas las áreas del planeta, lo que permite su observación ecológica comparada (Grabherr *et al.*, 2000). Además a lo largo de su gradiente altitudinal se pueden observar los mismos cambios que ocurren latitudinalmente, pero de forma más rápida y en distancias más cortas (Grabherr *et al.*, 2000). Son hábitats muy sensibles al clima y por lo tanto se verán fuertemente afectados por el cambio climático

(Grabherr *et al.*, 1994; Beniston *et al.*, 1997; Thuiller, 2004, 2007; Finn *et al.*, 2005; Beniston, 2006; Parmesan, 2006; Sauer *et al.*, 2011). El simple hecho de que los organismos que habitan dichos ambientes estén adaptados a vivir en condiciones de bajas temperaturas, va a limitar la manera en que pueden ajustar sus rangos de distribución en respuesta al aumento de la temperatura (Beniston, 1994). Además, debido al gradiente térmico altitudinal existente en las montañas, las especies con suficiente capacidad de dispersión podrían contrarrestar el efecto del cambio climático cambiando su distribución en el espacio y el tiempo (Hoffmann & Parsons, 1997; Isaak & Rieman, 2013). Por lo tanto, las montañas podrían servir de refugio de muchas especies y poblaciones durante los eventos de cambio climático (Peterson *et al.*, 1997; Hewitt, 2000; Coope, 2004; Quinteiro *et al.*, 2005). Sin embargo, aquellas que habiten en áreas cercanas a las cumbres y que, por lo tanto, presenten nichos ecológicos estrechos y poca capacidad de dispersión presentarán un alto riesgo de extinción. Dichas especies podrían experimentar una pérdida de hábitat y ser reemplazadas progresivamente por otras de zonas medias y bajas obligadas a desplazarse en altitud (IPCC, 2007). Es por todo ello que la UNESCO ha desarrollado estrategias científicas como, por ejemplo, el proyecto GLOCHAMORE (Global Change in Mountain Regions; <http://www.unesco.org/new/en/natural-sciences/environment/ecological-sciences/specific-ecosystems/mountains/glochamore/>), para el estudio y seguimiento del cambio global en las regiones montañosas. Es importante resaltar que los ecosistemas de alta montaña de las regiones de clima mediterráneo serán, por tanto, doblemente sensibles al cambio climático (Schröter *et al.*, 2005).

Sierra Nevada es el relieve montañoso más importante de las cordilleras Béticas. Está situada en el sureste de la península ibérica, en la comunidad autónoma de Andalucía (Figura 1), y presenta una longitud superior a los 90 km y una anchura de 35 km (Martín-Martín *et al.*, 2008). Por su situación meridional pertenece a una región de clima propiamente

Mediterránea, aunque su condición de alta montaña le confiere también características propias de un clima continental frío (Castillo-Martín, 2000). Incluye más de 20 picos que superan los 3.000 m s.n.m., siendo la segunda cadena montañosa más alta de Europa, después de los Alpes.



Figura 1. Localización del Parque Nacional de Sierra Nevada.

El Directorio de Reservas de la Biosfera de la UNESCO

(<http://www.unesco.org/mabdb/br/brdir/directory/biores.asp?mode=all&code=SPA+10>) describe el relieve de este macizo como único, con una zona central formando un arco alargado y deprimido, constituyendo una serie de laderas redondeadas y suaves en la cara sur y una clara geomorfología glacial mucho más abrupta en la cara norte (Figura 2). Por lo tanto, ambas vertientes presentan una clara diferenciación climática manifestada en multitud de evidencias hidrológicas, botánicas y faunísticas, y también en las formas heredadas del modelado glacial. Así, la vertiente norte es más fría, con menos horas de insolación, lo que influye en los procesos de congelación y deshielo (Castillo-Martín, 2000) (Figura 2).

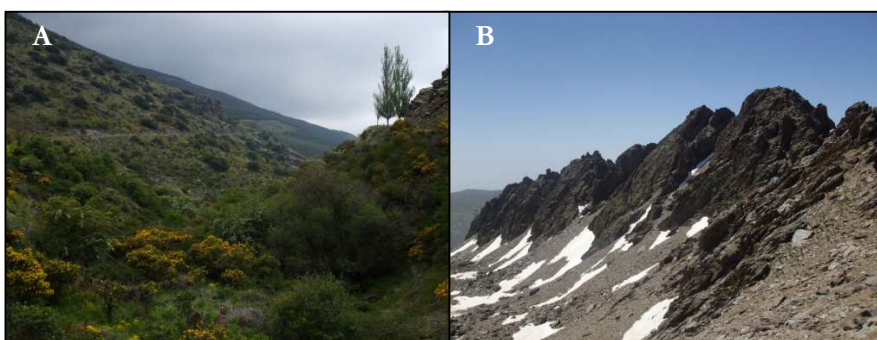


Figura 2. A. Vertiente sur: Las Piedras de Márquez, Nechite. B. Vertiente norte: Laguna Larga. Primavera 2008.

Dentro del conjunto de Parques Nacionales, representa a la alta montaña mediterránea, por tanto un espacio relevante para el estudio y detección de los efectos del cambio global (Filipe *et al.*, 2012). Por su altitud y situación latitudinal, la radiación solar y los niveles de pluviosidad son extremos según la estación. Durante el verano recibe una fuerte insolación que afecta a las oscilaciones diarias de temperatura y las precipitaciones son muy escasas, mientras que en invierno son fundamentalmente en forma de nieve y abundantes. Este genuino carácter mediterráneo y estepario hace de Sierra Nevada un montaña muy singular para la biodiversidad, comparada con otras montañas europeas (Pascual & Tinaut, 2001). Su fauna, por ejemplo, presenta adaptaciones y estrategias vitales particulares que les permiten vivir en este ambiente especialmente estresante (Pascual & Tinaut, 2001; Ruano-Díaz *et al.*, 2013), lo que podría reducir su vulnerabilidad al cambio climático, comparado con especies que habitan en otras regiones montañosas de Europa. De hecho, Sierra Nevada ha sido escogida por la UNESCO como una de las Reservas Montañosas de la Biosfera (dentro del proyecto GLOCHAMORE, citado anteriormente) para tener, con su estudio, una mejor comprensión de las causas y consecuencias del cambio global y mejorar la conservación de la biodiversidad.

Como se comentó al comienzo de este apartado, los cambios en las condiciones climáticas del Planeta están afectando a las comunidades biológicas (Parmesan, 2006). Y su impacto sobre la biodiversidad se ha estudiado ya en un gran número de organismos, tanto animales como vegetales (por ejemplo: Parmesan *et al.*, 2000; Roy & Sparks, 2000; Iverson & Prasad, 2001; Daufresne *et al.*, 2004; Perry *et al.*, 2005; Schröter *et al.*, 2005; Gobbi *et al.*, 2006; Forister *et al.*, 2010; Thackeray *et al.*, 2010; Laws & Belovsky, 2010; Hillyer & Silman, 2010; Hill *et al.*, 2011; Lloyd *et al.*, 2011; Matter *et al.*, 2011; Filipe *et al.*, 2012; Musolin & Saulich, 2012; Isaak & Rieman, 2013; Conlisk *et al.*, 2013). Se conoce que uno de los principales factores que regulan los ciclos de vida de los insectos acuáticos es la temperatura (Sweeney, 1984; Ward, 1992;

Vannote & Sweeney, 2007). Por lo tanto, estos organismos serán muy vulnerables a los aumentos de la temperatura ya que la mayoría presentan rangos de tolerancia muy estrechos (Wilson & Maclean, 2011; Finn *et al.*, 2014). Además, la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos está disminuyendo a un ritmo mayor que los ecosistemas terrestres debido a los efectos antropogénicos sobre su hábitat (Ricciardi & Rasmussen, 1999). Según el Índice del Planeta Vivo (Living Planet Index, LPI) los ecosistemas acuáticos han sufrido la mayor pérdida de biodiversidad desde 1970 (WWF, 2012). Sin embargo, a pesar de que el cambio climático podría tener un impacto muy serio en ambientes acuáticos (Gibson *et al.*, 2005; Wrona *et al.*, 2006), existen pocos ejemplos de estudios llevados a cabo en ecosistemas dulceacuícolas (Elliott *et al.*, 2000; Bradley & Ormerod, 2001; Xenopoulos *et al.*, 2005; Bonada *et al.*, 2007; Bojková *et al.*, 2014), probablemente debido a grandes carencias en series amplias de toma de datos (Daufresne *et al.*, 2004). Precisamente, la mayoría de las predicciones en ecosistemas de agua dulce están basados en estudios a corto plazo (Domisch *et al.*, 2013; Pace *et al.*, 2013).

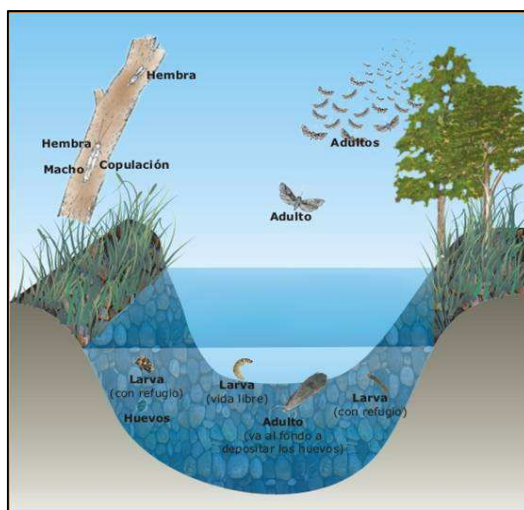
Según Hering *et al.* (2009), la sensibilidad de las especies acuáticas a los impactos del cambio climático depende de los siguientes factores:

- **Capacidad de dispersión o de colonización de zonas nuevas o más favorables:** aquellas especies con restringida distribución (endémicas), caracterizadas por nichos ecológicos estrechos y limitada capacidad dispersiva se verán más amenazadas que aquellas con posibilidad de colonizar otros hábitats más favorables.
- **Grado de especialización para un hábitat:** aquellas especies ligadas a los tramos bajos de los ríos caracterizados por temperaturas relativamente altas presentarán una mejor adaptación fisiológica y podrán reaccionar ante el aumento de la temperatura del agua colonizando tramos más altos de los ríos. Sin embargo, las especies de cabecera se verán más amenazadas ya que no podrán colonizar nuevos hábitats a mayor altitud y con temperaturas más bajas.

- **Grado de tolerancia térmica:** aquellas especies adaptadas a temperaturas de agua muy frías (estenotermas frías) se verán más amenazadas que las especies euritermas capaces de tolerar una gran amplitud térmica.
- **Sincronización en el periodo de emergencia:** las especies con cortos periodos de emergencia serán especialmente sensibles a las alteraciones en los patrones de temperatura. Sin embargo, las especies acíclicas o con ciclos de vida no sincronizados y con varias generaciones por año estarán mejor adaptadas ante las crecidas o las sequías que pudieran afectar a la mayoría de sus estadios acuáticos.
- **Grado de especialización trófica:** aquellas especies con nichos tróficos muy estrechos (especialistas) serán más vulnerables a cambios ambientales a largo plazo, como el cambio climático, que aquellas especies con nichos ecológicos amplios (generalistas) capaces de explotar un mayor número de recursos.

Ante un cambio en las condiciones medioambientales, los organismos tienen dos posibles respuestas básicas: dispersarse y colonizar nuevas áreas o, dependiendo de su plasticidad fenotípica o genotípica adaptarse a ese cambio (Parmesan, 2006). Según estas premisas, ante un aumento de la temperatura y cambios en los regímenes hidrológicos de los ríos, muchos insectos acuáticos que habiten las cabeceras de los ríos y que por lo tanto estén adaptados al frío, experimentarán una pérdida de hábitat (Mulholland *et al.*, 1997; Domisch *et al.*, 2011), siendo reemplazados progresivamente por especies de tramos medios y bajos y por aquellas especies generalistas sin preferencias ecológicas marcadas o ligadas a algún hábitat en concreto (Daufresne *et al.*, 2007; Domisch *et al.*, 2011). Muchas especies dulceacuícolas tienden a modificar sus rangos de distribución desplazándose a mayores latitudes y altitudes en respuesta al calentamiento global y a otros factores relacionados (EEA, 2008).

Con la finalidad de conocer el posible efecto del cambio global en los ecosistemas dulceacuícolas en un área de especial interés, como es Sierra Nevada, se ha escogido como organismo modelo de estudio a un orden de insectos, los tricópteros (orden Trichoptera), especialmente sensibles a los cambios ambientales. Los tricópteros son insectos pterigotas holometábolos cuyos huevos y estadios juveniles (larva y pupa) son predominantemente acuáticos, mientras que el adulto es terrestre y volador (Figura 3) con actividad principalmente crepuscular y nocturna (Hickin, 1967; González & Cobo, 2004). Presentan tamaños comprendidos entre 1 y 40 mm y, generalmente, son de color pardo, por lo que pasan desapercibidos durante el día, escondidos entre la vegetación cercana a los cursos de agua (Hickin, 1967; Holzenthal *et al.*, 2007). El grupo es sobre todo conocido por la habilidad de sus larvas para fabricar, con sedas y diversos materiales, una gran variedad de construcciones



(estuches, redes, galerías, etc.) **Figura 3.** Ciclo de vida de los tricópteros.

(Hickin, 1967; González & Cobo, 2004; Wiggins, 2004). Fuente: http://rionegroflycast.blogspot.com.es/2011_08_01_archive.html.

De las más de 14.000 especies descritas para el orden Trichoptera (Morse, 2014), más de 1.000 se distribuyen en Europa (Malicky, 2013). De ellas, 926 se citan en la cuenca Mediterránea (Tierno de Figueroa *et al.*, 2012) y, concretamente, 342 se han registrado en la península ibérica e Islas Baleares (González & Martínez-Menéndez, 2011). Los factores biogeográficos, geológicos, ecológicos e históricos han dejado una fuerte huella en la estructura de la biodiversidad (Bonada *et al.*, 2009; Múrria *et al.*, 2012), siendo la Cuenca

Mediterránea excepcionalmente rica en especies (Blondel & Aronson, 1999; Myers *et al.*, 2000).

Los tricópteros presentan ciclos de vida uni-, bi- o multivoltinos, dependiendo de si presentan una, dos o varias generaciones por año. También pueden ser semivoltinos cuando una generación se desarrolla en dos o más años (Graf *et al.*, 2008). Además, aunque la tendencia en la mayoría de las especies es que la duración sea fija, en algunas los ciclos son flexibles y pueden alternar entre uni- y multi- o semivoltismo (Solem & Gullefors, 1995 en Reiso & Brittain, 2000). Las larvas de los tricópteros se desarrollan en un amplio rango de características ecológicas y presentan estrategias alimenticias que incluyen la fragmentación de hojas y madera, la recolección de material orgánico en suspensión —mediante redes de seda que fabrican o mediante piezas bucales modificadas—, el raspado de algas, la succión de contenidos celulares de algas y la depredación (Wiggins, 2004). Habitan en la mayoría de los ecosistemas dulceacuícolas, como fuentes, arroyos de montaña, grandes ríos, lagos y humedales; y algunas especies incluso en aguas salobres (Mackay & Wiggins, 1979). Debido a su alta diversidad en riqueza específica y ecológica se consideran especialmente adecuados para reflejar la intensidad de diferentes factores estresantes sobre los ecosistemas acuáticos (Resh, 1992). Es considerado, por tanto, uno de los grupos de organismos acuáticos más útiles e importantes para evaluar los efectos del cambio climático, y son ampliamente utilizados en campañas de biomonitoreo a nivel nacional en países desarrollados (Resh, 1992; Dohet, 2002; Bonada *et al.*, 2004a; Resh & Unzicker, 2010).

Este grupo de insectos incluye (1) un alto número de especies endémicas con estrechos nichos ecológicos y limitada capacidad de dispersión (Lencioni, 2004; Parmesan, 2006), (2) un alto número de especies vinculadas al área del crenon (Lencioni, 2004; Parmesan, 2006), y (3) un alto número de especies adaptadas a las bajas temperaturas (Graf *et al.*, 2008). De ahí que el impacto del cambio climático en la diversidad el orden Trichoptera pueda ser

elevado. Se ha calculado que, en Europa, existe un fuerte gradiente norte-sur de especies de tricópteros amenazadas, con un número de taxones sensibles más elevado en el sur de Europa que en el norte (Hering *et al.*, 2009) (Figura 4). Es sobre todo en la península ibérica y, después, en las penínsulas itálica y balcánica donde se concentran un número más elevado de especies endémicas. Además, estas especies, que generalmente aparecen ligadas

a la zona del creton y presentan nichos ecológicos estrechos, se encuentran particularmente en estas zonas del sur de Europa y, concretamente, en los sistemas montañosos de elevada altitud (Hering *et al.*, 2009). Así, según una estimación del potencial impacto del cambio climático sobre la biodiversidad de tricópteros europeos, el 50% de las especies de la península ibérica podrían verse afectadas (Hering *et al.*, 2009). Sin embargo, la información disponible sobre especies del sur de Europa es muy escasa, basada muchas veces en la captura de unos pocos imágo en escasas localidades, desconociéndose por completo las descripciones de muchas de sus larvas, de sus requerimientos medioambientales y de sus ciclos biológicos (Graf *et al.*, 2008).

A pesar de la elevada riqueza de especies de tricópteros en la península ibérica, comparable a la de otros países mediterráneos (como Italia, con 381 especies), el conocimiento taxonómico y ecológico en algunas áreas es muy incompleto. En el último inventario de tricópteros de Andalucía realizado, el nº total de especies registradas era de 103 (Zamora-Muñoz, 2004), una cantidad baja (por incompleta) si la comparamos con el número de especies

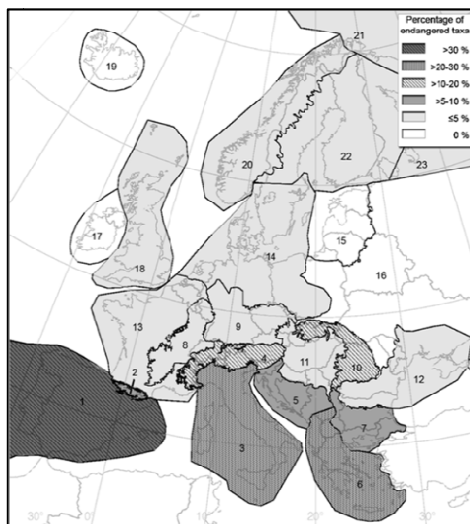


Figura 4. Fracción de taxones amenazados por el cambio climático en las ecoregiones europeas. Hering *et al.*, 2009.

capturadas en otras comunidades de menor extensión y áreas españolas con un mayor conocimiento de la fauna tricopterológica, como Galicia, con 147 especies, (Vieira-Lanero, 2000), Aragón con 124, (Zamora-Muñoz & Bonada, 2003) o los estudios realizados en 28 cuencas fluviales del arco mediterráneo español con 112 especies, (Bonada *et al.*, 2004b, 2008).

Hasta la fecha, en Sierra Nevada se habían realizado escasos estudios sobre tricópteros. La mayoría de los datos correspondían a capturas aisladas de naturalistas e investigadores durante visitas esporádicas al macizo o a estudios sobre invertebrados acuáticos como bioindicadores de la calidad fluvial. Concretamente, el estudio más importante realizado sobre este grupo en Sierra Nevada fue el de Schmid (1952a). Durante los meses de agosto y septiembre de 1950 Schmid realizó un viaje por la península ibérica y visitó varias localidades de Sierra Nevada, citando 17 especies de tricópteros, de las cuales 8 eran nuevas para la ciencia. Hasta entonces, sólo Navás (1908; 1911; 1920; 1924) había citado 5 especies en distintas localidades de Sierra Nevada, siendo una de ellas nueva para la ciencia. A principios de los 90, se publica la Lista faunística y bibliográfica de los tricópteros (Trichoptera) de la península ibérica e Islas Baleares (González *et al.*, 1992) donde se recopilan todas las citas disponible hasta entonces sobre los tricópteros de la Península e Islas Baleares. Aumenta el número de especies citadas para Sierra Nevada en 21, incluyendo una especie nueva para la ciencia y además endémica del macizo (*Annitella iglesiasi* González & Malicky, 1988). El resto de datos disponibles corresponden a nuevas citas, a descripciones de especies y de formas larvianas (Malicky, 1972, 1986; González & Botosaneanu, 1985; González & Malicky, 1988, 1999; Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1992a, 1995; Tierno de Figueroa *et al.*, 2000), a un par de estudios sobre los tricópteros de las cuencas mediterráneas, que incluían algunas localidades de Sierra Nevada (Bonada *et al.*, 2004b, 2008), y a estudios generales, algunos inéditos, sobre macroinvertebrados acuáticos de cursos de agua de este macizo (Palomares, 1982; Alba-Tercedor & Jiménez-Millán, 1987; Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1992b). Aunque como ya se

ha indicado, no se hayan realizado muestreos exclusivos para el estudio de este grupo de insectos en Sierra Nevada, sí se había venido recolectando abundante material para realizar estudios de invertebrados acuáticos como bioindicadores de la calidad de las aguas. Así, en el Departamento de Zoología de la Universidad de Granada, se dispone de material de colección, con información de parámetros ambientales, proveniente de un gran número de localidades muestreadas desde finales de los 80 (Alba-Tercedor *et al.*, 1986; Sáinz-Cantero, 1989; Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1992b). Esta información ha sido de gran utilidad para comparar datos actuales e históricos e inferir el posible efecto del cambio climático en la comunidad de tricópteros, uno de los principales objetivos de esta tesis doctoral.

Reuniendo las citas de todos los artículos publicados con anterioridad a este trabajo se parte de que en Sierra Nevada habitaban 33 especies y una subespecie de tricópteros, de las cuales dos son endémicas del macizo, *A. iglesiasi* y *Limnephilus obsoletus* (Rambur, 1842). Se considera de dudosa validez la cita de esta especie en la provincia de Madrid recogida en la lista faunística de González *et al.* (1992) (Sáinz-Bariáin *et al.*, 2013). Otras dos especies, *A. esparraguera* (Schmid, 1952) y *Plectrocnemia geniculata* ssp. *almoravida* (Malicky, 1986) están distribuidas exclusivamente en las sierras Béticas (González *et al.*, 1992; Bonada *et al.*, 2008; Sáinz-Bariáin *et al.*, 2013). De esta forma, aunque la fauna de tricópteros del sur de la península parece ser más pobre que la del norte (González *et al.*, 1987), la riqueza de especies encontrada en Sierra Nevada se aleja mucho de los pocos inventarios faunísticos que se han realizado en otros parajes naturales, como la Sierra Segundera en parte del Parque Natural de Sanabria en Zamora con 92 especies (González *et al.*, 1986) o la Reserva de la Biosfera de Muniellos en Asturias con 72 especies (Ocharán *et al.*, 2006), en parte por la falta de estudios en profundidad.

Si bien es cierto que una gran parte de las especies que aparecen citadas en este macizo corresponden a endemismos ibéricos (30%), la mayoría del sur peninsular, el resto son especies distribuidas también en otras regiones

montañosas europeas. Esta distribución zoogeográfica tan peculiar se debe en parte a los acontecimientos paleogeográficos y paleoclimáticos sufridos desde la formación del macizo de Sierra Nevada a finales del Terciario, durante el Mioceno y el Plioceno. Sierra Nevada comienza a formarse en la primera mitad del Mioceno (25-11 millones de años) estableciéndose como una isla en el Mediterráneo occidental formando un complejo con la Sierra de los Filabres (Martín-Martín *et al.*, 2008). El clima era cálido o semitropical lo que favorecía la presencia de comunidades animales y vegetales equivalentes a las que podemos encontrar en la sabana africana actual (Olivares *et al.*, 2011). La separación e individualización de ambas sierras ocurre en el Plioceno inferior (5-3 millones de años), cuando se genera el Corredor de Abla (Martín-Martín *et al.*, 2008). Hacia la mitad del Plioceno (menos de 3,5 millones de años) y hasta el comienzo del Cuaternario (1,7 millones de años), se produce una fuerte disminución de la temperatura global de casi 10 °C de media manteniéndose en la zona temperaturas globales cercanas a los 5 °C, y dominando un paisaje semiárido correspondiente a una estepa sabanoide (Olivares *et al.*, 2011). La entrada en el Cuaternario (1,7 millones de años) supone un fuerte descenso de las temperaturas, iniciándose una serie de acontecimientos glaciares de gran intensidad y frecuencia (Olivares *et al.*, 2011). Los más recientes y conocidos son Günz (hace aproximadamente 380.000 años), Mindel (260.000 años), Riss (140.000 años) y por último el Würm (20.000 años) y el Dryas, fase de glaciación de menor intensidad que tuvo lugar hace unos 10.000 años (Martín-Martín *et al.*, 2008). Estos cambios en las condiciones climáticas favorecieron la extinción de la mayor parte de la fauna de origen tropical que no pudo adaptarse a climas más fríos, sustituyéndose por especies de origen estepárico asiático y otras procedentes del centro y norte de Europa empujados hacia el sur por el avance de los glaciares (Olivares *et al.*, 2011). De esta forma, resalta la importancia del sur de la península ibérica como refugio durante las glaciaciones y también como centro de dispersión y especiación (Hewitt, 1999; Ribera & Vogler, 2004). En tricópteros se han detectado diversas áreas

importantes de especiación en los Alpes (Malicky, 2000), en los Balcanes (Kumanski & Malicky, 1984), en Pirineos (Décamps, 1967) y en los Apeninos (Cianficconi *et al.*, 1997) favorecidas por las sucesivas expansiones y regresiones en la distribución de la mayoría de las especies europeas de este grupo durante las glaciaciones y posteriores retiradas de los hielos (Pauls *et al.*, 2006). Se sospecha que la mayoría de estas especies son especialistas en cuanto a hábitos alimenticios o en la selección del hábitat. Sin embargo, como ya se ha apuntado anteriormente, la información disponible sobre las especies del sur y este de Europa es muy escasa, basada muchas veces en la captura de unos pocos adultos y desconociéndose por completo las descripciones de muchas de sus larvas y de sus requerimientos medioambientales (Hering *et al.*, 2009).

Dos de los endemismos que habitan en Sierra Nevada pertenecen al género *Annitella* Klapálek, 1907: *A. iglesiasi* y *A. esparraguera*. Este género pertenece a la tribu Chaetopterygini Hagen, 1858 compuesta en su mayor parte por especies de emergencia otoñal y adultos con poca capacidad de vuelo, incluso braquípteros, y por tanto con escasa capacidad de dispersión (Schmid, 1952b; Botosaneanu, 1975; Wagner, 1991; Malicky, 1994; Lehrian *et al.*, 2010). Está formado por 14 especies (Oláh & Kovács, 2012; Malicky, 2013) de las cuales sólo una, *A. obscurata* McLachlan, 1876, presenta una amplia distribución en Europa, encontrándose desde Escandinavia hasta los Pirineos (González *et al.*, 1992; González & Martínez-Menéndez, 2011; Malicky, 2013). El resto son especies endémicas de una zona montañosa concreta, o se localizan en varios sistemas montañosos europeos próximos, como la mayoría de las especies de la tribu (Malicky, 1994). En la península ibérica es un género bastante diverso pudiéndose encontrar 6 especies endémicas distribuidas en distintas cadenas montañosas del territorio [*A. amelia* Sipahiler, 1998, *A. cabeza* Sipahiler, 1998, *A. esparraguera*, *A. iglesiasi*, *A. lalomba* Sipahiler, 1998 y *A. sanabriensis* (González & Otero, 1985)] además de *A. pyrenaea* (Navás, 1930) y *A. obscurata* que se encuentran en los Pirineos (Sipahiler, 1998).

A pesar de ser un género tan peculiar, en el que la mayoría de las

especies son endémicas y, como se expuso anteriormente, el cambio climático podría tener un mayor impacto sobre ellas, se sabe muy poco de la taxonomía larvaria y biología de este género. Debido a las dificultades taxonómicas que presentan en general las especies pertenecientes a la familia Limnephilidae Kolenati, 1848, la mayoría de las larvas del género *Annitella* están sin describir y, por lo tanto, sin incluir en claves taxonómicas. Hasta el momento tan solo se han descrito las larvas de tres especies y dos de ellas se han incluido en claves: *A. obscurata* fue descrita por Lepneva (1966) y ha sido incluida en distintas claves taxonómicas por Waringer & Graf (1997, 2011) y Lechthaler & Stockinger (2005). *A. thuringica* (Ulmer, 1909) descrita por Bolzhuber (1998), recientemente se ha incluido en el Atlas de especies de tricópteros europeos por Waringer *et al.* (2011) y, por último, *A. apfelbecki* (Klapálek, 1899) ha sido descrita por Waringer *et al.* (2009). En cuanto a su biología, se conoce que las larvas se alimentan principalmente de detritus, habitan arroyos de alta montaña, de aguas frías y baja velocidad de corriente y que presentan ciclos de vida univoltinos con período de vuelo otoñal (Graf *et al.*, 2008). Sólo se ha descrito en profundidad el ciclo de vida de *A. apfelbecki*, una de las especies endémicas de los Balcanes (Waringer *et al.*, 2009; Vučković *et al.*, 2011), y presenta un ciclo característico de las especies otoñales, con un período de vuelo de octubre a enero (Waringer *et al.*, 2009; Vučković *et al.*, 2011).

Conocer el ciclo de vida de los insectos acuáticos es fundamental para entender la mayoría de las características ecológicas de esta fauna (Huamantínco & Nessimian, 2000). Muchos muestran ciclos de vida flexibles, lo que les permite habitar en una gran variedad de condiciones climáticas o ecológicas (Sand & Brittain, 2009; Hershey *et al.*, 2010). Entre los distintos órdenes de insectos acuáticos, los ciclos de vida varían de forma que procesos tales como la alimentación, el crecimiento, el desarrollo, la diapausa, la dispersión y la reproducción se distribuyen entre las distintas etapas del ciclo (Butler 1984). Dichos componentes del ciclo son idénticos y secuenciales para todos los miembros de una especie (Williams & Feltmate, 1992). Sin embargo,

los eventos variables asociados al ciclo de vida constituyen las estrategias vitales de una especie y pueden variar entre los individuos o poblaciones de una especie. Las estrategias vitales de un organismo (patrones de crecimiento, voltinismo y el tiempo de desarrollo) reflejan una serie de factores que interactúan entre sí, como la información genética, las relaciones inter-específicas y las características ambientales (Butler, 1984), y son esenciales para entender la adaptación de las especies al ambiente (Becker, 2005). Estas estrategias vienen marcadas principalmente por un componente filogenético (por ejemplo, las características de oviposición, las estrategias de respiración o el número de etapas acuáticas) (Resh & Rosenberg, 1984). Sin embargo, también pueden verse influenciadas por diferentes factores bióticos o abióticos, como la densidad de población (Beckerman *et al.*, 2003), la presencia de taxones afines con los que competir por el hábitat (Beam & Wiggins, 1987), la temperatura y el fotoperiodo (Nylin & Gotthard, 1998), la posición latitudinal (Roff, 1980) o la disponibilidad de recursos (Sweeney, 1984) que puede afectar el crecimiento, desarrollo o modificar el momento en el que se producen las distintas etapas del ciclo (Mendez & Resh, 2008). En las especies, o grupos de especies, donde ciertos aspectos del ciclo de vida se apartan de la norma filogenética del grupo, los factores ambientales van a ser especialmente importantes (Butler, 1984). De tal manera, la teoría del "Habitat Templet" establece una estrecha relación entre las condiciones ambientales del hábitat y los rasgos biológicos (adaptaciones) de las especies que los habitan (Townsend & Hildrew, 1994). Así, las limitaciones impuestas por las características del hábitat influyen en las características ecológicas de las especies que viven en él de modo que, ante las mismas condiciones ambientales, las especies y poblaciones van a mostrar estrategias vitales semejantes.

Uno de los factores más determinantes en la regulación del ciclo de vida de los insectos acuáticos es la temperatura (Sweeney, 1984; Ward, 1992; Vannote & Sweeney, 2007). Este factor va a influir en los patrones de estacionalidad y desarrollo de los insectos acuáticos a través del crecimiento,

tamaño del adulto y la fecundidad (Hynes, 1970; Sweeney, 1984; Haidekker & Hering, 2008). Por otra parte, la emergencia también se verá afectada tanto por la temperatura como por el fotoperiodo (Hynes, 1970). De tal manera que el aumento de la temperatura en un momento dado va a favorecer la emergencia del adulto (Sweeney, 1984).

Por lo tanto, el profundizar en el estudio de las estrategias vitales y adaptaciones de las especies endémicas, comparándolas con la de una especie de amplia distribución, resultaría fundamental para entender la influencia de procesos ambientales complejos, como el cambio climático, en la biología y distribución de las especies. De esta manera se podrían establecer las medidas de conservación que serían necesarias implementar para impedir o disminuir la desaparición de dichas especies por efecto del cambio global.

Además de cómo consecuencia de factores ambientales actuales, la distribución actual de muchas especies de alta montaña puede ser explicada por factores como las glaciaciones y posterior retirada de los hielos durante el Pleistoceno, por lo que es predecible que este efecto se detectará en la historia evolutiva del género *Annitella*. Este género, aunque presenta una especie de amplia distribución, tiene 3 grupos de especies distribuidas exclusivamente en tres zonas europeas aisladas: Cárpatos, Balcanes y Península Ibérica, área donde se encuentra la mayor diversidad, probablemente por el efecto península. Debido a que estas especies están ligadas a zonas frías de alta montaña, su diversidad genética actual está especialmente amenazada por el calentamiento global. Además, estas especies podrían perder una gran parte de su área de distribución ya que las especies endémicas se caracterizan por presentar un estrecho nicho ecológico y dispersión limitada (Brown *et al.*, 2007; Hering *et al.*, 2009). Conocer todos estos factores puede ayudar a predecir la vulnerabilidad de las especies frente a la extinción como consecuencia del cambio climático. Si existiera flujo genético entre las poblaciones de cada una de las especies de Sierra Nevada, los procesos de extinción-colonización podrían ser la estrategia que permitiría la conservación de dichas especies. En

cambio, si las poblaciones estuvieran aisladas, el efecto del cambio climático podría ser dramático y la conservación de cada especie dependería de la plasticidad de sus estrategias vitales y la conservación de su hábitat.

ESTRUCTURA Y OBJETIVOS DE LA TESIS

El objetivo principal de esta tesis es ampliar el conocimiento del orden Trichoptera en el Espacio Natural de Sierra Nevada, estudiando a su vez distintos aspectos de la biología y ecología de algunas especies con el fin de aplicar dicho conocimiento en su uso como sensores del cambio climático. Concretamente se plantean los siguientes objetivos:

1. Conocer la diversidad específica del orden Trichoptera en el Espacio Natural de Sierra Nevada y aportar herramientas para su identificación, concretamente mediante la descripción de la fase larvaria de algunas especies para las que es aún desconocida y la construcción de nuevas claves taxonómicas.
2. Estudiar y describir las estrategias vitales de dos especies de alta-media montaña endémicas de las sierras Béticas orientales, pertenecientes al género *Annitella*.
3. Estudiar la estructura genética y el grado de aislamiento de las poblaciones de dos especies del género *Annitella* (*A. esparraguera* y *A. iglesiasi*) endémicas de las sierras Béticas orientales para conocer el riesgo al que podrían estar sometidas ante los efectos del cambio climático.
4. Realizar el estudio filogenético del género *Annitella*, formado por 14 especies, la mayoría endemismos de distintos sistemas montañosos europeos.
5. Estudiar si en los últimos 20 años se han producido variaciones en las condiciones ambientales de los ríos de Sierra Nevada (concretamente en la temperatura del agua y el caudal), achacable al cambio global, y su posible efecto sobre la comunidad de

tricópteros.

Para abordar estos objetivos, esta memoria se ha dividido en cuatro bloques temáticos, dedicando cada uno de ellos a un objetivo salvo los objetivos 3 y 4 que se estudian en el bloque 3. A su vez, cada bloque cuenta con uno o varios capítulos correspondientes a distintos artículos científicos redactados durante el desarrollo de esta tesis. Así, en el **Bloque 1**, dedicado al estudio de la diversidad de este grupo de insectos en Sierra Nevada, se realiza una revisión faunística ampliando la escasa información que hasta el momento se tenía sobre las especies que habitan este macizo. Para llevarlo a cabo, además de realizar una revisión bibliográfica sobre la distribución de este grupo en Sierra Nevada, se aportan datos nuevos procedentes de muestreos recientes y de material de colección inédito. Aparte de la distribución local de las especies en el macizo, se comentan su distribución global y las características ecológicas de su hábitat (*Capítulo 1*). Además, se realiza la descripción de la larva de último estadio de tres especies de la familia Limnephilidae: *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875), *Annitella esparraguera* y *A. iglesiasi* y se modifican las claves taxonómicas existentes para incluirlas (*Capítulos 2 y 3*). A pesar de ser la familia europea con un mayor número de especies (394, Graf *et al.*, 2008), las larvas de la mayoría de ellas se desconocen debido a la dificultad de encontrar caracteres adecuados para distinguirlos y pocas se han incluido en claves taxonómicas.

Como la vulnerabilidad de las especies endémicas es mayor por su estrecho nicho ecológico y poca capacidad dispersiva (Hering *et al.*, 2009), el **Bloque 2** está dedicado al estudio de las estrategias vitales de las dos especies endémicas de las sierras Béticas orientales del género *Annitella*, *A. esparraguera* y *A. iglesiasi*, que por sus adaptaciones a la alta montaña, pueden tener un relevante papel en la detección de cambios ambientales. Además, se estudia el ciclo de vida de otra especie del mismo género, pero de amplia distribución (*A. obscurata*) en dos localidades situadas en el sureste de Noruega. Dado que las especies o poblaciones en las mismas condiciones ambientales pueden

presentar estrategias vitales similares (Townsend & Hildrew, 1994), se espera una variación en las características de las estrategias vitales de esas especies entre las poblaciones situadas a distinta altitud en las sierras Béticas, pero similitudes entre las localidades situadas a mayor altitud en Sierra Nevada, y a mayor latitud, en Noruega (*Capítulo 4*).

En el **Bloque 3** se realiza el estudio poblacional de las especies del género *Annitella* en Sierra Nevada, así como en otras sierras Béticas (Sierra de Baza y Sierra de Cazorla), con el fin de conocer la estructura genética y grado de aislamiento de estas especies de montaña y su implicación en su conservación (*Capítulo 5*). Además se realiza el estudio filogenético de las especies de este género, lo que nos permitirá conocer su historia evolutiva. Dichas especies que, presumiblemente, se verán fuertemente amenazadas por el cambio climático (*Capítulo 5*).

Por último, el **Bloque 4** está dedicado al estudio del efecto del cambio global en los ríos de Sierra Nevada. Para ello, se realizó un estudio comparativo entre datos ambientales y de la comunidad de tricópteros actuales y los de hace 20 años con el fin de detectar si se ha producido un cambio faunístico que pueda ser achacado a la posible variación de la temperatura y caudal en los ríos de Sierra Nevada durante este tiempo (*Capítulo 6*).

Material y métodos



Río Dúrcal, primavera 2008

ÁREAS DE ESTUDIO

El área principal de estudio para completar los distintos objetivos de esta tesis doctoral es el Espacio Natural de Sierra Nevada. Durante los años 2008 y 2009 se muestrearon un total de 47 localidades situadas en 32 ríos y arroyos de dicho macizo (Anexo 1 y Figura 5). Estas localidades están situadas tanto en el Parque Nacional como Natural y abarcan prácticamente todo el perímetro de Sierra Nevada. De esta forma, se estudiaron las comunidades de tricópteros en distintos hábitats y en un amplio rango altitudinal cubriendo así las distintas condiciones climáticas que se dan en Sierra Nevada (Ver Interés del tema y antecedentes).

Además para completar los objetivos 1-4, durante el año 2009, se muestreó una localidad del río Gor, situado en la Sierra de Baza, por ser uno de los emplazamientos cercanos a Sierra Nevada dónde se había citado también la especie *A. esparaguera* (Bonada *et al.*, 2008) (Capítulos 3-5). La Sierra de Baza forma parte, como Sierra Nevada, del sistema Penibético (dentro de las sierras Béticas) y está situada al noreste de la provincia de Granada. Presenta importantes diferencias altitudinales que van desde los 850 m a los casi 2300 m s.n.m (Figura 5).

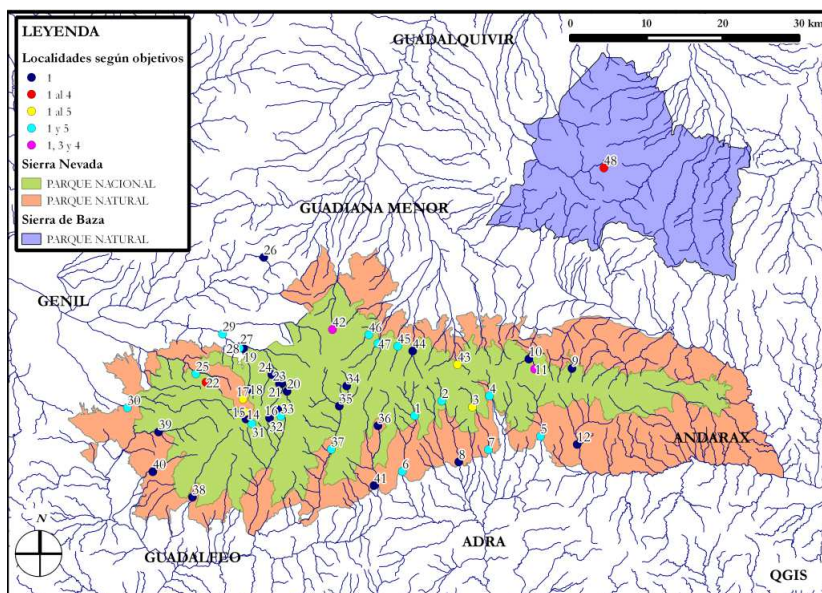


Figura 5. Localidades muestreadas en el Espacio Natural de Sierra Nevada y Sierra de Baza durante el desarrollo de esta tesis doctoral.

Durante el otoño de los años 2009 y 2010, también se muestrearon otras localidades de la Península (Anexo 2 y Figura 6) para coleccionar otras especies del género *Annitella*, realizar el estudio filogenético y cumplir el objetivo 4 (Capítulo 5). Al tratarse de especies raras, con una restringida distribución, a veces sólo conocidas de las localidades tipo, dos de las especies ibéricas, *A. cabeza* y *A. lalomba* no pudieron ser capturadas. Sin embargo, en la localidad tipo de *A. cabeza* se capturó *A. amelia* que se conocía sólo de una sierra de Portugal (Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz, 2012a). Por último, en el año 2010, se muestrearon dos localidades en el sur de Noruega (Anexo 2 y Figura 6) para coleccionar la especie *A. obscurata* y cumplir los objetivos 2, estudio del ciclo de vida (Capítulo 4), 3 y 4, estudios genéticos (Capítulo 5). Una está situada en el río Atna a 718 m s.n.m., cerca del Parque Nacional de Rondane. La otra se encuentra en la orilla norte del lago Mjøsa, el mayor del país, a una altitud de 125 m s.n.m. El resto de especies europeas del género utilizadas en la realización del estudio filogenético (objetivo 4, Capítulo 5) se solicitaron a distintos investigadores nacionales y extranjeros (Anexo 2 y Figura 6).

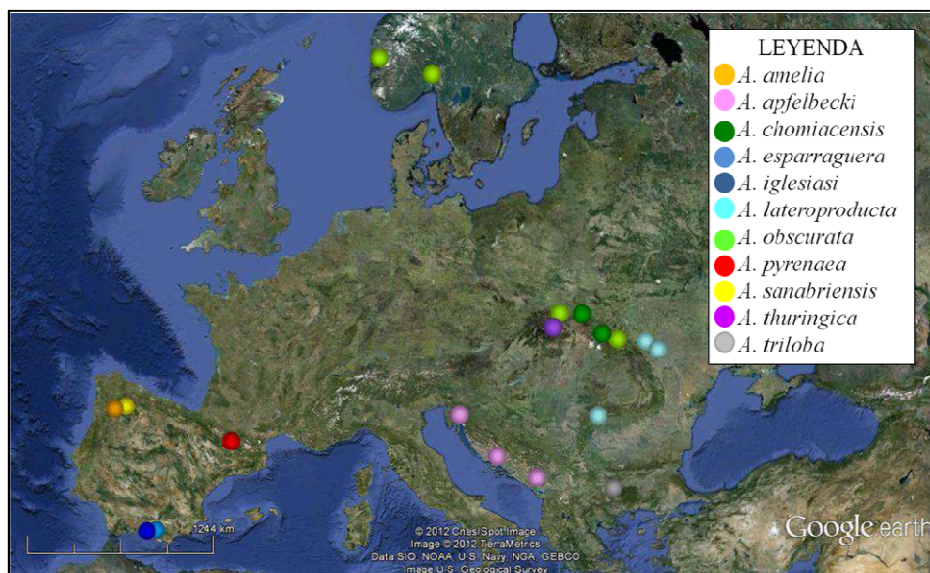


Figura 6. Localidades de procedencia del material de las distintas especies utilizadas en la realización de la filogenia del género *Annitella* en Europa.

MATERIAL ESTUDIADO

Revisión bibliográfica y estudio del material de colección (Objetivos 1 y 5)

Con el fin de alcanzar parte del objetivo 1 y elaborar un listado faunístico completo de las especies de tricópteros citados en Sierra Nevada con anterioridad a este estudio, se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica (ver citas bibliográficas en el *Capítulo 1*) que se completó con datos inéditos disponibles en el grupo de investigación Biología y ecología de medios acuáticos lóticos de la Universidad de Granada. Dichos datos correspondieron a muestreos realizados por el Dr. M. González en varias localidades de Sierra Nevada, en 1983 y 1987, y a varios estudios ecológicos sobre macroinvertebrados llevados a cabo dentro del grupo de investigación, en torno a tesis doctorales, tesinas e informes científicos no publicados con localidades en Sierra Nevada (Alba-Tercedor *et al.*, 1986; Zamora-Muñoz, 1992; Jáimez-Cuéllar, 2004; Poquet-Moreno, 2007). Además se identificó a nivel específico todo el material de tricópteros correspondiente a localidades de Sierra Nevada presente en la colección de macroinvertebrados acuáticos de la Universidad de Granada y muestreado a finales de los años 80 y 90 durante los proyectos de tesis de Sáinz-Cantero (1989) y Tierno de Figueroa (1998). De esta forma se recopiló información de 100 localidades en cursos de agua de este macizo (ver Anexo 1 y Figura 1 en el *Capítulo 1*).

Muestreos de tricópteros (Objetivos 1 al 5)

Como se indicó anteriormente, durante los años 2008 y 2009, se muestrearon 47 localidades situadas en 32 ríos y arroyos del macizo de Sierra Nevada (ver Anexo 1 y Figura 5). Veintiuna de estas localidades habían sido muestreadas anteriormente durante el periodo 1984-87, de las cuales 19 (señaladas con * en el Anexo 1) se seleccionaron para cumplir el objetivo 5 (*Capítulo 6*).

Se realizaron tres muestreos cualitativos estacionales (primavera, verano y otoño) con redes de mano de 250-500 μ de luz de malla en los distintos mesohábitats distinguibles en cada localidad siguiendo el protocolo GUADALMED (Jáimez-Cuéllar *et al.*, 2002) (Figura 7A). El método de muestreo fue similar al que se había realizado en la década de los 80 lo que permitió comparar las muestras actuales con el material de colección y así poder evaluar los efectos del cambio global. Además, se procuró que el impacto sobre el área de estudio fuera lo menos perjudicial posible, así que se separó el material en el campo, devolviendo la mayoría de taxones vivos al río (Figura 7B). Una representación de cada taxón diferenciado en el campo fue conservado en alcohol al 70% para su posterior identificación en el laboratorio al mayor nivel taxonómico posible. Además, en cada localidad, se conservaron en alcohol absoluto varios especímenes de la familia Limnephilidae para poder realizar los análisis moleculares planteados en los objetivos 3 y 4 (Capítulo 5).



Figura 7. A. Muestreo cualitativo estacional (primavera, verano y otoño) con red de mano. B. Separación del material en el campo.

También se colectaron larvas de último estadio y pupas de algunos grupos de tricópteros cuya identificación podía mostrar especial dificultad. Se transportaron vivas al laboratorio, mediante un dispositivo de pequeños contenedores conectados a aireadores, para conseguir su emergencia y así poder establecer la correspondencia con el adulto. Una vez en el laboratorio, las larvas se mantuvieron etiquetadas dentro de cestillas independientes en un

río artificial que presentaba un sistema de filtrado, flujo de agua continuo y una temperatura que osciló entre los 9 y 14 °C (Figura 8).



Figura 8. A y B. Cría en el laboratorio dentro del río artificial. C. Detalle de una larva en un cestillo.

Además, se capturaron adultos en el campo manguendo la vegetación de ribera mediante una red entomológica o usando trampas de luz actínica y ultravioleta o negra (Figura 9). Estas muestras se han utilizado para cubrir todos los objetivos de esta tesis, aunque algunos de ellos se han tenido que completar con otro tipo de muestreo.



Figura 9. A y B. Colocación de una trampa de luz cerca de la orilla del río. C. Detalle de un tricóptero adulto atraído por la luz hacia la trampa.

Para realizar el estudio del ciclo de vida y describir las estrategias vitales de las dos especies endémicas de *Annitella* (objetivo 2, *Capítulo 4*), se seleccionaron 6 localidades (ver † en Anexo 1) donde habían sido capturadas dichas especies durante el primer año de muestreo. En estas localidades se realizaron, desde marzo a octubre de 2009, muestreos cuantitativos mensuales o quincenales dependiendo de la altitud y la duración de la cubierta de nieve (*Capítulo 4*). Para ello, se tomaron seis muestras de material bentónico con un cilindro de Hess de superficie conocida (0,023 m²) y un tamaño de malla de 500 μ (Figura 10). Las muestras colectadas durante el primer muestreo

cuantitativo se fijaron con formol al 4% y se identificaron en el laboratorio (especies endémicas más especies acompañantes). En los muestreos sucesivos, las muestras fueron separadas en campo identificando todo el material colectado al máximo nivel posible. Además, se anotaron los datos correspondientes al número de individuos de las especies de tricópteros y se devolvieron sin daño a la comunidad (Figura 10). Una muestra de las especies endémicas se conservó en alcohol absoluto para poder realizar las medidas necesarias para la descripción del ciclo de vida en el laboratorio (*Capítulo 4*) y para llevar a cabo el estudio molecular (*Capítulo 5*). Algunas pupas maduras (próximas a la emergencia) fueron llevadas vivas al laboratorio para conseguir la emergencia del adulto. Todo el material destinado a los estudios moleculares se conservó en el laboratorio en un congelador a $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ (objetivos 3-4).



Figura 10. A. Muestreo cuantitativo mediante cilindro de Hess para el estudio del ciclo de vida de las especies de *Annitella*. B. Detalle de la muestra tomada. C y D. Limpieza, separación y cuantificación de la muestra en el campo.

Este mismo tipo de muestreo se realizó mensualmente en el río Gor (Sierra de Baza) desde abril a noviembre del año 2009 (Anexo 1) para el estudio del ciclo de vida de *A. esparraquera* (objetivo 2). Además se muestrearon dos localidades en Noruega también mensualmente desde mayo a septiembre de 2010 siguiendo la misma metodología descrita. En ellas se localizó la especie *A. obscurata*, especie del mismo género pero de amplia distribución y cuyo ciclo de vida fue estudiado para alcanzar el objetivo 2 (Capítulo 4).

Para realizar los estudios moleculares de las especies del género *Annitella* planteados en los objetivos 3 y 4, además de coleccionar ejemplares en Sierra Nevada, Sierra de Baza y en Noruega se realizaron muestreos en distintas localidades de la península ibérica y se solicitó material de las especies no ibéricas a varios colaboradores europeos, como ya se ha indicado anteriormente (ver Áreas de estudio, Anexo 2 y Figura 6). Estos muestreos se realizaron esporádicamente en otoño de 2008, 2009 y 2010 con el fin de coleccionar larvas de último estadio, pupas y/o adultos, bien con pequeñas redes de mano, entomológicas o trampas de luz. En este caso se realizaron muestreos cualitativos de estadios inmaduros y de adultos siguiendo la misma metodología descrita anteriormente. En los estudios filogenéticos (objetivo 4) se incluyeron, además de las especies del género *Annitella*, otras especies de grupos taxonómicos próximos para completar la filogenia y utilizarlas como grupos externos (*outgroups*). Pertenecientes a la tribu Chaetopterygini se incluyeron *Chaetopteryx villosa* (Fabricius, 1798) coleccionada en las dos localidades noruegas y *Chaetopteryx lusitanica* Malicky, 1974 en Cabeza de Manzaneda (Orense). De la tribu Stenophylacini, se incluyeron varias especies del género *Allogamus* Schmid, 1955 concretamente: *Allogamus mortoni* (Navás, 1907) de la que se coleccionaron especímenes en Sierra Nevada y sistema montañosos cercanos como la Sierra de Huétor (Granada); *A. gibraltarius* González & Ruiz, 2001, en la Sierra del Aljibe (Cádiz); *A. ligonifer* (McLachlan, 1876), en Riopar (Albacete); *A. laureatus* (Navás, 1918), en Cabeza de Manzaneda (Orense) y *A. auricollis* (Pictet, 1834), en Pirineos (Gerona). De esta tribu también se

incluyeron en la filogenia datos de ejemplares de *Potamophylax* sp., *Potamophylax latipennis* (Curtis, 1834) y *Halesus tessellatus* Rambur, 1842 procedentes de Sierra Nevada y de *Stenophylax sequax* (McLachlan, 1875) de Cabeza de Manzaneda.

DATOS MEDIOAMBIENTALES

Toma y análisis de datos medioambientales (Objetivos 1 al 5)

Al mismo tiempo que se realizaba el muestreo de tricópteros, bien estacionalmente en el año 2008 o mensualmente en el año 2009, se midieron *in situ* (mediante sensores, indicados entre paréntesis) los siguientes parámetros físico-químicos: Temperatura en °C y pH (Waterproof pHTestr 10, 20 y 30, Eutech Instruments, Oakton), Conductividad en $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Eutech Conductivímetro Eco-Scan Con6 Agua), Oxígeno en ppm y % (WTW Oximeter Oxi 320/set) y caudal en m/s (velocímetro MiniWater Mini 20 Probe, Omni Instruments) (Figura 11).

Estacionalmente (primavera, verano y otoño) también se tomaron muestras de agua para medir los siguientes nutrientes y cationes en el laboratorio según la metodología descrita en Rodier (1998): amonio (mg/l); fosfatos (mg/l); nitritos (mg/l); nitratos (mg/l); sulfatos (mg/l), calcio (mg/l), magnesio (mg/l) y cloruros (mg/l).

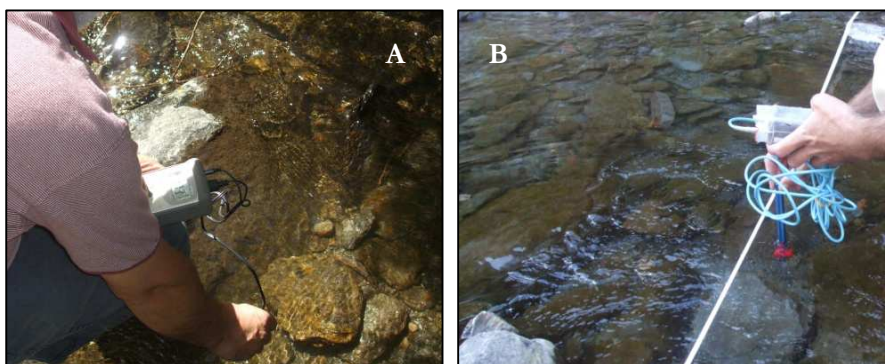


Figura 11. A. Toma de datos físico-químicos. B. Medida del caudal.

En las localidades de la península ibérica donde se estudió el ciclo de vida de las especies de *Annitella* se instalaron medidores de temperatura en continuo, (iBTag modelo iBCod G1) con toma de datos cada hora durante los meses de estudio, para determinar el rango de tolerancia térmica de dichas especies (Figura 12).



Figura 12. Medidor de temperatura en continuo situado en la orilla de un río.

Además, tanto en las localidades ibéricas como nórdicas, se tomaron otros datos complementarios para poder caracterizar el hábitat y los requerimientos medioambientales de las especies del género *Annitella* (Capítulo 4). Para ello se midió la granulometría de cada muestra utilizando un granulómetro con 13 tamaños distintos de tamiz, desde 1 a 120 mm (Figura 13). La biomasa de productores primarios se estimó siguiendo la metodología descrita en Gómez



Figura 13. Granulómetro.

et al. (2009) a partir de la cantidad de clorofila bentónica medida en tres momentos del año (primavera, verano, otoño). Se calcularon también la cantidad y calidad de la materia orgánica particulada gruesa y fina para conocer la disponibilidad de alimento en cada estación del año (primavera, verano y otoño). Para ello, en cada localidad, se tomaron tres muestras de material bentónico con un core de metacrilato de 20 cm en las proximidades de tres de las seis muestras de macroinvertebrados. En el laboratorio, tras extraer los macroinvertebrados, se separaron la materia orgánica particulada gruesa (>1 mm) y fina (1-0,05 mm) mediante tamices y se calculó la cantidad de cada una siguiendo la metodología general descrita en Pozo *et al.* (2009). Tras homogeneizar las muestras por triturado, se calculó el contenido en Carbono y

Nitrógeno de cada fracción mediante análisis orgánico elemental CHNS. Se calculó la razón C/N para conocer la calidad de la materia orgánica de cada localidad en cada una de las estaciones del año.

Datos históricos de caudal en Sierra Nevada (Objetivo 5)

Para alcanzar el último objetivo (*Capítulo 6*), se utilizaron datos de caudal (medias mensuales) que se descargaron de la Web del Centro de Estudios Hidrográficos del CEDEX del Ministerio de Medio Ambiente (<http://hercules.cedex.es/general/default.htm>) ya que no se disponían de datos tomados durante el primer período de estudio para compararlos con los actuales. Los datos corresponden a dos estaciones de aforo ubicadas en dos ríos de la Cuenca del Genil: la central hidroeléctrica de Díechar a 1.254 m situada en el río Monachil y la estación de Dílar a 957 m situada en el río Dílar (señaladas con ** en el Anexo 1). Teniendo en cuenta el régimen hidrológico pluvionival de Sierra Nevada, los datos se separaron en dos períodos: alta magnitud (Abril-Septiembre) y baja magnitud de caudal (Octubre-Marzo), según el comienzo del periodo de deshielo en primavera y de las precipitaciones en forma de nieve en otoño, respectivamente.

METODOLOGÍA Y ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Identificación de tricópteros (Objetivos 1 al 5)

Tanto el material de tricópteros presente en la colección de la Universidad de Granada y muestreado a finales de los años 80 (Sáinz-Cantero, 1989) como todos los ejemplares colectados y llevados al laboratorio durante los años 2008-2010, se identificaron mediante una lupa binocular MOTIC, modelo SMZ-168-BL, hasta la categoría de especie siempre que fuera posible. En total, para la realización de los 6 capítulos que forman esta tesis se identificaron más de 10.000 ejemplares a nivel de especie o género. Para ello se utilizaron los siguientes trabajos que incluyen claves para las distintas familias de tricópteros: (Williams & Wiggins, 1981; Waringer & Graf, 1997, 2011; Vieira-Lanero, 2000; Wallace *et al.*, 2003; Lechthaler & Stockinger, 2005); así

como un Atlas visual (Malicky, 2004), y trabajos científicos de grupos taxonómicos concretos (principalmente, Lepneva, 1966; Higler & Solem, 1986; Camargo & García De Jalón, 1988; Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1992a, 1995; Zamora-Muñoz *et al.*, 1995, 1997, 2002; Panzenbock & Waringer, 1997; Vieira-Lanero *et al.*, 2003; Ruiz-García *et al.*, 2004; Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007; Múrria *et al.*, 2010).

Descripciones larvarias (Objetivo 1)

Para realizar las descripciones de las larvas de las tres especies incluidas en esta memoria de tesis (*A. esparraguera*, *A. iglesiasi* y *S. nycterobius*) se siguió la misma metodología. Las mediciones y observación de caracteres se realizaron mediante una lupa binocular MOTIC, modelo SMZ-168-BL con micrómetro ocular. A dicha lupa se le añadió la cámara “Moticam® 2000 Digital Camera” y se utilizó el software “Motic® Images 2.0” para realizar las fotos de las descripciones presentadas en los *Capítulos 2 y 3*. Debido a la dificultad para encontrar caracteres taxonómicos válidos que pudieran servir para distinguir las dos especies del género *Annitella* entre si y de otras especies de la familia Limnephilidae próximas, los ejemplares secuenciados sirvieron para confirmar la especie con la que estábamos trabajando y poder encontrar estas diferencias.

Descripción de ciclos de vida y estudio de estrategias vitales (Objetivos 1 y 2)

Una vez realizadas las descripciones de las tres especies (*A. esparraguera*, *A. iglesiasi* y *S. nycterobius*), se midió la anchura de la cabeza de las larvas de estas especies así como de *A. obscurata* para separar los distintos estadios larvarios y describir el ciclo de vida de cada una (*Capítulos 2 y 4*). Para comprobar si la separación de los estadios de cada especie en función de la distribución de frecuencias de la anchura de la cápsula cefálica se ajustaba a la ley de Dyar (Resh & Cardé, 2003), se calculó la recta de regresión del logaritmo natural de la anchura media de la cabeza para los distintos estadios. En función de ella se calculó el tamaño de los estadios no presentes en las muestras,

generalmente el estadio I (*Capítulos 2 y 4*). Por último, los ciclos de vida se representaron con diagramas de frecuencia del número de larvas de cada estadio a lo largo de los meses de muestreo, añadiendo datos de capturas del número de pupas y adultos (*Capítulos 2 y 4*). Todos estos gráficos se realizaron con el programa Microsoft Excel ©.

Para el caso de las larvas de *Annitella* se presentó, además, el crecimiento medio mensual por especie en cada localidad estudiada. Se calculó como la diferencia entre la longitud media en un mes determinado y el mes anterior. El crecimiento medio diario se calculó dividiendo dicho crecimiento por los días transcurridos entre las dos fechas de muestreo. Para poder comparar las distintas localidades y especies, se utilizaron sólo los datos de los meses después del deshielo ya que en las localidades de Sierra Nevada situadas a mayor altitud no se pudo realizar antes el muestreo (*Capítulo 4*).

Caracterización y estudio del hábitat de las especies endémicas (Objetivos 2 al 4)

Las preferencias de hábitat de las dos especies endémicas del género *Annitella* estudiadas, *A. esparraguera* y *A. iglesiasi* (*Capítulo 5*) se caracterizaron mediante un Análisis de Componentes Principales (PCA) utilizando ade4 en R (<http://cran.r-project.org/web/packages/ade4/index.html>). En este análisis se incluyeron las variables ambientales siguientes: Altitud; temperatura; pH; conductividad; amonio; fósforo; nitritos; nitratos; sulfatos; calcio; magnesio; cloro (ver Toma de datos y análisis de muestras medioambientales).

Además, se testó si existían diferencias estadísticas entre las localidades dónde se encontraron las tres especies del género *Annitella* cuyo ciclo de vida se describe en esta tesis (ver † en Anexo 1 y Localidades Noruega en Anexo 2) para las variables ambientales medidas. Debido al reducido tamaño muestral en cada localidad se realizaron tests no paramétricos (Guisande-González *et al.*, 2006). Los test utilizados fueron el test de Kolmogorov-Smirnof (K-S), para comparar entre dos muestras, y el test Kruskal-Wallis, entre tres o más muestras. A efectos comparativos, las localidades se agruparon de la siguiente

manera: (1) localidades de Sierra Nevada por encima de los 2.500 m; (2) localidades de Sierra Nevada por debajo de los 1.800 m; (3) localidad en la Sierra de Baza; y (4) localidades noruegas. Entre las localidades del grupo 1 no se encontraron diferencias significativas para ninguna variable (K-S tests, $p > 0,05$). Sin embargo, las localidades del grupo 2 mostraron similitud en la mayoría de las variables estudiadas excepto para el pH y la conductividad (K-W tests, $H = 10,65$, $p < 0,01$; $H = 7,34$, $p < 0,05$, respectivamente). Las localidades del grupo 4 sólo mostraron diferencias significativas para la conductividad (K-S test, $p < 0,025$). De esta forma, los análisis comparativos entre grupos se realizaron utilizando todas las variables, excepto pH y conductividad (*Capítulo 4*).

Los análisis se realizaron mediante el programa STATISTICA v.7.1 © (StatSoft, 2005).

Análisis genéticos y filogenéticos (Objetivos 3 y 4)

La extracción de ADN se realizó a partir de 352 organismos conservados previamente en alcohol absoluto. Se obtuvieron secuencias parciales del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (cox1, 541 pb) y dos genes nucleares: factor de elongación 1- α (ef1 α ; 484 pb) y el ribosomal 28S de su subunidad D3 (28S; 703 pb). El DNA se extrajo del segmento abdominal con el kit comercial Promega WizardSV. Estos genes se amplificaron siguiendo el protocolo desarrollado en Múrria *et al.* (2012) donde se modificaron los cebadores de cox1 según Pauls *et al.* (2003). Todos los segmentos de ADN amplificados fueron secuenciados en ambas direcciones con el secuenciador ABI 3770 (Applied Biosystems) usando Big Dye Terminator ver. 3.1. Todas las secuencias ABI fueron editadas con Sequencer ver. 4.6 (Gene Codes Corp, Ann Harbor, MI, USA) y alineadas utilizando la versión online de mafft 5.8 (Katoh *et al.*, 2005).

Por su alta variabilidad intraespecífica y su distribución en grupos que coinciden mayoritariamente con especies, el gen cox1 es ampliamente usado para estudios de taxonomía molecular y genética de poblaciones. Para realizar

el análisis filogenético se utilizaron 44 ejemplares pertenecientes a 27 especies morfológicas de dos tribus dentro de la subfamilia Limnephilinae Kolenati, 1848, Chaetopterygini Hagen, 1858 y Stenophylacini Schmid, 1955, además de la especie *Druus bosnicus* Klapálek, 1899 (Trichoptera, Limnephilidae) como out-group. Para las especies que no se pudieron conseguir ejemplares (ver Material y métodos), las secuencias de genes *cox1* se obtuvieron de GenBank (Capítulo 5). Las secuencias de *cox1* se colapsaron en haplotipos y solo se usó una copia de cada haplotipo para obtener un árbol filogenético de máxima verosimilitud con RAxML v.7.3.0 (Stamatakis, 2006) con el modelo de sustitución GTR + γ . Con este árbol se obtuvo una primera aproximación de la diversidad de especies y se escogieron uno o dos individuos de cada una para secuenciar los genes *ef1 α* y 28S usados para construir la filogenia (objetivo 4). Todos los genes tuvieron muy poca variabilidad y no se detectó ninguna inserción o delección, por esto se alinearon visualmente. Con los tres genes encadenados se obtuvo un árbol de máxima verosimilitud realizado mediante RAxML v.7.3.0 (Stamatakis, 2006) con un modelo de sustitución GTR + γ , usado separadamente para cada uno de los genes. El mejor árbol fue seleccionado con 100 inferencias múltiples y el soporte para cada clado se estimó con la media de 1000 bootstraps no paramétricos replicados sobre la matriz original usando un modelo GTRCAT.

Para los análisis genéticos poblacionales se calculó el número de haplotipos, los nucleótidos segregados y la diversidad nucleotídica π para cada población (Nei, 1987). Para cada especie se calculó la diferenciación genética basada en la secuencia de nucleótidos con el índice S_{nn} (Hudson 2000) que permite inferir el flujo genético entre sus poblaciones (objetivo 3). Estos cálculos se realizaron con el programa DNA.SP v5 (Librado & Rozas, 2009). Debido a que el número de poblaciones con más de cuatro individuos por especie de *Annitella* fue muy reducido, no se pudo analizar la distribución de la varianza molecular (AMOVA), que es un estadístico ampliamente utilizados para estimar flujo genético entre poblaciones, y éste solo se pudo inferir

mediante el índice Snn. Este dato es un primer indicador de la reducida distribución y abundancia de las especies de *Annitella* en Sierra Nevada. Para visualizar las relaciones entre los haplotipos, se construyó una red de haplotipos de parsimonia estadística con un límite de conexión 95% usando TCS v.1.21 (Clement, 2000).

Evaluación del esfuerzo de muestreo realizado entre décadas (Objetivo 5)

En el estudio comparativo realizado entre las dos décadas de muestreo en Sierra Nevada (objetivo 5, *Capítulo 6*), se evaluó el esfuerzo de muestreo en los dos periodos. Para ello se calcularon las curvas de acumulación de riqueza de especies en ambas épocas con el programa EstimateS (Colwell, 1997; Colwell *et al.*, 2004) y se ajustaron mediante la ecuación de Clench (Fagan & Kareiva, 1997; Moreno & Halffter, 2000) utilizando el método de estimación de Simplex y Quasi - Newton:

$$\text{Riqueza acumulada} = a \times n / (1 + b \times n)$$

Siendo “n” las unidades de esfuerzo de muestreo, “a” la tasa de incremento de nuevas especies al comienzo del inventario y “b” un parámetro relacionado con la forma de la curva. “a/b” es la asíntota de la curva (riqueza de especies predichas por la curva) (Soberon & Llorente, 1993; Colwell & Coddington, 1994). La asíntota de cada curva, indica el número máximo de especies esperadas y, por lo tanto, su comparación con el número de especies detectadas informa de si el esfuerzo de muestreo realizado es o no suficiente. En general se supone que la detección de más del 70% de las especies esperables según los valores de la asíntota se considera apropiado para la caracterización de la biodiversidad de una zona de estudio (Jiménez-Valverde & Hortal, 2003).

Estudio del efecto del cambio climático en las condiciones ambientales de los ríos de Sierra Nevada (Objetivo 5)

Para comparar la variación de caudal en los ríos de Sierra Nevada

durante las dos décadas estudiadas (*Capítulo 6*) se realizó un análisis de la varianza de medidas repetidas tomando la variable localidad como factor intra-grupos y las variables año de estudio y magnitud de caudal (alto *vs.* bajo, ver Toma de datos y análisis de muestras medioambientales) como factores fijos o entre-grupos (*Capítulo 6*).

La variación de la temperatura del agua y de la riqueza de especies de tricópteros entre las dos épocas que se compararon, también se calcularon mediante un análisis de medidas repetidas tomando la orientación de la localidad de muestreo (vertiente norte *vs.* vertiente sur) como factor fijo o entre-grupos y el periodo de estudio y la estación del año (primavera, verano y otoño) como factores aleatorios o intra-grupos.

Todos estos análisis se llevaron a cabo utilizando el programa STATISTICA v.7.1 © (StatSoft, 2005) (*Capítulo 6*).

Estudio del efecto del cambio climático sobre la riqueza y distribución de tricópteros en Sierra Nevada (Objetivo 5)

La relación entre el aumento de la temperatura y los cambios observados en la riqueza de especies para las distintas estaciones de muestreo se estimó mediante un Modelo Lineal Generalizado (GLM) tomando como variable dependiente las diferencias de riqueza entre distintos periodos de muestreo y como covariables la altitud y la diferencia de temperaturas entre periodos de muestreo para cada punto de muestreo. También se incluyeron en el modelo las variables ambientales elevadas al cuadrado para observar posibles relaciones no lineales. Por último se incluyeron la estación del año (primavera, verano, otoño) y la orientación de la localidad (vertiente norte *vs.* vertiente sur) como factores discretos fijos para controlar estadísticamente la posible influencia de la pendiente y la estacionalidad en los cambios detectados en la riqueza de especies de tricópteros.

Todos estos análisis se llevaron a cabo utilizando el programa STATISTICA v.7.1 © (StatSoft, 2005).

Resultados y discusión



Río Valdecasillas, primavera 2009

BLOQUE 1: DIVERSIDAD DE TRICÓPTEROS EN SIERRA NEVADA

Listado faunístico

Se confirmó la presencia de 42 especies de tricópteros en cotas medio-altas de Sierra Nevada (*Capítulo 1*, Sáinz-Bariáin *et al.*, 2013), añadiendo casi 20 especies a las registradas para este macizo montañoso en la Lista faunística y bibliográfica de los tricópteros de la península ibérica e islas Baleares publicada en 1992 (González *et al.*, 1992) (Tabla 2, Anexo 3). Las diferencias encontradas entre Sierra Nevada y otros macizos montañosos de la península ibérica, especialmente de la mitad norte, en cuanto a la diversidad de tricópteros se habían achacado a factores ecológicos e históricos y a la falta de estudios exhaustivos sobre este orden de insectos en el sur peninsular (González *et al.*, 1987). Tras los resultados mostrados se ratifica que ésta última era una de las razones de la baja biodiversidad detectada. Con este estudio se amplía también el conocimiento de las preferencias ecológicas (zona fluvial, altitud, microhábitat o preferencia de sustrato, velocidad de corriente, temperatura y periodo de emergencia) de las especies presentes en el macizo (ver Tabla 1 del *Capítulo 1*), completando la información recopilada en (Graf *et al.*, 2008).

En la tabla 2 se observa que la mayoría de las especies citadas (57%, 24 especies) son de amplia distribución, propias de las regiones montañosas de Europa occidental. Sin embargo, es importante destacar que los elementos más originales de su fauna pertenecen al conjunto de los endemismos ibéricos (21%, 9 especies). En concreto algunas especies meridionales, tales como: *Rhyacophila nevada* Schmid, 1952, *Hydropsyche infernalis* Schmid, 1952, *Plectronemia geniculata almoravida* McLachlan, 1871, *Limnephilus obsoletus* Rambur, 1842, *Annitella esparraguera* Schmid, 1952 y *A. iglesiasi* González & Malicky, 1988, son, todas ellas, especies con series tipo procedentes de localidades de Sierra Nevada.

Tabla 2. Listado de especies de tricópteros conocidas para Sierra Nevada y su rango altitudinal en el macizo. Las especies están ordenadas según Malicky (2005) (Malicky 2005). También se detalla su distribución mundial en base a los trabajos de Bonada *et al.* (2004, 2008) y de Graf *et al.* (2008) y su categoría corológica.

Nombre de la especie	Distribución altitudinal en Sierra Nevada	Distribución mundial	Categoría corológica
<i>Rhyacophila meridionalis</i> E. Pictet, 1865	1000-2900	Sur de Europa	EUROPEA
<i>Rhyacophila munda</i> McLachlan, 1868	800-1800	Sur de Europa y norte de África	PALEÁRTICA
<i>Rhyacophila nevada</i> Schmid, 1952	800-2600	Endemismo ibérico	IBÉRICA
<i>Rhyacophila occidentalis</i> McLachlan, 1879	1200-2100	Sur de Europa	EUROPEA
<i>Glossosoma boltoni</i> Curtis, 1834	1000-1500	Europa	EUROPEA
<i>Glossosoma privatum</i> McLachlan, 1884	700-900	Endemismo ibérico	IBÉRICA
<i>Agapetus fuscipes</i> Curtis, 1834	1000-1800	Europa central y occidental	EUROPEA
<i>Stactobia furcata</i> Mosely, 1930	1700-1800	Sur de Europa	EUROPEA
<i>Oxyethira unidentata</i> McLachlan, 1884	800-1000	Mediterráneo y norte de África	PALEÁRTICA
<i>Hydroptila vectis</i> Curtis, 1834	800-1800	Suroeste de Asia, Europa y norte de África	PALEÁRTICA
<i>Philopotamus montanus</i> (Donovan, 1813)	1000-2100	Europa	EUROPEA
<i>Wormaldia occipitalis</i> (Pictet, 1834)	1100-1200	Centro y sur de Europa	EUROPEA
<i>Hydropsyche iberomaroccana</i> González & Malicky, 1993	500-700	Península ibérica y norte de África	IBEROMAGREBÍ
<i>Hydropsyche incognita</i> Pitsch, 1993	800-1700	Centro y sur de Europa	EUROPEA

Tabla 2-Continuación

Nombre de la especie	Distribución altitudinal en Sierra Nevada	Distribución mundial	Categoría corológica
<i>Hydropsyche infernalis</i> Schmid, 1952	800-1900	Endemismo ibérico	IBÉRICA
<i>Hydropsyche instabilis</i> (Curtis, 1834)	800-1900	Europa	EUROPEA
<i>Hydropsyche pellucidula</i> (Curtis, 1834)	1100-1300	Europa	EUROPEA
<i>Hydropsyche tibialis</i> McLachlan, 1884	1000-2100	Endemismo ibérico	IBÉRICA
<i>Plectrocnemia conspersa</i> (Curtis, 1834)	1300-2900	Europa	EUROPEA
<i>Plectrocnemia geniculata almoravida</i> Malicky, 1986	1200-1800	Endemismo ibérico	IBÉRICA
<i>Polycentropus kingi</i> McLachlan, 1881	1000-1900	Europa y norte de África	PALEÁRTICA
<i>Tinodes assimilis</i> McLachlan, 1865	900-1900	Europa occidental	EUROPEA
<i>Brachycentrus maculatum</i> (Fourcroy, 1785)	700-1350	Asia y Europa	PALEÁRTICA
<i>Micrasema longulum</i> McLachlan, 1876	1200-2500	Centro y sur de Europa	EUROPEA
<i>Micrasema cf. minimum</i> McLachlan, 1876	1400-1500	Sur de Europa	EUROPEA
<i>Micrasema moestum</i> (Hagen, 1868)	1000-2150	Sur de Europa y norte de África	IBEROMAGREBÍ
<i>Lepidostoma basale</i> (Kolenati, 1848)	1000-1900	Europa excepto Escandinavia	EUROPEA
<i>Lepidostoma hirtum</i> (Fabricius, 1775)	1200-1300	Europa	EUROPEA

Tabla 2-Continuación

Nombre de la especie	Distribución altitudinal en Sierra Nevada	Distribución mundial	Categoría corológica
<i>Anomalopterygella chauviniana</i> (Stein, 1874)	1000-2900	Sur de Europa	EUROPEA
<i>Limnephilus obsoletus</i> Rambur, 1842	2700-2900	Endemismo ibérico	IBÉRICA
<i>Potamophylax latipennis</i> (Curtis, 1834)	1200-2900	Siberia y Europa	PALEÁRTICA
<i>Halesus tessellatus</i> Rambur, 1842	1000-2800	Siberia y Europa	EUROPEA
<i>Stenophylax crossotus</i> McLachlan, 1884	1200-1300	Mediterráneo y Europa occidental	EUROPEA
<i>Stenophylax nycterobius</i> (McLachlan, 1875)	2400-3100	Centro y sur de Europa y norte de África	PALEÁRTICA
<i>Stenophylax cf. permistus</i> McLachlan, 1895	1400-1500	Asia y Europa	PALEÁRTICA
<i>Mesophylax aspersus</i> (Rambur, 1842)	1100-1200	Europa occidental, región mediterránea y Asia sudoccidental	PALEÁRTICA
<i>Allogamus mortoni</i> (Navás, 1907)	1000-1500	Sur península ibérica y norte de África	IBEROMAGREBÍ
<i>Annitella esparraguera</i> Schmid, 1952	1600-2800	Endemismo ibérico	IBÉRICA
<i>Annitella iglesiasii</i> González & Malicky, 1988	1600-2900	Endemismo ibérico	IBÉRICA
<i>Athripsodes albifrons</i> (Linnaeus, 1758)	1000-1700	Europa	EUROPEA
<i>Adicella reducta</i> (McLachlan, 1865)	800-1900	Europa	EUROPEA
<i>Sericostoma vittatum</i> Rambur, 1842	1000-2900	Endemismo ibérico	IBÉRICA

El 21% de las especies (9 especies) colectadas en este trabajo se han citado por primera vez gracias a la revisión del material de colección y a los

nuevos muestreos: *Hydropsyche incognita* Pitsch, 1993, *H. pellucidula* (Curtis, 1834), *Plectrocnemia conspersa* (Curtis, 1834), *Brachycentrus maculatum* (Fourcroy, 1785), *Micrasema minimum* McLachlan, 1876, *Stenophylax crossotus* McLachlan, 1884, *S. nycterobius* (McLachlan, 1875), *S. permistus* McLachlan, 1895 y *Allogamus mortoni* (Navás, 1907). Otro 21% (9 especies) corresponden a citas recogidas y publicadas en trabajos posteriores a la lista faunística de González *et al.* (1992): *Glossosoma boltoni* Curtis, 1834, *Hydropsyche tibialis* McLachlan, 1884, *Polycentropus kingi* McLachlan, 1881, *Micrasema moestum* (Hagen, 1868), *Lepidostoma hirtum* (Fabricius, 1775), *Halesus tessellatus* Rambur, 1842, *Mesophylax aspersus* (Rambur, 1842), *Atbripsodes albifrons* (Linnaeus, 1758) y *Sericostoma vittatum* Rambur, 1842 (Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1995; Tierno de Figueroa *et al.*, 2000; Bonada *et al.*, 2004b, 2008). Por último, casi un 10% (4 especies) corresponde a especies que fueron citadas (González *et al.*, 1992), pero que no se han vuelto a capturar durante el desarrollo de esta tesis: *Glossosoma privatum* McLachlan, 1884, *Stactobia furcata* Mosely, 1930, *Oxyethira unidentata* McLachlan, 1884 e *Hydropsyche iberomaroccana* González & Malicky, 1999).

Por otro lado, además de la riqueza de especies en el macizo, otro resultado relevante obtenido a raíz de la realización de esta tesis es que se amplía el rango de distribución conocido hasta el momento de la mayoría de las especies. En gran medida este aumento se debió a un incremento de las localidades muestreadas o estudiadas. Sin embargo, como se explicará más adelante (ver *Capítulo 6*) también ha resultado ser un efecto del cambio climático, una migración en altitud en el caso de varias especies. En los *Capítulos 1, 3, 4 y 5* se muestra que las especies endémicas, *A. esparraguera* y *A. iglesiasi*, tienen una distribución más amplia de lo que se conocía. Según el Libro Rojo de Invertebrados de Andalucía, *A. esparraguera* se considera En peligro (EN) debido a su restringida área de distribución y a las pocas capturas que se tenían hasta el momento (Ruiz-García, 2008 en Barea-Azcón *et al.*, 2008). Antes de esa publicación, esta especie había sido citada sólo en Sierra Nevada (Schmid, 1952a) y en la Sierra de Cazorla (Sipahiler, 1998).

Posteriormente se citó en la Sierra de Baza (Bonada *et al.*, 2008). Tras el presente estudio, en Sierra Nevada se amplía el número de localidades en las que se encuentra, por lo que parece tener una distribución más amplia de lo esperado en las sierras Béticas. En Sierra Nevada, además de en las proximidades de sus localidades tipo (Laguna de las Yeguas y Valle del Lanjarón; Schmid, 1952a), situadas en la vertiente norte, se localizó en la vertiente sur, concretamente en la cabecera del Río Laroles. Por su parte, *A. iglesiasi* se capturó, además de en la localidad tipo (Barranco de Manuel Casas; (González & Malicky, 1988), situada en la vertiente norte de Sierra Nevada, en varias localidades tanto de la vertiente norte como de la sur, citándose por primera vez desde su descripción. Es por ello, por lo que se la había catalogado con datos insuficientes (DD) en el Libro Rojo de Invertebrados de Andalucía (Barea-Azcón *et al.*, 2008). Hasta el momento sólo se conocía el holotipo, que era un ejemplar braquíptero (González & Malicky, 1988) resultando tras el presente estudio que no todos los ejemplares los son (*Capítulo 1*, Sáinz-Bariáin *et al.*, 2013). Como ya se ha indicado en la introducción, ambas especies pertenecen a la familia Limnephilidae, grupo que incluye a casi la mitad de las especies citadas por primera vez en el *Capítulo 1*. A pesar de ser la familia con mayor número de especies en Europa aún se desconoce gran parte de la taxonomía larvaria y de la biología de muchas de sus especies. En relación a otras especies de esta familia, *L. obsoletus* presentó una distribución restringida a la vertiente norte de Sierra Nevada, sólo se capturó en los Borreguiles del río Dílar y los Borreguiles del río Monachil (entre los 2900-2700 m), en las proximidades de su localidad tipo (Laguna de las Yeguas, (Schmid, 1952a) (*Capítulo 1*). Esta especie no aparece incluida en el Libro Rojo de Invertebrados de Andalucía pero se considera que de la misma manera que sí lo están *A. esparraquera* y *A. iglesiasi*, por su rareza y restringida área de distribución, también lo debería estar *L. obsoletus*. Se trata de otro endemismo ligado exclusivamente a las cotas altas de la vertiente norte de Sierra Nevada. Por otro lado, *S. nycterobins* es una especie de amplia distribución que en otras regiones

europas se distribuye por debajo de los 1000 m (Graf *et al.*, 2008), pero en Sierra Nevada se ha capturado en arroyos de cabecera hasta los 3000 m de altitud (*Capítulos 1 y 2*), observándose cambios fenológicos importantes que se describirán más adelante.

De cualquier forma, la riqueza de especies en el sur peninsular sigue mostrándose más pobre si se compara con la del norte. Incluso si comparamos datos dentro de la región mediterránea, la riqueza de tricópteros es más baja en las cuencas del centro y sureste; atribuyéndose estas diferencias, en parte, a la dureza del clima (Bonada *et al.*, 2004b, 2008). Cabe destacar que la mayoría del material colectado en este estudio es material larvario y que el conocimiento taxonómico de las larvas de tricópteros es aún muy incompleto, lo que hace también muy difícil o imposible su identificación a nivel de especie.

Descripciones larvarias

Como ya se ha comentado, los tricópteros son insectos holometábolos cuya mayor parte del ciclo vital (estadios larvarios y pupa) ocurre dentro del agua. Por lo tanto, el hecho de que exista un vacío tan importante en el conocimiento taxonómico de muchas especies, no favorece, entre otras cosas, la conservación de estos ecosistemas ni de las especies que puedan estar posiblemente amenazadas por las alteraciones del hábitat y del clima. Los insectos acuáticos tienen un papel fundamental en el estudio de los efectos antrópicos, como el cambio climático (Hering *et al.*, 2009), pero el paso previo a la conservación de un grupo es conocer su diversidad.

Dentro del objetivo 1, además de ampliar el conocimiento faunístico de este grupo de insectos en Sierra Nevada, se planteó la realización de descripciones larvarias para algunas de las especies que aún se desconoce su larva, así como la modificación de las claves de identificación existentes para incluirlas. Así, en el *Capítulo 2* se presenta la descripción de la larva de *Stenophylax nycterobius* (Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz, 2012b). Además se construyó una clave para poder distinguir las especies ibéricas de este género.

El género *Stenophylax* está formado por 49 especies paleárticas (Morse,

2014) de las cuales 11 se han citado en la península ibérica y de estas sólo cinco se han descrito e incluido en claves taxonómicas hasta el momento: *S. crossotus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007); *S. permistus* (Frochot, 1962; Moretti, 1983; Waringer & Graf, 1997, 2011; Wallace *et al.*, 2003); *S. sequax* (Moretti, 1983; Waringer & Graf, 1997, 2011; Wallace *et al.*, 2003); *S. testaceus* (Waringer & Graf, 1997, 2011); y *S. vibex* (Waringer & Graf, 1997, 2011; Wallace *et al.*, 2003). *S. nycterobius* había sido descrita anteriormente por Lepneva (1966), e incluso aparece en claves taxonómicas europeas como *Micropterna nycterobia* (Lechthaler & Stockinger, 2005, Waringer & Graf, 1997, 2011), sin embargo los caracteres presentados resultaban insuficientes para diferenciarla de las otras especies del género presentes en la península ibérica. Aunque en algunos trabajos todavía se mantiene la existencia de dos géneros distintos; *Stenophylax* Kolenati, 1848 y *Micropterna* Stein, 1874 (Malicky, 2004, 2005, 2013), la tendencia actual es mantener su separación ya que según (Botosaneanu, 1992), no hay un solo caracter que permita la separación de estos géneros (González, 2013; Morse, 2014).

En base a los caracteres morfológicos estándares propuestos por (Waringer, 1993) para la identificación larvaria de los Limnephilidae, esta larva se incluye en el grupo *permistus* (Schmid, 1957). Los caracteres diagnósticos más importantes para distinguir esta larva de la de otras especies conocidas del género *Stenophylax* son los siguientes:

- Presencia de dos manchas amarillas bien definidas en la parte posterior de la cabeza bastante más visible que en el resto de las especies del género (Figura 14).
- Presencia de espínulas sobre la cápsula cefálica cubriendo las superficies dorsales y laterales de los parietales hasta la parte posterior del ojo, como en *S. crossotus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007).



Figura 14. Vista dorsal de la cápsula cefálica de *S. nycterobius*.

En *S. permistus* la ubicación de las espínulas aparece, por el contrario, limitada a dos áreas pequeñas detrás de los ojos (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007).

- Presencia de sedas a lo largo del borde anterior de las protuberancias laterales del primer segmento abdominal, como la mayoría de las especies del género *Allogamus* y en *S. vibex* (Camargo & García de Jalón, 1988; González & Ruiz, 2001 en Ruiz-García *et al.*, 2004) (Figura 15).

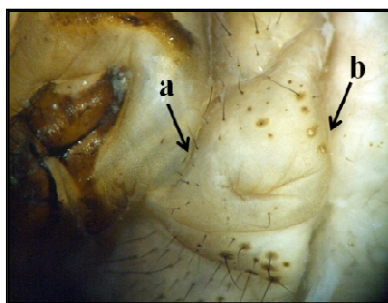


Figura 15. Segmento abdominal I, protuberancia lateral, a: sedas a lo largo del borde anterior de la protuberancia, b: escleritos en la parte posterior de la protuberancia.

- Presencia de 2 escleritos pequeños y separados en la región posterior de la protuberancia lateral del segmento abdominal I, como *S. crossotus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007) (Figura 15). *S. permistus* presenta tres escleritos (Waringer & Graf, 1997, 2011; Wallace *et al.*, 2003) y *S. sequax* ninguno (Vieira-Lanero, 2000).
- Presencia de sedas adicionales en la cara anterior y posterior de los fémures meso y metatorácicos, como en *S. crossotus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007), *S. permistus* (Waringer & Graf, 1997) y *S. sequax* (Wallace *et al.*, 2003) (Figura 16).
- Presencia de 8 sedas (2C, intermedias centrales) en el borde posterior

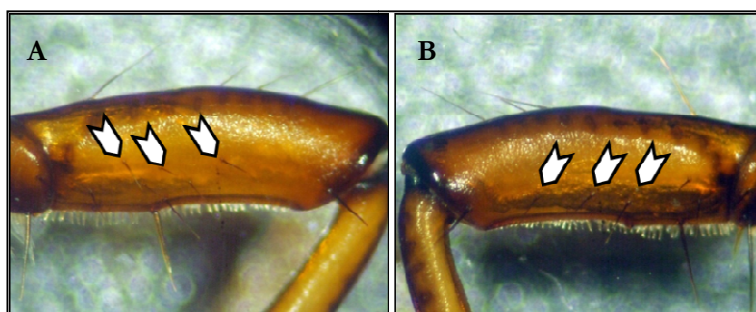


Figura 16. Sedas adicionales en la cara anterior y posterior de los fémures mesotorácicos. (A) Cara anterior. (B) Cara posterior.

del esclerito dorsal del segmento abdominal IX como *S. crossotus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007) (Figura 17). *S. permistus* tiene 7 sedas (1C, intermedia central) (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007).

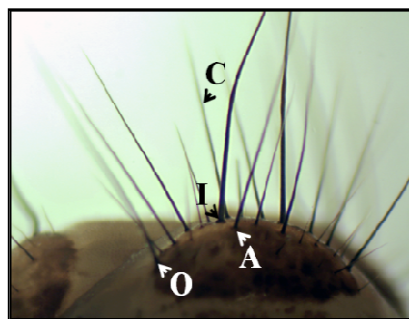


Figura 17. Quetotaxia del segmento abdominal IX, vista dorsal.

- Construcción de estuches minerales estrechos y ligeramente curvados, como *S. sequax* (Vieira-Lanero, 2000); aunque alguna vez pueden presentar fragmentos vegetales en la parte posterior, como en *S. crossotus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007) (ver estuche 1, Figura 18). La mitad anterior es mucho más gruesa en los últimos estadios, cerca de la fase de pupa (ver estuches 2 y 3, Figura 18). Por el contrario, las larvas de



Figura 18. Estuches, 1: estadio IV, 2: estadio V, 3, estadio V cercano a la pupación.

S. permistus y *S. vibex* construyen estuches rectos y de material vegetal (Vieira-Lanero, 2000; Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007).

Además de describir las características morfológicas de esta especie, en el *Capítulo 2* también se actualiza una clave anterior de Camargo & García de Jalón (1988) propuesta para la identificación de los géneros ibéricos de los Limnephilidae. Para ello se sustituyen los pasos de clave del 8 al 12 en base a las aportaciones de trabajos publicados con posterioridad a la clave (Waringer & Graf, 1997, 2011; Vieira-Lanero, 2000; Wallace *et al*, 2003; Ruiz-García *et al*,

2004; Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007) y a observación propia (Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz, 2012b). Aunque *S. testaceus* pertenece al género *Stenophylax* (González, 2013, Morse, 2014), esta especie no se ha incluido en la clave de acuerdo con Vieira-Lanero (2000). Este autor sugiere que esta especie ha de agruparse junto con el género *Melampophylax* Schmid, 1955, por la ausencia de dientes y de estrías en la concavidad central de las mandíbulas.

Por último, se presenta el estudio del ciclo de vida de esta especie en Sierra Nevada (Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz, 2012b). A pesar de que en otras regiones europeas esta especie se distribuye por debajo de los 1.000 m (Graf *et al.*, 2008), en Sierra Nevada, puede localizarse en arroyos de cabecera hasta los 3.000 m de altitud. Además, se han observado cambios fenológicos y comportamentales en relación con el ciclo de vida descrito en otras localidades europeas e ibéricas a menor altitud (Bouvet 1971, 1974; Salavert *et al.*, 2011). De tal manera que a pesar de considerarse una especie troglófila en la que los adultos migran a cuevas para sufrir diapausa estival, en Sierra Nevada, los adultos atrasan la emergencia hasta septiembre y realizar la puesta inmediatamente después (Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz 2012b).

Como ya se ha indicado, las larvas de la familia Limnephilidae son difíciles de identificar hasta la categoría de especie, ya que los estadios juveniles de algunas especies presentan morfologías bastante similares y es difícil hallar caracteres diagnósticos. Así, como herramienta complementaria al trabajo descriptivo para diferenciar las larvas de las dos especies del género *Annitella* presentes en Sierra Nevada (*A. esparaguera* y *A. iglesiasi*; Capítulo 3), se utilizaron los análisis moleculares realizados para el estudio de genética de poblaciones y la filogenia del género (objetivos 3 y 4). Una vez diferenciadas las especies genéticamente fue más fácil encontrar caracteres morfológicos relevantes para distinguirlas.

Hasta la realización de esta tesis doctoral sólo se conocían las descripciones de las larvas de último estadio de 3 de las 14 especies que forman el género: *A. obscurata* descrita por Lepneva (1966), *A. thuringica* descrita por

Bolzhuber (1998) y, por último, *A. apfelbecki* descrita por Waringer *et al.* (2009). De éstas, sólo las dos primeras habían sido incluidas en claves taxonómicas por Waringer & Graf (1997, 2011) y Lechthaler & Stockinger (2005). En base a los caracteres morfológicos estándares propuestos por (Waringer, 1993) para la identificación larvaria de los Limnephilidae, las larvas del género *Annitella* pertenecen al grupo *auricollis* (ver *Capítulo 3*) junto con otras especies del género *Chaetopteryx* Stephens, 1837. En las claves citadas, las especies del género *Annitella* se diferencian del resto por la forma y tamaño de los escleritos anteromedianos, en relación a la distancia de separación entre ambos. Así, el carácter diagnóstico que separaría las larvas del género *Annitella* descritas hasta el momento de las del género *Chaetopteryx* es el de presentar escleritos más anchos que largos siendo la distancia media que los separa menor que su longitud (Waringer & Graf, 1997, 2011; Lechthaler & Stockinger, 2005; Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz, 2012b) y con bordes divergentes hacia la parte posterior (Lechthaler & Stockinger, 2005). Sin embargo, según los resultados presentados en el *Capítulo 3* de esta tesis, las larvas de *A. esparraguera* y *A. iglesiasi* no cumplirían esa regla. Con el fin de resolver esta controversia, se estudiaron las características diagnósticas más importantes para distinguir las larvas de estas especies entre sí y de las otras especies conocidas:

- *A. esparraguera* presenta el apotoma ventral de la capsula cefálica de color marrón claro (Figura 19A), mientras que en *A. iglesiasi* es más oscuro y estrecho (Figura 19B).

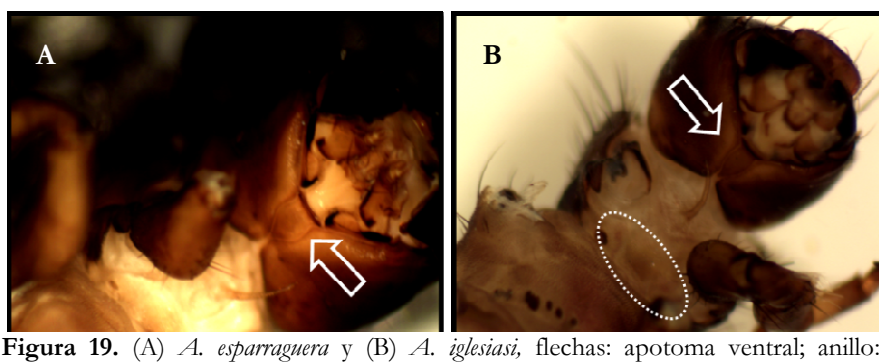


Figura 19. (A) *A. esparraguera* y (B) *A. iglesiasi*, flechas: apotoma ventral; anillo: prosternito central.

- En las dos especies descritas en este trabajo, el tercio anterior del pronoto es bastante más oscuro que la parte posterior (Figura 20). Según este caracter, *A. esparraguera* y *A. iglesiasi* quedarían agrupadas junto a las especies *Consorophyllax*

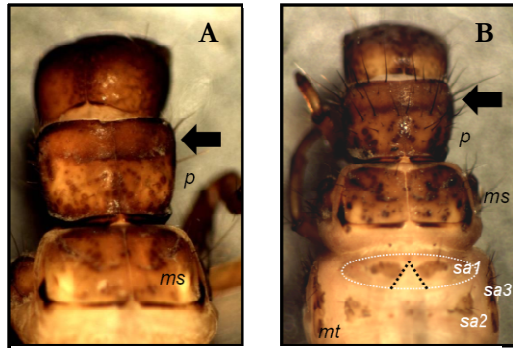


Figura 20. Cabeza y tórax, vista dorsal de (A) *A. esparraguera* and (B) *A. iglesiasi*; *p* = pronoto; *ms* = mesonoto; *mt* = metanoto; *sa1-3* = áreas setales; flecha negra: parte anterior del pronoto; anillo y líneas punteadas: escleritos anteromedianos y sus márgenes.

styriacus Botosaneanu,

1967 y *C. consors* (McLachlan, 1880) según la clave de Waringer & Graf (2011), diferenciándose del resto de las especies conocidas del género *Annitella*.

- *A. iglesiasi* presenta un prosternito central pentagonal cuya longitud es semejante a la anchura (anillo de la Figura 19B) similar al que presenta *A. thuringica* (Waringer & Graf, 2011). Sin embargo, en *A. esparraguera* la anchura del prosternito central es 1,5 veces mayor que su



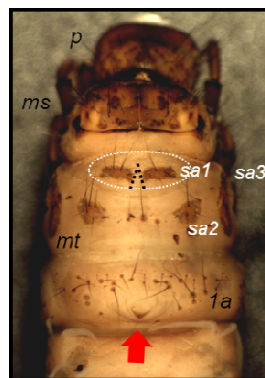
Figura 21. *A. iglesiasi*, flecha: prosternito central.

longitud (Figura 21), siendo similar al de *A. obscurata* (Waringer & Graf, 2011).

- En ambas especies, los escleritos anteromedianos metatorácicos son pequeños y estrechos y la distancia que los separa es mucho mayor que su longitud a lo largo del eje longitudinal del cuerpo (Figuras 22 y 20B). Como ya se ha comentado, estos caracteres difieren con respecto al resto de especies conocidas del género (Lechthaler &

Stockinger, 2005; Waringer & Graf, 2011).

Figura 22. Cabeza y tórax, vista dorsal de *A. esparraquera*; *p* = pronoto; *ms* = mesonoto; *mt* = metanoto; *sa1-3* = áreas setales; anillo y líneas punteadas: escleritos anteromedianos y sus márgenes; flecha roja: seda en la parte posterior de la protuberancia lateral.



- Por último, en *A. iglesiasi*, la protuberancia dorsal del segmento abdominal I presenta sedas posteriores, igual que en el resto de especies conocidas del género. Sin embargo, en *A. esparraquera* puede aparecer tan solo una seda posterior en algunos ejemplares (ver flecha roja en la Figura 22).

En el *Capítulo 3* también se presenta una clave dicotómica que nos permite diferenciar las larvas de *A. esparraquera* y *A. iglesiasi* del resto de larvas de las especies conocidas del grupo, así como de especies cercanas pertenecientes a otros géneros. Para ellos, se modifica la clave europea de Waringer & Graf (2011) dónde se incluyen las larvas de *A. obscurata* y *A. thuringica* (“KEY TO DRUSINAE, CHAETOPTERYGINI & STENOPHYLACINI”; página 150).

Tras el estudio de las dos especies del género *Annitella* se comprobó que no siempre se cumple el caracter utilizado en las claves citadas anteriormente así como en la clave propuesta al describir *S. nycterobius* en el *Capítulo 2* de esta tesis doctoral para diferenciar el género.

BLOQUE 2: ESTRATEGIAS VITALES DE ESPECIES ENDÉMICAS

Caracterización y estudio del hábitat de las especies endémicas

Annitella esparraquera presenta un rango de distribución más amplio que *A. iglesiasi* ya que, además de en Sierra Nevada, también habita en dos sistemas

montañosos cercanos; Sierra de Baza y Sierra de Cazorla. Durante el desarrollo de esta tesis, estas dos especies sólo se capturaron en 7 de las 47 localidades muestreadas en Sierra Nevada, cohabitando en tres: Río Alhama, Río Laroles y Río Pasillos (Anexo 1 y Figura 5). Aunque ambas especies habitan arroyos y ríos de media-alta montaña, *A. esparaguera* puede vivir a mayor altitud (ver Figura 1 en el capítulo 4 y Tabla 1 en el capítulo 5) y *A. iglesiasii* tolera ciertos niveles de contaminación orgánica (nitritos y nitratos) (Figura 23). Sin embargo ninguna fue capturada en localidades con elevada conductividad y concentración de sulfatos, calcio, magnesio y cloro (Figura 23).

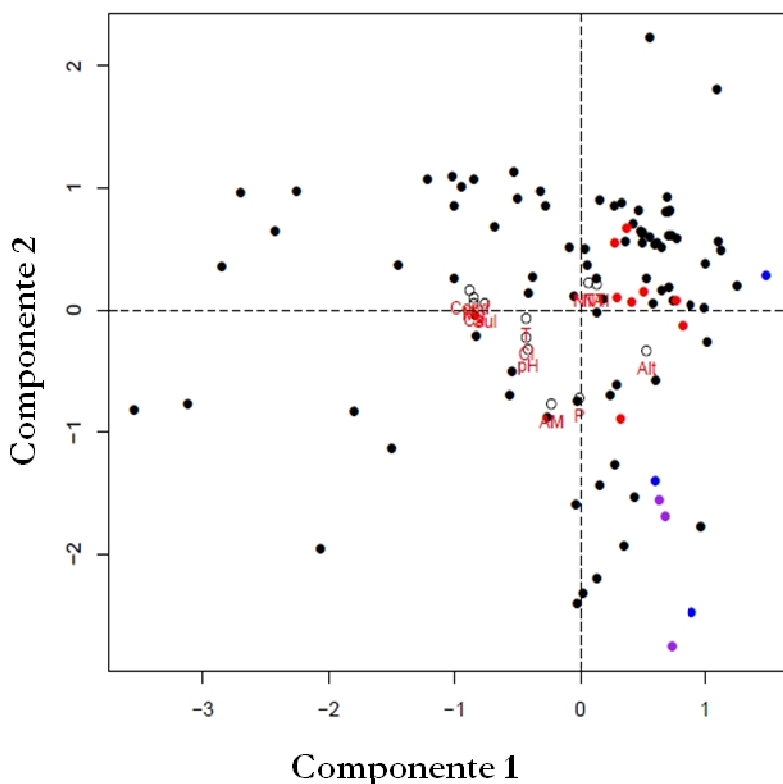


Figura 23. Resultados del Análisis de Componentes Principales de las variables ambientales medidas estacionalmente (primavera, verano y otoño) en 47 localidades de Sierra Nevada. En rojo se señalan las localidades donde se encuentra *A. iglesiasii*, en azul donde sólo se encuentra *A. esparaguera* y en morado donde se capturaron ambas especies. En negro se indican las localidades sin *Annitella*. Las variables ambientales se señalan en rojo de la siguiente manera: Alt, Altitud; T, temperatura; pH; Cond, conductividad; AM, amonio; P, fósforo; NIT, nitritos; NTA, nitratos; Sul, sulfatos; Ca, calcio; Mg, magnesio; Cl, cloruro.

Debido al amplio gradiente altitudinal de Sierra Nevada, se observan diferencias climáticas y físicas en las distintas localidades donde se estudió el ciclo de vida de las dos especies de *Annitella* endémicas de las sierras Béticas. Las larvas de estas especies habitan en zona de orillas con baja velocidad de corriente y escasa profundidad. Las localidades situadas a una mayor altitud en Sierra Nevada se consideran zona alpina y el paisaje dominante es el “Borreguil”. Los bordes de los arroyos están cubiertos por pastizales húmedos formados por la acumulación de agua de deshielo y dominadas por musgos, hierbas y plantas herbáceas. Por lo tanto, las larvas se capturaron sobre lecho fangoso, con arena y piedras, y sobre musgo, en aguas frías poco oxigenadas y de mineralización débil. Por el contrario, las localidades situadas a menor altitud, así como la situada en la Sierra de Baza, presentan características de ríos de montaña mediterránea. En estas localidades las larvas se encontraron en zonas fangosas con piedras, cerca de raíces o sobre macrófitos. El agua tendió a ser más cálida y presentar una mayor mineralización.

Si se observa el registro de temperaturas tomados cada hora en las localidades españolas, se aprecia que la temperatura en la Sierra de Baza fue

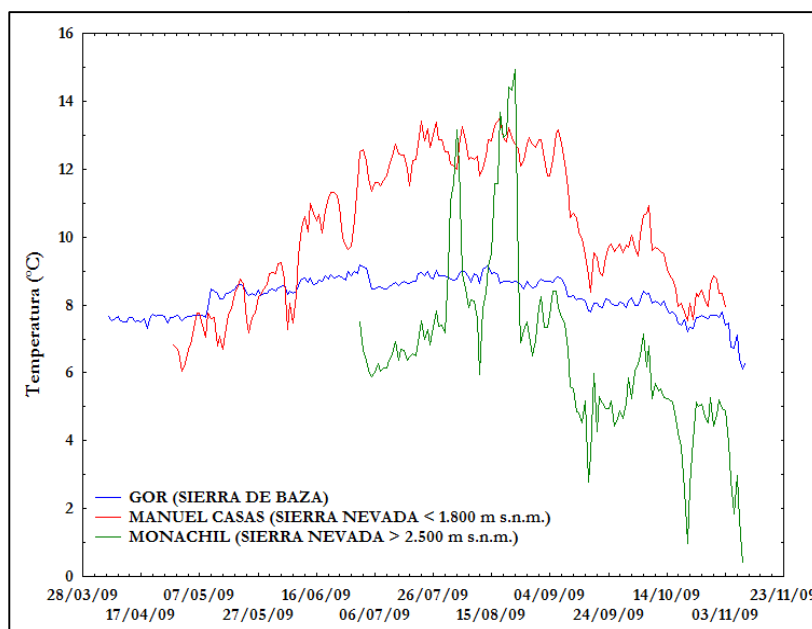


Figura 24. Temperatura media diaria tomada en las tres localidades monoespecíficas de España.

bastante estable, tanto anual como diariamente (Figura 24). Sin embargo, en Sierra Nevada, existen grandes diferencias en relación con la altitud de tal manera que, en las localidades situadas por encima de los 2.500 m, además de registrarse temperaturas más bajas, existió una mayor diferencia entre el día y la noche, así como entre estaciones del año, siendo mucho más elevada la temperatura registrada en los pocos meses en que se encuentra desprovista de nieve (Figura 24).

Por otro lado, la especie *A. obscurata* se capturó en las dos localidades muestreadas en Noruega entre un rango altitudinal de 718 a 125 m. s.n.m. (Figura 6), en un mesohabitat y condiciones físicas (profundidad del agua y velocidad de corriente) similares a las localidades españolas. Las larvas de esta especie también habitan cerca de las orillas sobre diferentes tipos de substrato, principalmente sobre macrófitos. Los parámetros físico-químicos medidos en estas localidades reflejan la mayor tolerancia de esta especie a un amplio rango de temperaturas y conductividad: 3,30 a 18,50 °C, y 4,90 a 159,90 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Tabla 3).

Tabla 3. Características ecológicas de las localidades situadas en Noruega en las que se estudió el ciclo de vida de *Annitella obscurata*. MOPG: materia orgánica particulada gruesa, MOPF: materia orgánica particulada fina, C/N: relación de contenido de carbono y nitrógeno. N, número de muestras; Media, valor medio; SE, error estándar

	ATNA			MJØSA		
	N	MEDIA	SE	N	MEDIA	SE
Temperatura °C	5	5,82	0,83	5	13,66	2,26
Conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	5	8,40	24,80	5	86,72	24,80
MOPG (g m^{-2})	8	0,03	0,01	8	0,05	0,02
C/N MOPG	8	15,11	10,53	7	7,98	4,75
MOPF (g m^{-2})	9	0,02	0,01	9	0,04	0,02
C/N MOPF	9	5,51	2,29	9	3,15	2,71

Al comparar las variables ambientales medidas en las localidades dónde se estudió el ciclo de vida de las especies del género, tanto en España como en Noruega (Anexo 2), se vió que mostraban características ecológicas bastante similares (Tablas 3 y 4). Se observaron diferencias marginalmente significativas para la temperatura (K-W tests, $H=7,90$, $p=0,05$), debido a las altas temperaturas registradas en las localidades por debajo de los 1.800 m. en Sierra Nevada. También se encontraron diferencias en la cantidad y calidad de materia orgánica presente, tanto para la MOPG (K-W test, $H=31,98$, $p<0,01$; $H=17,39$, $p<0,01$, respectivamente) como para la MOPF (K-W test, $H=35,36$, $p<0,01$; $H=23,19$, $p<0,01$, respectivamente) (Capítulo 4).

Ambas especies endémicas constituyen una pequeña proporción (4,8 a 9,1%, Tabla 2 en Capítulo 4) de la fauna total de tricópteros en las localidades donde se estudió el ciclo de vida (Dílar, Monachil y Manuel Casas), siendo esta proporción incluso menor en las localidades situadas a mayor altitud (Dílar y Monachil; Tabla 2 en Capítulo 4). En las dos localidades situadas en Noruega, *A. obscurata* constituye casi el 15% de la fauna total de tricópteros.

Respecto a la fauna de tricópteros acompañante, en todas las localidades predominaron especies de la familia Limnephilidae, Rhyacophilidae, Sericostomatidae, Leptoceridae, Glossosomatidae y Philopotamidae. En las localidades a menor altitud de Sierra Nevada, también Hydropsychidae. En las nórdicas, sobre todo abundaron los Limnephilidae y Rhyacophilidae (Capítulo 4). Estas especies eran en su mayoría depredadoras, trituradoras y raspadoras (Graf *et al.*, 2008).

Tabla 4. Características ecológicas de las localidades españolas en las que se estudió el ciclo de vida de las especies endémicas de *Annitella*. MOPG: materia orgánica particulada gruesa, MOPF: materia orgánica particulada fina, C/N: relación de contenido de carbono y nitrógeno. N, número de muestras; Media, valor medio; SE, error estándar.

	DÍLAR			MONACHIL			LAROLES			MANUEL CASAS			PASILLOS			GOR		
	N	MEDIA	SE	N	MEDIA	SE	N	MEDIA	SE	N	MEDIA	SE	N	MEDIA	SE	N	MEDIA	SE
Temperatura °C	6	8,23	1,06	5	7,94	1,02	8	12,01	1,03	7	12,07	0,98	8	9,66	0,59	7	9,56	0,20
pH	6	7,35	0,24	5	7,48	0,14	8	7,42	0,18	7	8,00	0,07	8	7,51	0,08	7	8,24	0,02
Conductividad (µS cm ⁻¹)	6	18,35	1,23	5	21,50	0,51	8	33,13	1,19	7	60,84	10,46	8	32,20	1,27	7	248,71	6,78
O ₂ (ppm)	6	6,49	1,03	5	6,42	0,68	8	5,99	0,60	7	6,45	0,38	8	6,73	0,65	7	6,80	0,79
O ₂ (%)	6	74,50	6,38	5	79,20	6,74	8	68,96	6,44	7	71,20	4,46	8	67,13	7,78	7	77,86	6,53
Caudal (m ³ s ⁻¹)	6	0,00	0,00	5	0,02	0,01	8	0,02	0,01	7	0,32	0,14	8	0,17	0,04	7	0,08	0,04
Clorofila a (mg cm ⁻²)	6	0,01	0,00	6	0,01	0,01	9	0,00	0,00	6	0,00	0,00	9	0,00	0,00	9	0,01	0,00
Amonio (mg l ⁻¹)	3	0,17	0,14	3	0,15	0,13	3	0,03	0,01	3	0,02	0,02	3	0,14	0,10	3	0,03	0,01
Fosfatos (mg l ⁻¹)	3	0,00	0,00	3	0,02	0,01	3	0,01	0,01	3	0,00	0,00	3	0,01	0,00	3	12,00	12,00
Nitritos (mg l ⁻¹)	3	0,00	0,00	3	0,00	0,00	3	0,00	0,00	3	0,01	0,01	3	0,00	0,00	3	1,50	1,50
Nitratos (mg l ⁻¹)	3	0,02	0,02	3	0,04	0,03	3	0,00	0,00	3	0,03	0,02	3	0,01	0,01	3	0,00	0,00

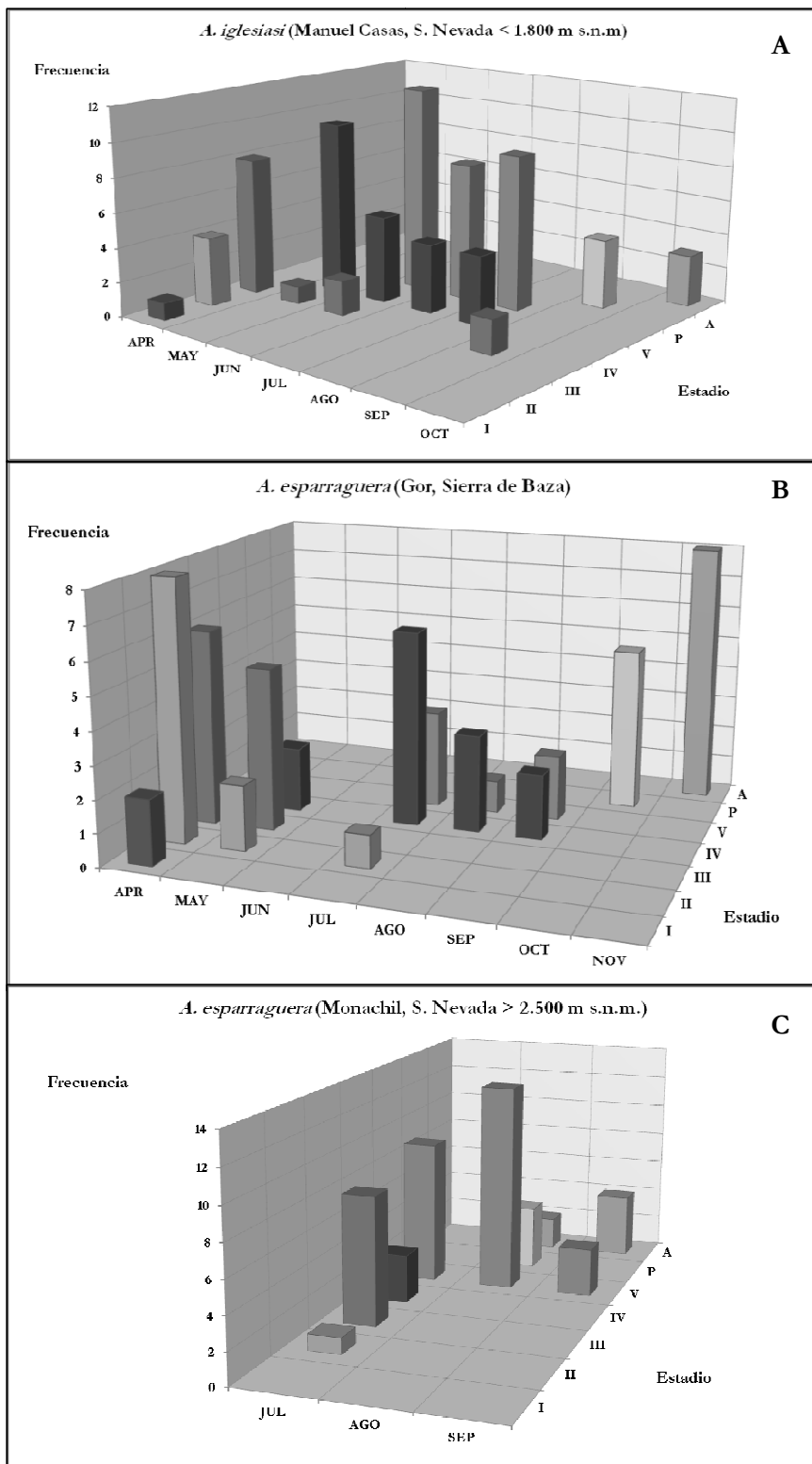
Tabla 4 - *Continuación*

	DiLAR			MONACHIL			LAROLES			MANUEL CASAS			PASILLOS			GOR		
	N	MEDIA	SE	N	MEDIA	SE	N	MEDIA	SE	N	MEDIA	SE	N	MEDIA	SE	N	MEDIA	SE
Sulfatos (mg l⁻¹)	3	5,99	0,86	3	2,85	0,12	3	2,70	0,05	3	5,55	0,13	3	5,91	1,79	3	1,77	0,42
Ca (mg l⁻¹)	3	34,80	17,26	3	14,70	7,28	3	19,38	9,46	3	85,60	15,20	3	14,85	7,58	3	273,60	10,40
Mg (mg l⁻¹)	3	16,71	7,50	3	5,16	2,15	3	12,23	5,81	3	43,50	4,62	3	15,35	7,52	3	70,71	6,07
Cloro (mg l⁻¹)	3	15,38	1,18	3	16,57	1,18	3	21,30	0,00	3	15,98	1,78	3	18,93	1,18	3	17,75	0,00
MOPG (g m⁻²)	6	0,41	0,13	9	0,59	0,19	12	0,28	0,06	7	0,33	0,17	12	0,93	0,35	9	0,08	0,03
C/N MOPG	6	16,31	3,09	9	14,93	2,52	12	53,28	32,57	8	23,13	3,29	12	22,06	5,64	11	23,91	4,19
MOPF (g m⁻²)	5	0,44	0,19	7	0,56	0,18	4	0,37	0,18	11	1,01	0,20	13	0,61	0,11	6	0,27	0,19
C/N MOPF	5	48,24	37,05	7	10,19	1,43	6	19,50	3,31	11	21,33	8,63	13	31,60	15,50	7	12,80	1,87

Descripción de los ciclos de vida y estudio de las estrategias vitales

Los insectos acuáticos presentan una gran diversidad de estrategias que les permiten habitar en distintos ambientes. Así, pueden presentar diferencias en las estrategias de reproducción y de dispersión, la duración del ciclo de vida, tasa de crecimiento, la velocidad de desarrollo y la fenología en las distintas etapas de su ciclo vital (Hershey *et al.*, 2010). En el caso de las tres especies estudiadas en el objetivo 2 (*Capítulo 4*), todas mostraron un ciclo de vida univoltino, pero se encontraron diferencias fenológicas entre poblaciones y especies en relación al gradiente altitudinal de Sierra Nevada y al gradiente latitudinal estudiado. En las localidades situadas por debajo de los 1.800 m en Sierra Nevada y en la Sierra de Baza, las dos especies endémicas de *Annitella* presentaron estrategias similares a la hora de completar su ciclo de vida. En estas localidades se capturaron larvas de estadio I-III de ambas especies en abril y, a pesar de que en junio y julio ya se capturaron larvas de V estadio, los adultos no emergieron hasta otoño (Figura 25). Sin embargo, en las localidades situadas por encima de los 2.500 m en Sierra Nevada y en las dos localidades situadas en Noruega, tanto *A. esparraguera* como *A. obscurata*, emergieron a finales de septiembre, presentando un ciclo de vida más rápido (Figura 25).

En todas las localidades, el apareamiento se produjo inmediatamente después de la emergencia. Se capturaron parejas en cópula en la vegetación cerca de las orillas, bien a primera hora de la mañana o por la noche con trampas de luz. Además, se observaron puestas sobre piedras cercanas a las orillas. Observaciones de laboratorio mostraron que hembras realizan la puesta justo después de la cópula. Después de sumergirse en el agua la masa gelatinosa de huevos, estos eclosionan cinco semanas después. Aunque estas especies constituyen una baja proporción de la fauna de tricópteros en las localidades estudiadas, se observó un gran número de adultos de *A. esparraguera* (más de 100 individuos) emerger de forma sincrónica en el río Gor (Sierra de Baza).



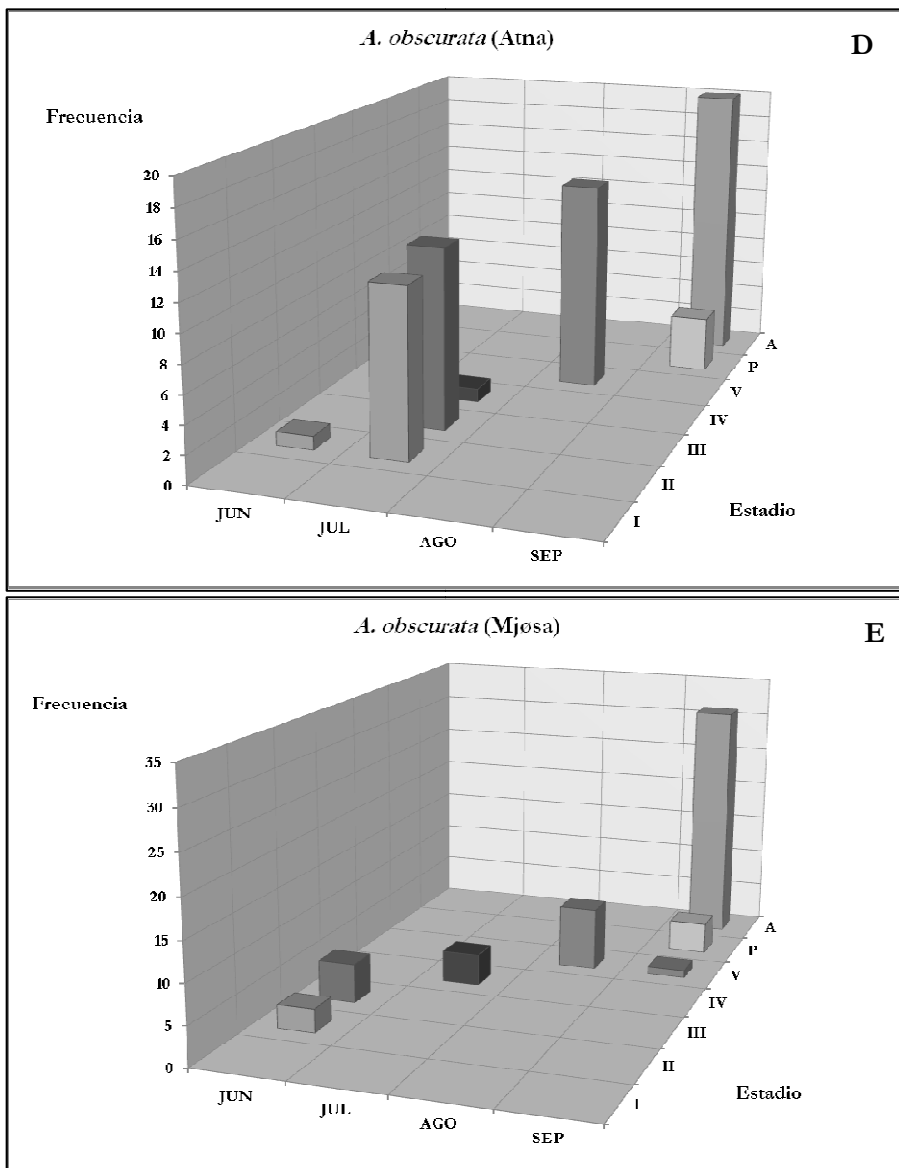


Figura 25. Estructura poblacional de *A. Anitella iglesisi* en Sierra Nevada (<1.800 m); B. *A. esparraguera* en la Sierra de Baza; C. *A. esparraguera* en Sierra Nevada (> 2.500m) y *A. obscurata* en D. Atna y E. Mjøsa.

BLOQUE 3: FILOGENIA DE LA SUBFAMILIA LIMNEPHILINAE Y ANÁLISIS GENÉTICOS POBLACIONALES DE DOS ESPECIES EUROPEAS DEL GÉNERO *ANNITELLA*

Estudio poblacional de A. esparraguera y A. iglesiasi y vulnerabilidad ante el cambio global

Las predicciones sobre cambio climático en el Mediterráneo indican un aumento tanto de la inestabilidad como de pérdida de hábitats (IPCC, 2007a). Bajo este escenario este estudio predice que las especies de *Annitella* en Sierra Nevada y su diversidad genética se perderán. La composición haplotípica de estas especies indica que *A. esparraguera* (con sólo un haplotipo en dos poblaciones situadas en diferentes cadenas montañosas) presentó una mayor homogeneización genética que *A. iglesiasi*. Para ambas especies la red de haplotipos fue muy compacta (Figura 26), lo que demuestra la baja diferenciación genética entre localidades. A su vez, no se detectó diferenciación genética entre poblaciones para ninguna de las dos especies (*A. esparraguera*, $S_{nn} = 0,38$, $p > 0,05$; *A. iglesiasi*, $S_{nn} = 0,13$, $p > 0,05$, Tabla 5). La ausencia de la estructura genética en ambas especies en Sierra Nevada y sierras próximas parece estar más relacionado con la baja diversidad genética intraespecífica y alta similitud entre las localidades estudiadas (Figura 26) que con un elevado flujo genético entre ríos debido a las pocos haplotipos obtenidos en las diferentes localidades.

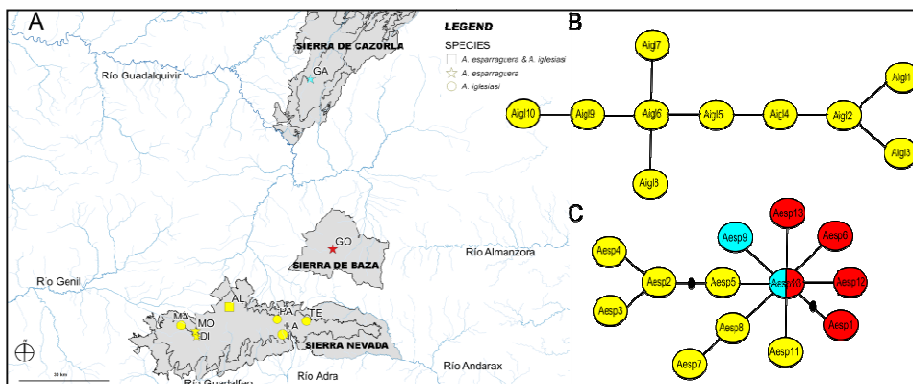


Figura 26. A. Localidades y distribución geográfica de los ejemplares estudiados en las sierras Béticas. B. Red de haplotipos para el gen *cox1* de *Annitella iglesiasi*. C. Red de haplotipos para el gen *cox1* de *A. esparraguera*. Los colores indicant las distintas poblaciones de Sierra Nevada, amarillo; Sierra de Baza, rojo; Sierra de Cazorla, azul.

El cambio climático global promueve movimientos latitudinales y altitudinales de las especies en busca de condiciones ambientales favorables (Parmesan & Yohe, 2003; Hickling *et al.*, 2006; Parmesan, 2006). Sin embargo las especies de cabeceras tolerantes al frío, como las del género *Annitella*, se encuentran bastante aisladas y limitadas ante el aumento de las temperaturas por la imposibilidad de migrar hacia altitudes más elevadas (Lehrian *et al.*, 2010; Taubmann *et al.*, 2011). Además, se verán amenazadas por especies más generalistas capaces de migrar y colonizar nuevos hábitats (Daufresne *et al.*, 2007; Domisch *et al.*, 2011). Los mecanismos que han causado la distribución genética actual de *Annitella* pueden estar asociados a una estabilidad a largo plazo de este tipo de hábitat, las aguas corrientes (Ribera *et al.*, 2003), a la limitada capacidad de dispersión tanto de larvas como adultos (morfología alar y braquipterismo de estas especies; Schmid, 1952; González & Malicky, 1988) y a las propias barreras genéticas intrínsecas en regiones montañosas, que limitan la dispersión de adultos entre cuencas (Finn *et al.*, 2011; Múrria *et al.*, 2013).

La vulnerabilidad de ambas especies de *Annitella* en Sierra Nevada es particularmente alarmante porque los resultados evidencian un gran número de haplotipos locales y únicos, una baja diferenciación genética dentro de las poblaciones y un limitado flujo genético entre ellas (Tabla 5). Su supervivencia puede depender de la plasticidad fenotípica y la capacidad de adaptación. Aunque la diversidad genética proporciona la base para la plasticidad fenotípica y la adaptabilidad (Forsman, 2014), *A. esparaguera* mostró una alta plasticidad fenotípica debido a los cambios fenológicos observados a lo largo del gradiente altitudinal de Sierra Nevada (*Capítulo 4*). De esta forma, aunque la diferenciación y la estructura genética advierten sobre la vulnerabilidad de estas dos especies, esta plasticidad fenotípica indica un potencial de adaptación si se conservan los hábitats que actualmente albergan *Annitella* en Sierra Nevada.

Análisis filogenético del género Annitella

En relación con los análisis filogenéticos realizados para la subfamilia Limnephilinae, la estimación por máxima verosimilitud realizada indicó un alto

soporte de los tres clados de las dos tribus incluidas en el análisis: Stenophylacini y Chaetopterygini (Figura 27). En el género *Annitella* se distinguieron dos clados principales, concordando la filogenia obtenida en base a caracteres moleculares con la sistemática en base a caracteres morfológicos (ver Morse, 2014). Se confirma, así, la subdivisión del género *Annitella* en 2 subgéneros, al separarse cada uno en un clado distinto. Por un lado, el subgénero *Annitella*, con especies separadas geográficamente: *A. chomiacensis*, *A. triloba*, *A. lateroproducta* (Cárpatos y este de los Balcanes), *A. esparraguera*, *A. amelia*, *A. sanabriensis*, *A. pyrenaea* (distintos sistemas montañosos de la Península Ibérica), *A. thuringica* (Cárpatos) y *A. apfelbecki* (Balcanes). Por otro, *Praeanitella* (con 2 especies, *A. iglesiasi* y *A. obscurata*) y que aparece junto con los géneros *Chaetopteryx* y *Chaetopterygopsis* (Figura 6 y Figura 27). Las especies *A. chomiacensis*, *A. triloba* y *A. lateroproducta* no aparecen bien soportadas dentro del género. Por el contrario, *A. esparraguera* presenta buen soporte y aparece junto con *A. apfelbecki*, *A. thuringica*, *A. amelia*, *A. sanabriensis* y *A. pyrenaea*. Las especies *A. obscurata* y *A. iglesiasi* también aparecen bien soportadas dentro del género. A su vez, los géneros *Halesus*, *Potamophylax* y *Stenophylax* aparecen bien soportados dentro del árbol, mientras que *Allogamus* resultó parafilético (Figura 27).

Tabla 5. Localidad, cuenca, altitud y localización geográfica de los sitios de donde se han secuenciado individuos de *Annitella esparraguera* y *A. iglesiasii* para el análisis de genética de poblaciones. Para cada localidad se indican los individuos secuenciados (N), el número de haplotipos (h) y su identificación (Id), la diversidad nucleotídica π y el estadístico Snn usado para calcular la diferenciación genética y el valor de p asociado.

Especies	Localidad (Código)	Cuenca	X_UTM	Y_UTM	Alt.	Sistema montañoso	N	h (Id)	S	π	Snn (p-value)
<i>A. esparraguera</i>	Río Alhama (AL)	Guadalquivir	477554	4112204	2150	Sierra Nevada	2	2 (5,11)	2	0.0037	
	Borreguiles Monachil (MO)	Genil	465816	4103202	2679	Sierra Nevada	14	3 (2,3,4)	4	0.00247	
	Borreguiles Dílar (DI)	Genil	466148	4104564	2855	Sierra Nevada	2	2 (7,8)	1	0.00185	
	Río Gor (GO)	Guadalquivir	513147	4133118	1773	Sierra de Baza	16	5 (1,6,10,12,13)	5	0.0037	
	Nacimiento Guadalquivir (GA)	Guadalquivir	505475	4194974	1378	Sierra de Cazorla	8	2 (9,10)	1	0.00185	
TOTAL							42	13	10	0.00481	0.38 (>0.05)
<i>A. iglesiasii</i>	Río Alhama (AL)	Guadalquivir	477554	4112204	2150	Sierra Nevada	4	4 (1,2,6,8)	5	0.00555	
	Río Laroles (LA) *	Adra	495909	4102162	1753	Sierra Nevada	6	4 (5,6,7,10)	5	0.0037	
	Manuel Casas (MA)	Genil	460987	4105369	1704	Sierra Nevada	19	5 (2,3,4,6,9)	5	0.00481	
	Barranco de los Tejos (TE)	Andarax	504076	4107093	1500	Sierra Nevada	1	1 (7)	-	-	
	Barranco Pasillos* (PA)	Guadalquivir	493948	4107674	1646	Sierra Nevada	2	2 (6,7)	1	0.00185	
TOTAL							32	10	8	0.00444	0.13 (>0.05)

* Localidades donde se encontraron las especies, pero no se amplificó el ADN.

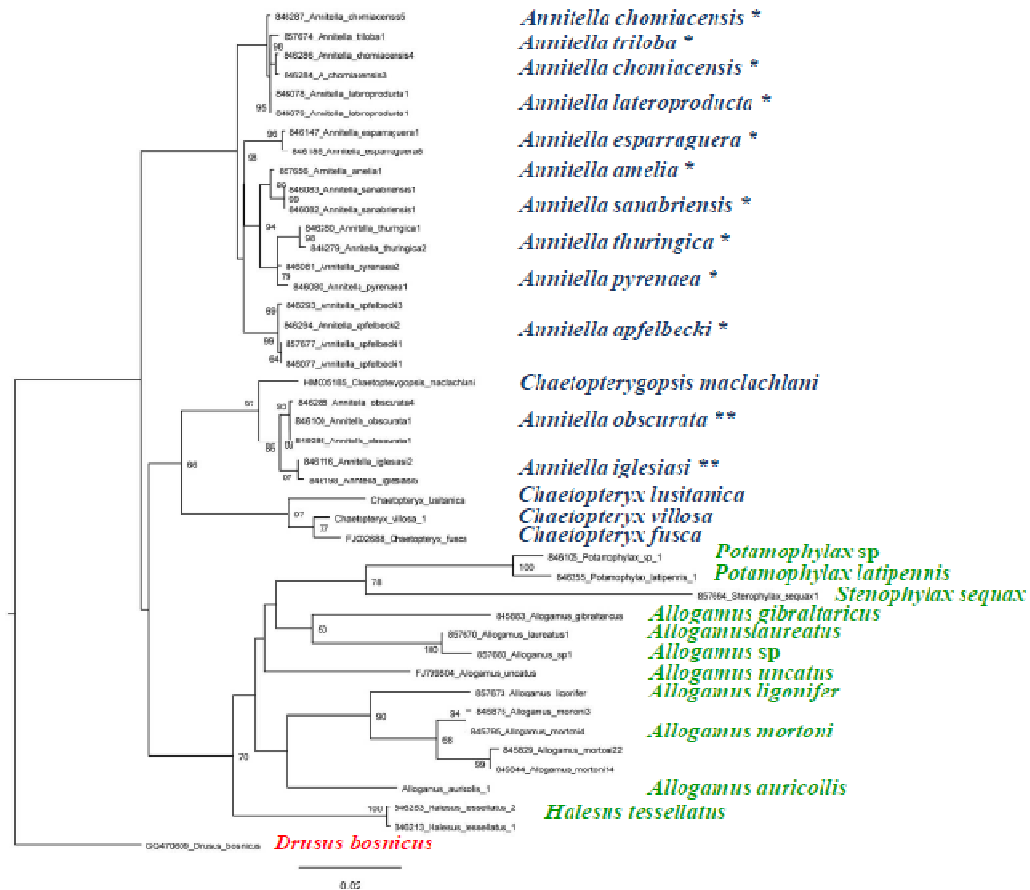


Figura 27. Relaciones filogenéticas entre 27 especies morfológicas de dos tribus de la subfamilia Limnephilinae: Chaetopterygini (géneros *Anitella*, *Chaetopterygopsis* y *Chaetopteryx*) y Stenophylacini (géneros *Allogamus*, *Halesus*, *Potamophylax* y *Stenophylax*), y el grupo externo *Drusus bosnicus* (subfamilia Drusinae) basado en un análisis de máxima verosimilitud de tres genes: *cox1*, *28S* y *ef1a*. El soporte de las ramas viene indicado por los valores de bootstrap (> 60). En azul se marcan las especies de la tribu Chaetopterygini y en verde las de la tribu Stenophylacini. Con un * el subgénero *Anitella* y con ** el subgénero *Praeanitella*.

Los ciclos glaciales durante el Pleistoceno han afectado profundamente los patrones de biodiversidad en la región Paleártica (Hewitt, 2000). Así, las penínsulas mediterráneas han sido interpretadas como áreas importantes de refugios glaciales durante el Pleistoceno y "puntos calientes" de endemismos (Bilton *et al.*, 1998; Hewitt, 2004; Ribera & Vogler, 2004). Además se han sugerido la existencia también de otros refugios no mediterráneos, como la vertiente sur de las montañas de los Cárpatos (Bilton *et al.* 1998). En base a la elevada estructura genética detectada en Sierra Nevada con *A. esparraquera* y *A. iglesiasi* como consecuencia de su limitada dispersión, la filogenia de *Annitella* apoya claramente este modelo ya que contiene varias especies en refugios mediterráneos (seis especies endémicas ibéricas y tres ubicadas en los Balcanes) y tres especies endémicas localizadas en refugios no mediterráneos. La filogenia sugiere que *Annitella* es un género relictivo glacial que se expandió durante los períodos glaciales del Pleistoceno y sobrevivió períodos postglaciales en zonas de alta montaña. La diversificación se produjo por el aislamiento de las poblaciones en tramos medio-alto de ríos debido a sus limitadas capacidades de recolonización postglacial.

En Sierra Nevada, las dos especies endémicas en las sierras Béticas pertenecen a dos linajes distintos, con diferente historia evolutiva, lo que explica su concurrencia en Sierra Nevada. Las 9 especies filogenéticamente cercanas dentro del subgénero *Annitella* incluidas en la filogenia han acumulado pocas divergencias genéticas, lo que sugiere una separación reciente, y que puede estar asociado a las fluctuaciones glaciales cíclicas durante el Cuaternario. Este grupo de especies forman una serie morfológica en base a las similitudes de la genitalia masculina (Sipahiler, 1998) y, a pesar de la baja divergencia molecular, pueden encontrarse claras diferencias dentro de este linaje. Sin embargo, ha sido descritos varios híbridos entre especies, como por ejemplo *A. dziedzielowiczyi*, *A. kosciuszki* y *A. transylvanica* como resultado del cruce de *A. chomiacensis* y *A. lateroproducta* (Szczeny, 1979). Sin embargo, las dos especies del subgénero *Praeannitella* están claramente diferenciadas

genéticamente, lo que sugiere que la diversificación del linaje es anterior a la especiación dentro del subgénero *Annitella*. A pesar de ello, ambas especies muestran genitalias masculinas similares (González & Malicky, 1988; Sipahiler, 1998). La divergencia genética dentro *Praeanitella* y las similitudes morfológicas sugieren un largo aislamiento de la primitiva *A. obscurata* en Sierra Nevada y deriva genética asociada en alopatría, lo que podría explicar su especiación a *A. iglesiasi*. Este proceso evolutivo indica que la conectividad entre los Pirineos, que alberga a *A. obscurata*, y Sierra Nevada, con *A. iglesiasi*, está limitada desde hace largo tiempo.

Aunque se espera una alta diferenciación genética en las regiones mediterráneas consideradas refugios durante el Pleistoceno (Schmitt, 2007), *A. iglesiasi* y *A. esparraguera* presentan una baja diversidad genética entre sus poblaciones. Esto puede explicarse por un aislamiento y disminución del tamaño poblacional que con frecuencia presenta señales de reducida diversidad genética a través de cuellos de botella hasta que alcanzan el equilibrio (Knowles, 2009).

En general, este estudio advierte de los potenciales efectos del cambio climático en dos especies endémicas en Sierra Nevada a causa de su reducida distribución geográfica, estrecho nicho ecológico y limitada dispersión. Las especies endémicas más meridionales están especialmente en peligro como consecuencia de su baja capacidad de dispersión para colonizar el norte de Europa (Hering *et al.*, 2009). La baja diversidad genética detectada en *A. esparraguera* y *A. iglesiasi* parece estar más relacionada con procesos de extinción que con una baja tasa de divergencia, lo que indica una disminución del rango de distribución de las especies y de sus tamaños poblacionales. Por lo tanto, la baja diversidad genética intraespecífica puede estar asociada a un cuello de botella incipiente. Por otra parte, los insectos adaptados al frío se limitan a realizar cortos desplazamientos altitudinales compensatorios que extremadamente reducen su respuesta al calentamiento climático (Bálint *et al.*, 2011), lo que es especialmente dramático para el caso de las especies de

Annitella en Sierra Nevada. Hasta ahora los estudios sobre la vulnerabilidad de las especies a la extinción por el cambio climático inducido por el hombre comúnmente utilizaban modelización bioclimática para identificar los límites ambientales y predecir la futura distribución de las especies teniendo en cuenta los diferentes modelos climáticos (Araújo & New, 2006). Estos estudios ignoran la historia evolutiva, los mecanismos causantes de los rangos de distribución actual y asociaciones de especies, así como la dinámica de las poblaciones actuales. Esta aproximación mediante el uso del ADN integrando la distribución geográfica, las preferencias ambientales, historia evolutiva y los patrones genéticos ofrece información complementaria para obtener mejores predicciones de la vulnerabilidad de las especies bajo la amenaza del cambio climático.

BLOQUE 4: LOS TRICÓPTEROS COMO INDICADORES DEL CAMBIO GLOBAL

Efecto del cambio climático en las condiciones ambientales de los ríos de Sierra Nevada

El efecto del cambio climático sobre los ecosistemas fluviales podría ser dramático, principalmente por su acción sobre el régimen hídrico y térmico de los ríos (Domisch *et al.*, 2013). Se prevé que alterará en gran medida la frecuencia, magnitud y duración de las crecidas y sequías, así como su predictibilidad (Gibson *et al.*, 2005). Las crecidas y sequías están entre las principales perturbaciones de la biota fluvial, de tal manera que numerosas especies adaptan sus ciclos vitales al ciclo hidrológico, evitando que sus fases menos resistentes coincidan con las épocas de mayor riesgo de perturbación por avenidas (Lytle & Poff, 2004; Elosegi & Sabater, 2009). Por otro lado, en los ríos y arroyos de escaso caudal, la temperatura del agua va a verse notablemente afectada por el volumen de agua que discurre por el cauce ya que limitará su capacidad amortiguadora ante las fluctuaciones de la temperatura ambiente (Poole & Berman, 2001; van Vliet *et al.*, 2011). Por lo tanto, es

esperable que una disminución del caudal de los ríos intensifique el efecto del previsible aumento de la temperatura del agua como consecuencia del cambio climático.

De acuerdo con estas expectativas, en el *Capítulo 6* se muestra que, durante los últimos 40 años, se redujo significativamente el caudal de los dos ríos de la vertiente noroeste de Sierra Nevada estudiados. En general, el río Monachil mostró un mayor caudal que el río Dílar en ambos periodos de baja y alta magnitud de caudal, pero las diferencias encontradas entre ambos ríos fueron similares a lo largo del periodo de estudio (Figura 28). Se puede afirmar, por tanto, que el caudal de los ríos disminuyó por igual, independientemente de la variación estacional anual.

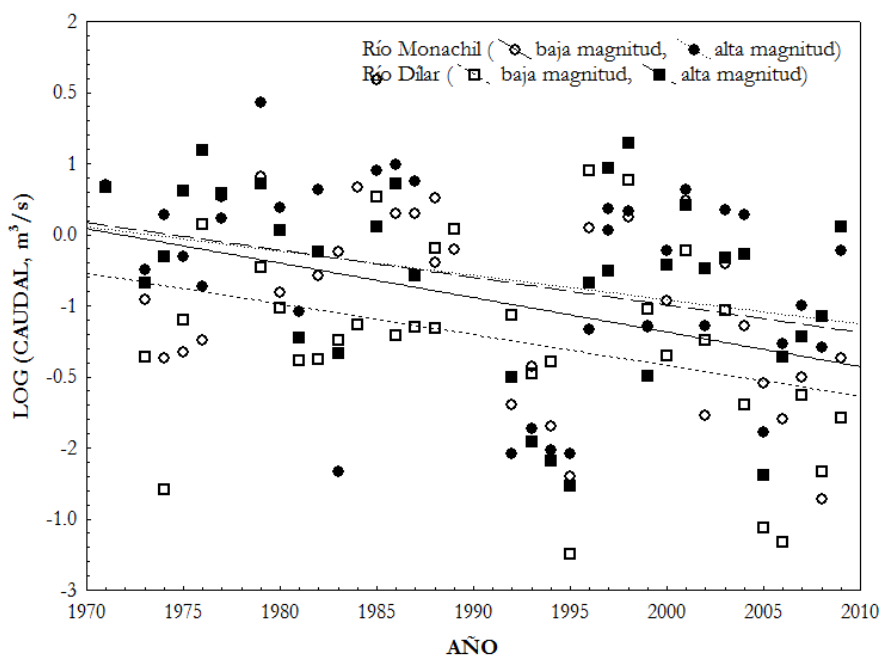


Figura 28. Tendencias en el caudal medio anual durante un período de 40 años (1970-2009).

Además de observarse una disminución del caudal, la temperatura media de las localidades estudiadas aumentó cerca de 2 °C en las últimas décadas. Este incremento en la temperatura fue especialmente detectable en

primavera y otoño y los efectos fueron de mayor magnitud en los ríos situados en la vertiente sur de Sierra Nevada (Figura 29). Históricamente los asentamientos humanos y el desarrollo de la agricultura han sido mayor en la vertiente Sur de Sierra Nevada, lo que podría conducir a un descenso del caudal de los ríos a consecuencia de un mayor uso del agua (Moreno *et al.*, 2010). Muchas de las acequias y tomas de agua para el regadío de almendros, olivares y otros cultivos hortofrutícolas se sitúan desde los 1.500 m de altitud y además de la disminución del caudal influyen en la degradación del hábitat de ribera (Hogan, 2012).

Efecto del cambio climático sobre la riqueza y distribución de tricópteros de Sierra Nevada

Son numerosos los estudios que documentan cambios en la composición de las comunidades distribuidas a lo largo de un gradiente altitudinal como consecuencia del cambio climático. Mundialmente, se prevé una reducción del número de especies por esta causa (Thomas *et al.*, 2004; Xenopoulos *et al.*, 2005; Isaak & Rieman, 2013). Sin embargo a escala local, podría aumentar o disminuir (Menéndez *et al.*, 2006) debido precisamente a la capacidad de dispersión de algunas especies y de adaptación de otras. En esta línea, en el *Capítulo 6*, se muestra que el aumento de la temperatura del agua y, sobre todo, la altitud de las localidades muestreadas explicaron las diferencias detectadas en la riqueza de especies de tricópteros a lo largo de los 20 años de estudio.

Se puede afirmar que la riqueza de especies de tricópteros en Sierra Nevada aumentó en relación con un calentamiento climático general en el área de estudio. Sin embargo, el mayor incremento ocurrió en localidades que experimentaron un descenso en la temperatura del agua en los últimos 20 años, mientras que los menores cambios se detectaron en localidades con menores cambios en la temperatura (Figura 30 y ver términos lineales y cuadráticos en Tabla 6). Sin embargo, estas asociaciones no llegaron a ser significativas por lo que deben tomarse con precaución.

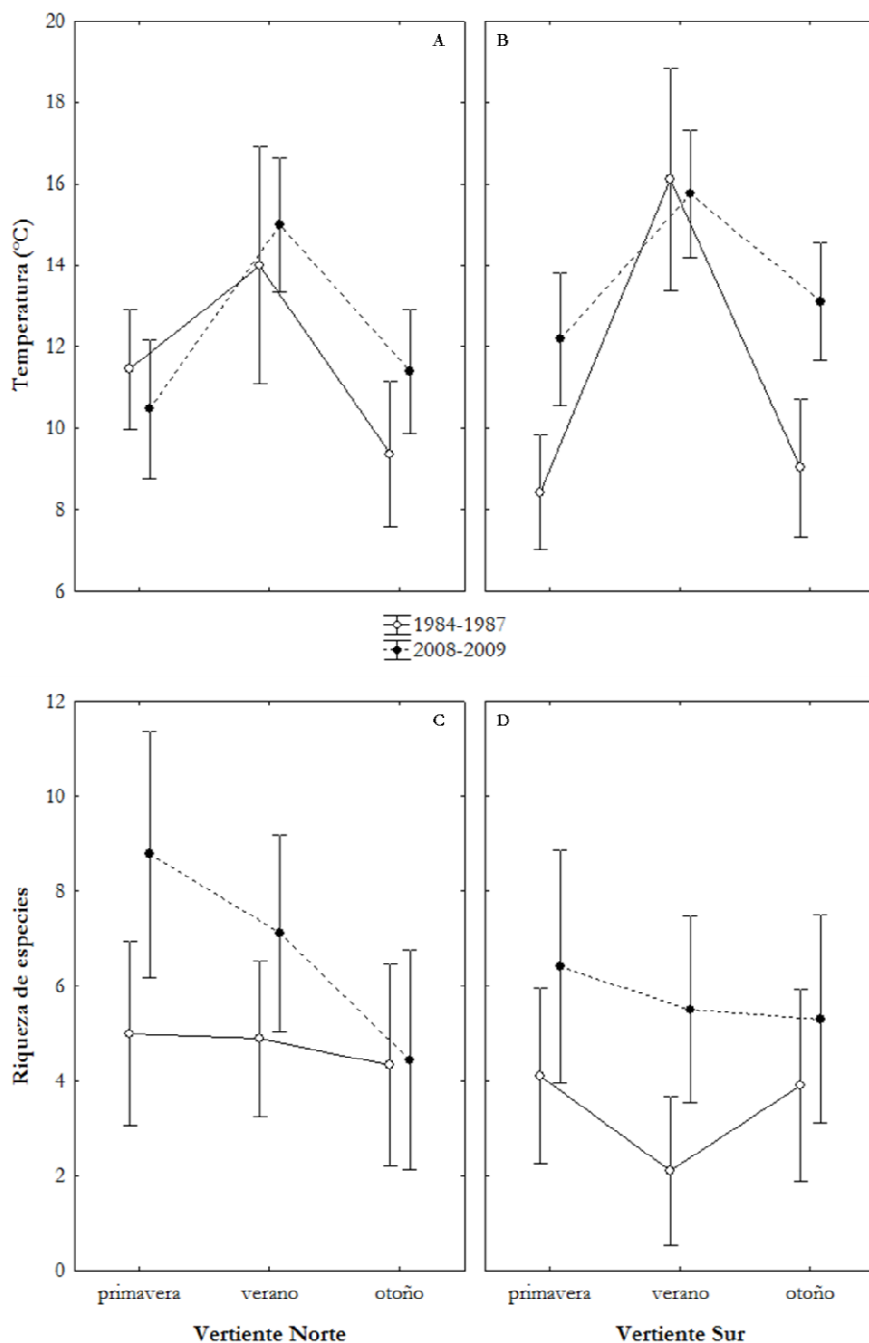


Figura 29. Media (\pm IC del 95%) de la temperatura y la riqueza de especies de tricópteros en los dos periodos de estudio, 1984-1987 y 2008-2009, tanto en la vertiente norte como sur de Sierra Nevada en las estaciones de primavera, verano y otoño.

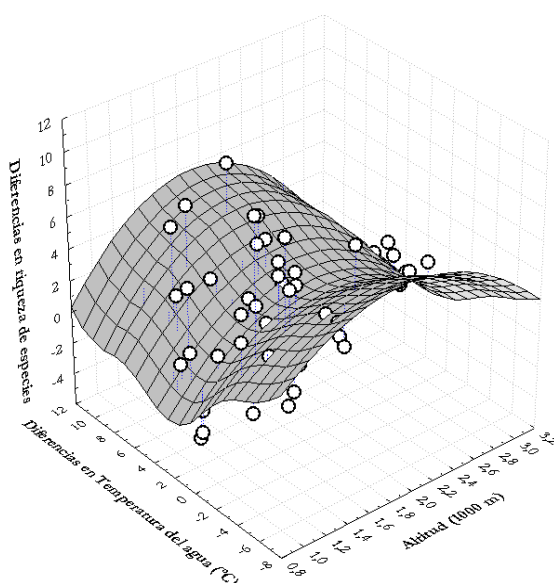


Figura 30. Relación entre los cambios detectados en la riqueza de especies de tricópteros, la altitud y los cambios experimentados en la temperatura del agua de las localidades de muestreo durante los últimos 20 años (2008-2009 *vs.* 1984-1987). Los puntos se ajustaron mediante *spline* cúbico, con rigidez ajustada a 0,25.

Tabla 6. Resultados del modelo GLM en el que se muestran el efecto de la altitud, las diferencias en temperatura de las localidades comparadas, estación del año (primavera, verano y otoño) y vertiente (norte *vs.* sur) sobre la diferencia en riqueza de especies durante los últimos 20 años. Se incluyen los términos cuadráticos de altitud y diferencias en temperatura. El efecto de la interacción entre la vertiente y la estación se estimó en un modelo separado.

	Beta	SE (Beta)	F	df	p
Altitud (1000 m) (Alt)	2,48	0,77	10,39	1, 49	0,002
Alt ²	-2,55	0,77	10,95	1, 49	0,002
Diferencias en temperatura (T)	-0,27	0,17	2,43	1, 49	0,125
T ²	0,28	0,15	3,26	1, 49	0,077
Estación del año			2,00	2, 49	0,146
Vertiente			0,99	1, 49	0,3325
Estación del año*Vertiente			1,00	2, 47	0,374

Por otra parte, se encontró una asociación más robusta entre el cambio observado en la riqueza de especies y la altitud de las localidades estudiadas, sobre todo en localidades situadas a altitud intermedia dentro del rango estudiado. Este resultado sugiere que las condiciones ambientales locales pueden predecir parcialmente los efectos del cambio climático. Como en ecosistemas montañosos las condiciones ecológicas están estrechamente relacionadas con la altitud, los efectos del cambio climático en sus localidades dependerán ampliamente de ella (Hoffmann & Parsons, 1997; Isaak & Rieman, 2013). Es posible que la relación negativa detectada entre la diferencia en riqueza y altitud sea indirectamente debida al cambio en temperaturas. Sin embargo, los resultados no apoyan esta posibilidad ya que las diferencias de temperatura entre periodos de estudio y la altitud de las localidades se introdujeron en el mismo modelo estadístico y no resultaron estar relacionadas ($R = 0,14$, $p = 0,297$, $N = 57$).

La relación detectada entre altitud y cambio en riqueza puede ser explicada mejor mediante la hipótesis de que las montañas con un gradiente altitudinal considerable actúan como refugio de especies en un escenario de calentamiento climático (Peterson *et al.*, 1997; Hewitt, 2000; Coope, 2004; Quinteiro *et al.*, 2005). Especies con suficiente capacidad dispersiva podrían alcanzar hábitats térmicamente adecuados (Hoffmann & Parsons, 1997; Isaak & Rieman, 2013) y las localidades de media-alta montaña pueden ser adecuadas no sólo para especies con estrechos requerimientos ecológicos sino también por especies generalistas. Debido al cambio climático, especies eurioicas son capaces de colonizar localidades elevadas. Esta posibilidad está de acuerdo con el aumento del rango de distribución detectado en Sierra Nevada para la mayoría de las especies de tricópteros en el periodo de estudio más reciente (Figura 31). Si se compara la distribución altitudinal de las especies de tricópteros en ambos periodos de estudio (Figura 31), se observa que la mayoría de las especies (16; 46%) han aumentado su rango de distribución en el periodo de estudio reciente (2008-2009). Las migraciones latitudinales y

altitudinales asociadas al cambio climático se han estudiado en muchas especies (Grabherr *et al.*, 1994; Parmesan *et al.*, 2000; Kullman, 2001; Konvicka *et al.*, 2003; Wilson *et al.*, 2005, 2007; Franco *et al.*, 2006; Lavergne *et al.*, 2006; Parmesan, 2006). Sin embargo hay pocos estudios que muestren un desplazamiento de la comunidad de invertebrados acuáticos, y menos aún en ambientes mediterráneos (Filipe *et al.*, 2012). Así, esta distribución de acomodación a las nuevas condiciones ambientales puede explicar los resultados obtenidos.

En ecosistemas de montaña, y en escenarios de calentamiento climático, los organismos que habitan en altitudes intermedias tienen la oportunidad de colonizar nuevas áreas en altitud, pero no los que ya habitan en cotas elevadas (Fosaa *et al.*, 2004; Hering *et al.*, 2009). En distancias geográficas relativamente cortas pueden encontrar las condiciones de aguas frías a las que están adaptados (Grabherr *et al.*, 1994) y ser capaces de establecer poblaciones viables en esas nuevas áreas (Hampe, 2011). Debería ser en las especies con adaptaciones fisiológicas para tolerar las nuevas condiciones ambientales y/o con mejor capacidad dispersiva (Hoffmann & Parsons, 1997) en las que se detectara en la actualidad una ampliación de su rango de distribución en asociación con el cambio climático. De acuerdo con esta posibilidad, la mayoría de los taxones capturados en Sierra Nevada son especies estenotérmicas frías o euritérmicas (Figura 31; Graf *et al.*, 2008). Las especies que ampliaron su rango de distribución, o fueron detectadas por primera vez en el periodo de muestreo más reciente, pertenecen a las familias Limnephilidae y Rhyacophilidae (Figura 31), que en general presentan buenas capacidades dispersivas (Hoffsten, 2004) y amplios rangos de tolerancia a la temperatura (especialmente los limnefilidos, Graf *et al.*, 2008). Por el contrario las especies que resultarían más vulnerables serían, por ejemplo, las especies endémicas del género *Annitella*, que presentaron una baja diversidad genética probablemente como consecuencia de su escasa capacidad dispersiva (Capítulo 5). Estas especies se verán amenazadas por otras que sí sean capaces de migrar

hacia altitudes más elevadas y competir por los recursos.

Estos resultados pueden ser importantes a la hora de considerar posibles medidas de conservación de los ecosistemas fluviales frente al cambio climático. Un esfuerzo especial debe ir dirigido a proteger las condiciones de las lagunas, cabeceras y tramos altos de los ríos y arroyos, así como de las localidades a baja altitud donde la influencia humana puede ser más notable. Veinte años es un período corto de tiempo para detectar los efectos del cambio climático sobre el conjunto de especies, por lo que podría ser pronto para

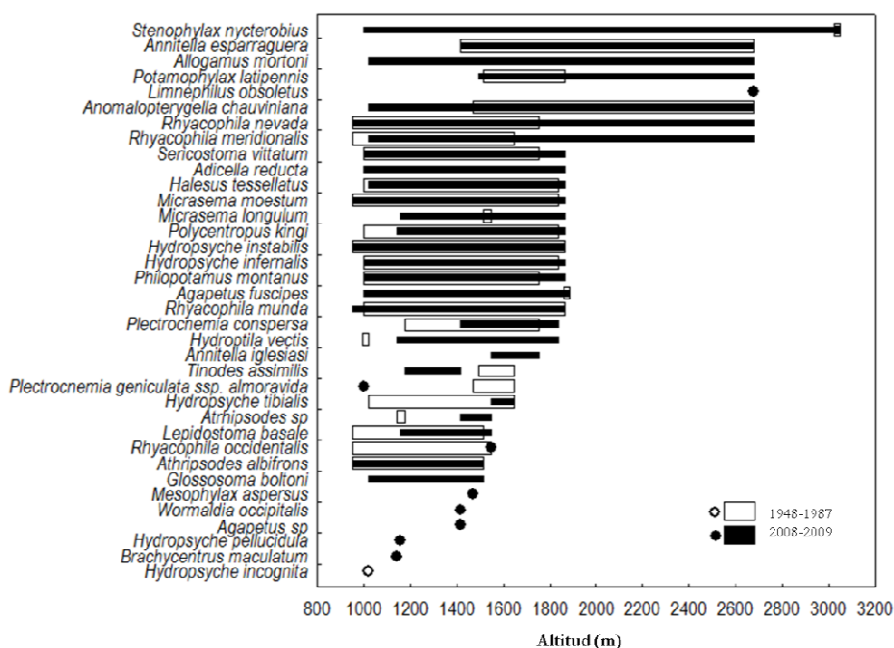


Figura 31. Distribución de especies en altitud en las localidades utilizadas para el estudio comparativo entre las dos épocas estudiadas (1984-1987 y 2008-2009). Las especies se ordenaron de menor a mayor rango altitudinal.

evaluar el riesgo al que están sometidas las especies endémicas vinculadas a las cabeceras. Debido a que el descenso del caudal de agua de los ríos y el aumento de la temperatura es inevitable, sería necesario un mejor control del detrimento de agua en la alta montaña para proteger a las especies que viven en las cabeceras y evitar la destrucción de sus hábitats.

En resumen, este trabajo muestra que durante los últimos 20 años la riqueza de tricópteros en Sierra Nevada aumentó en altitud, y que los menores cambios observados se produjeron en aquellas localidades que sufrieron menores cambios en la temperatura del agua. Estos resultados apoyan la hipótesis de que las montañas con un amplio gradiente altitudinal están funcionando como refugios ecológicos de las especies y poblaciones en períodos de cambio climático. De ahí la importancia de la conservación de los hábitats de montaña, sobre todo en regiones altamente vulnerables, como las del Mediterráneo.

Conclusiones



Río Andarax, primavera 2008

CONCLUSIONES

1. Con este estudio se pone de manifiesto el desconocimiento que aún se tiene sobre grupos importantes de invertebrados acuáticos, como el orden Trichoptera, en el macizo de Sierra Nevada. A la vez se destaca la utilidad de realizar estudios faunísticos, taxonómicos y ecológicos sobre estos grupos. Permiten conocer la diversidad real y las estrategias vitales de especies de la alta montaña mediterránea y, con ello, poder tomar las medidas necesarias de protección de estos ecosistemas y de las especies que pudieran verse amenazadas en relación al cambio global.

2. La fauna de tricópteros de Sierra Nevada es pobre en comparación con la de otros macizos montañosos, en parte por el dominio del ecotipo fluvial de cabeceras de ríos silíceos de alta montaña. Queda limitado el tipo de hábitats disponibles para ser colonizados por otras especies de tricópteros especializadas en otros ecotipos. Un 20% de las especies son endemismos ibéricos, algunas con un limitado rango de distribución lo que las hace muy vulnerables.

3. El uso combinado de herramientas genéticas y morfológicas permitió diferenciar las larvas desconocidas de dos especies endémicas próximas filogenéticamente (*Annitella esparaguera* y *A. iglesiasi*), describirlas y encontrar caracteres adecuados para incluirlas en claves dicotómicas europeas de la familia Limnephilidae.

4. El estudio del ciclo de vida de la especie *S. nycterobius* en Sierra Nevada puso de manifiesto cambios fenológicos y comportamentales en relación con las estrategias vitales conocidas para esta especie en el resto de localidades europeas e ibéricas a menor altitud. Las duras condiciones de la alta montaña han promovido el desarrollo de una estrategia particular para sobrevivir y reproducirse en este tipo de hábitat, retrasando la emergencia y no realizando diapausa estival.

5. Todas las poblaciones de *Annitella* mostraron una baja diversidad genética y un limitado flujo genético entre ellas. Ante las amenazas del

calentamiento climático, las especies de *Annitella* en Sierra Nevada son particularmente vulnerables. El poder ampliar su rango de distribución para encontrar hábitats adecuados a mayores altitudes dependerá de su plasticidad fenotípica y capacidad de adaptación.

6. El análisis molecular resalta cómo de importante es conocer el nivel molecular para inferir la vulnerabilidad de las especies, ya no sólo para conocer la dispersión o la conectividad entre poblaciones, sino para preservar la historia evolutiva del grupo.

7. El régimen térmico anual, la altitud y la latitud influyeron en el desarrollo larvario y periodo de vuelo de las especies del género *Annitella*. En Sierra Nevada, una de estas especies (*A. esparraquera*) mostró cierta plasticidad en sus estrategias vitales en función del gradiente altitudinal. Además, las poblaciones de las cotas más altas presentaron estrategias similares a las de la especie de amplia distribución, *A. obscurata*, en latitudes más altas (en Noruega).

8. Con el estudio realizado entre décadas se confirma que el cambio climático está produciendo modificaciones en los sistemas fluviales de Sierra Nevada. Se ha observado una disminución del caudal de los ríos, acompañada de un aumento de la temperatura media del agua. Estos cambios se han visto reflejados en la comunidad de tricópteros de Sierra Nevada observándose un desplazamiento de las especies hacia zonas más elevadas en busca de condiciones climáticas similares a las que en un principio favorecen su desarrollo.

9. Sierra Nevada, y en general los ecosistemas de alta montaña, pueden servir de refugio para muchas especies durante periodos de calentamiento global. Sin embargo, las especies endémicas con distribución restringida, nichos ecológicos estrechos y que habitan las cabeceras de ríos y lagunas de alta montaña se verán sensiblemente amenazados por el propio efecto del cambio climático sobre los ecosistemas, pero también por la llegada de nuevas especies con la que competir por los recursos ecológicos.

10. Con la previsible alteración de los cursos fluviales a consecuencia del

cambio global se corre el riesgo no sólo de perder poblaciones de especies endémicas, exclusivas de un macizo con una idiosincrasia tan particular como Sierra Nevada, sino también un acúmulo importante de diversidad genética e información para entender la historia evolutiva del grupo por la alta diversidad local de dichas especies.

CONCLUSIONS

1. This study highlights the poor current knowledge of important groups of aquatic invertebrates inhabiting the Sierra Nevada Mountains, including the order Trichoptera, and emphasizes the utility of conducting faunistic, taxonomic, and ecological studies on these groups. This knowledge is essential for properly planning actions to protect the ecosystems and species that may be threatened in relation to global change.

2. The Trichoptera diversity is poorer in the Sierra Nevada than in other mountain ranges due to the dominance of siliceous ecotype in headwater streams, which limit distribution of caddisfly species specialized in non-siliceous ecotypes. The 20% of the species distributed in the Sierra Nevada are endemic to the Iberian Peninsula, some of them with a limited range that makes them very vulnerable.

3. The combined use of genetic and morphological tools allowed for the first time to differentiate between the larvae of two close related endemic species, *Annitella esparraguera* and *A. iglesiasi*. Morphological description of these larvae and of appropriate characters to be included in European dichotomous keys of family Limnephilidae was possible thanks to the genetic analyses.

4. The study of the life cycle of the species *Stenophylax ncycterobius* in the Sierra Nevada pointed out phenological and behavioral variations that are not detected in other European and Iberian localities at lower altitudes. The harsh environmental conditions of high mountains have promoted the evolution of a particular strategy namely, delaying emergence while not suffering summer diapause.

5. All populations of *Annitella* showed low genetic diversity and limited

gene flow. *Annitella* species in the Sierra Nevada will not be able to extend its range to find suitable habitats at higher altitudes and their survival will depend on their phenotypic plasticity and adaptability.

6. Molecular analysis allowed inferring evolutionary history of characters within the group, but also dispersal or connectivity among populations, which is related to species vulnerability.

7. Yearly thermal regime, altitude and latitude influenced larval development and flight period of the species of the genus *Annitella*. In the Sierra Nevada, one of these species (*A. esparraguera*) showed some plasticity in their life strategies depending on the altitudinal gradient. In addition, populations of the highest altitudes showed similar life strategies to those of the widely distributed species, *A. obscurata*, at higher latitudes (Norway).

8. The study performed during a 20 year-period confirms that climate change is causing changes in the river systems of the Sierra Nevada. We observed a decrease in river flow, accompanied by an increase in the average temperature of the water. Caddisfly richness increased in altitude with maximum values at sites of intermediate-high altitude. The detected effects of the observed climate change might be due to the colonization of headwaters and middle reaches from lowland species or by those from streams and rivers in nearby mountain chains at lower altitude.

9. Sierra Nevada and in general high mountain ecosystems may function as refuges for species and populations during periods of climatic change. However, endemic species with restricted distributional range, narrow ecological niches and inhabiting the headwaters of rivers and high mountain lakes will not only be significantly threatened by the effect of climate change on ecosystems, but also by the arrival of new species that compete with them for environmental resources.

10. With the predictable alteration of watercourses, as a result of climate change, there is a risk of losing, not only endemic populations of idiosyncratic massifs as the Sierra Nevada, but also an important accumulation of genetic

diversity and information relevant to understand the evolutionary history of the Trichoptera group.

Bibliografía



Laguna de las Yeguas, primavera 2008

BIBLIOGRAFÍA

- Alba-Tercedor, J. & Jiménez-Millán, F. (1987). Evaluación de las variaciones estacionales de la calidad de las aguas del Río Guadalfeo basada en el estudio de las comunidades de macroinvertebrados acuáticos y de los factores físico-químicos. LUCDEME III. Monografía 48 del ICONA. Madrid, 91 pp.
- Alba-Tercedor, J., Sánchez-Ortega, A. & Guisasola, I. (1986). Caracterización de los cursos permanentes de agua de la cuenca del río Adra: Factores físico-químicos, macroinvertebrados acuáticos y calidad de las aguas. Proyecto LUCDEME. Universidad de Granada. Granada, 54 pp. (Datos inéditos).
- Barea-Azcón, J.M., Ballesteros-Duperón, E. & Moreno, D. (Coords.) (2008). *Libro Rojo de los Invertebrados de Andalucía*. 4 Tomos. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla, 1430 pp.
- Beam, B.D. & Wiggins, G. (1987). A comparative study of the biology of five species of Neophylax (Trichoptera: Limnephilidae) in southern Ontario. *Canadian Journal of Zoology*, **65**, 1741–1754.
- Becker, G. (2005). Life cycle of *Agapetus fuscipes* (Trichoptera, Glossosomatidae) in a first-order upland stream in central Germany. *Limnologia*, **35**, 52–60.
- Beckerman, A., Benton, T., Lapsley, C., Koesters, N. (2003). Talkin' 'bout my generation: environmental variability and cohort effects. *The American naturalist*, **162**, 754–67.
- Beniston, M. (1994). *Mountain Environments in Changing Climates*. London and New York, Routledge Publishing Co.
- Beniston, M. (2006). Mountain weather and climate: A general overview and a focus on climatic change in the Alps. *Hydrobiologia*, **562**, 3–16.
- Beniston, M., Diaz, H. & Bradley, R. (1997). Climatic change at high elevation sites: an overview. *Climatic Change*, **36**, 233–251.
- Blondel, J. & Aronson, J. (1999). *Biology and Wildlife of the Mediterranean Region*. Oxford University Press, New York, 328 pp.
- Bojková, J., Rádková, V., Soldán, T., Zahrádková, S. (2014). Trends in species diversity of lotic stoneflies (Plecoptera) in the Czech Republic over five decades. *Insect Conservation and Diversity*, **7**, 252–262.
- Bolzhuber, M. (1998). Larval taxonomie und Entwicklung von *Annitella thuringica* (Ulmer 1909) und *Limnephilus germanus* McLachlan 1875. *Lauterbornia*, **34**, 219–226.
- Bonada, N., Múrria, C., Zamora-Muñoz, C., El Alami, M., Poquet, J.M., Puntí, T., Moreno, J.L., Bennis, N., Alba-Tercedor, J., Ribera, C. & Prat, N. (2009). Using community and population approaches to understand how contemporary and historical factors have shaped species distribution in river ecosystems. *Global Ecology and Biogeography*, **18**, 202–213.
- Bonada, N. & Resh, V.H. (2013). Mediterranean-climate streams and rivers: geographically separated but ecologically comparable freshwater systems. *Hydrobiologia*, **719**, 1–29.
- Bonada, N., Rieradevall, M. & Prat, N. (2007). Macroinvertebrate community structure and biological traits related to flow permanence in a Mediterranean river network. *Hydrobiologia*, **589**, 91–106.
- Bonada, N., Zamora-Muñoz, C., El Alami, M., Múrria, C. & Prat, N. (2008). New records of Trichoptera in reference mediterranean-climate rivers of the Iberian Peninsula and north of Africa: Taxonomical, faunistical and ecological aspects. *Graellsia*, **64**(2), 189–208.

- Bonada, N., Zamora-Muñoz, C., Rieradevall, M. & Prat, N. (2004a). Ecological profiles of caddisfly larvae in Mediterranean streams: implications for bioassessment methods. *Environmental Pollution*, **132**, 509–521.
- Bonada, N., Zamora-Muñoz, C., Rieradevall, M. & Prat, N. (2004b). Trichoptera (Insecta) collected in Mediterranean river basins of the Iberian Peninsula: Taxonomic remarks and notes on ecology. *Graellsia*, **60**(1), 41–69.
- Botosaneanu, L. (1975). Die endemischen Trichopteren der Karpaten. *Verhandlungen des Sechsten International Symposiums über Entomofaunistik in Mitteleuropa*, 91–103.
- Botosaneanu, L. (1992). *Fauna Palestina VI: Trichoptera of the Levant (Imagines)*. The Israel Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem, 293 pp.
- Bouvet, Y. (1971). La diapause des trichoptères cavernicoles. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, **96**(4), 375–383.
- Bouvet, Y. (1974). Ecologie et reproduction chez les Trichoptères cavernicoles du groupe *Stenophylax* (Limnephilidae, Stenophylacini). In: Moretti, G.P. (Ed.), *Proceedings of the First International Symposium on Trichoptera*. Dr. W. Junk Publishers, The Hague, pp. 105–109.
- Bradley, C. & Ormerod, S.J. (2001). Community persistence among stream invertebrates the North tracks Atlantic Oscillation. *Journal of Animal Ecology*, **70**, 987–996.
- Brown, L.E., Hannah, D.M. & Milner, A.M. (2007). Vulnerability of alpine stream biodiversity to shrinking glaciers and snowpacks. *Global Change Biology*, **13**, 958–966.
- Butler, M. (1984). Life histories of aquatic insects. In: Resh, V. & Rosenberg, D. (Eds.), *The Ecology of Aquatic Insects*. Praeger, New York, pp. 24–55.
- Camargo, J.A. & García de Jalón, D. (1988). Principales características morfológicas de los géneros ibéricos de la familia Limnephilidae (Trichoptera), en sus últimos estadios larvarios. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **12**, 239–258.
- Carvalho, S.B., Brito, J.C., Crespo, E.J. & Possingham, H.P. (2010). From climate change predictions to actions - conserving vulnerable animal groups in hotspots at a regional scale. *Global Change Biology*, **16**, 3257–3270.
- Castillo-Martín, A. (2000). Parque Nacional de Sierra Nevada. Clima e Hidrología. En: Canseco eds., *Parque Nacional de Sierra Nevada*.
- Cianficconi, F., Moretti, G.P., Tucciarelli, F. (1997). Italian Trichopteran fauna: zoogeographical considerations. In: Holzenthal, R. & Flint, O.S. (Eds.), *Proceedings of the 8th International Symposium on Trichoptera*, Ohio Biological Survey, Minnesota, pp. 69–75.
- Clement, M., Posada, D. & Crandall, K. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, **9**, 1657–1660.
- Colwell, R. (1997). EstimateS: Statistical Estimation of Species Richness and Shared Species from Samples (Software and User's Guide), Version 5.01.
- Colwell, R. & Coddington, J. (1994). Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, **345**, 101–18.
- Colwell, R.K., Mao, C.X. & Chang, J. (2004). Interpolating, Extrapolating, and Comparing Incidence-Based Species Accumulation Curves. *Ecology*, **85**, 2717–2727.
- Conlisk, E., Syphard, A.D., Franklin, J., Flint, L., Flint, A. & Regan, H. (2013). Uncertainty in assessing the impacts of global change with coupled dynamic species distribution and population models. *Global Change Biology*, **19**, 858–869.
- Coope, G. (2004). Several million years of stability among insect species because of, or

- in spite of, Ice Age climatic instability? *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, **359**, 209–14; discussion 214.
- Cuttelod, A., García, N., Abdul-Malak, D., Temple, H. & Katariya, V. (2008). The Mediterranean: a biodiversity hotspot under threat. *In*: Vié, J., Hilton-Taylor, C. & Stuart, S. (Eds.), *The 2008 Review of The IUCN Red List of Threatened Species*, Gland, Switzerland, pp. 1–13.
- Daufresne, M., Bady, P. & Fruget, J.F. (2007). Impacts of global changes and extreme hydroclimatic events on macroinvertebrate community structures in the French Rhône River. *Oecologia*, **151**, 544–559.
- Daufresne, M., Roger, M.C., Capra, H. & Lamouroux, N. (2004). Long-term changes within the invertebrate and fish communities of the Upper Rhône River: effects of climatic factors. *Global Change Biology*, **10**, 124–140.
- Décamps, H. (1967). Introduction a l'étude écologique des Trichoptères des Pyrénées. *Annales de Limnologie*, **3**, 101–176.
- Dohet, A. (2002). Are caddisflies an ideal group for the biological assessment of water quality in streams? *Proceedings of the 10th International Symposium on Trichoptera*, **15**, 507–520.
- Domisch, S., Araújo, M.B., Bonada, N., Pauls, S.U., Jähnig, S.C. & Haase, P. (2013). Modelling distribution in European stream macroinvertebrates under future climates. *Global Change Biology*, **19**, 752–762.
- Domisch, S., Jähnig, S.C. & Haase, P. (2011). Climate-change winners and losers: stream macroinvertebrates of a submontane region in Central Europe. *Freshwater Biology*, **56**, 2009–2020.
- Duarte, C. (2006). *Cambio global: Impacto de la Actividad Humana sobre el Sistema Tierra*. Colección Divulgación, CSIC, Madrid, 251 pp.
- Elliott, J.M., Hurley, M.A. & Maberly, S.C. (2000). The emergence period of sea trout fry in a Lake District stream correlates with the North Atlantic Oscillation. *Journal of Fish Biology*, **56**, 208–210.
- Elosegi, A. & Sabater, S. (2009). *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. Fundación BBVA, Bilbao, 448 pp.
- European Environment Agency, EEA (2008). Impacts of Europe's changing climate. 2008 indicator based assessment. Joint EEA-JRC-WHO report, Copenhagen.
- Fagan, W.F. & Kareiva, P.M. (1997). Using compiled species lists to make biodiversity comparisons among regions: A test case using Oregon butterflies. *Biological Conservation*, **80**, 249–259.
- Filipe, A.F., Lawrence, J.E. & Bonada, N. (2013). Vulnerability of stream biota to climate change in mediterranean climate regions: a synthesis of ecological responses and conservation challenges. *Hydrobiologia*, **719**, 331–351.
- Finn, D.S., Bonada, N., Múrria, C. & Hughes, J.M. (2011). Small but mighty: headwaters are vital to stream network biodiversity at two levels of organization *Journal of North American Benthological Society*, **30**, 963–980.
- Finn, D.S. & Poff, L.N. (2005). Variability and convergence in benthic communities along the longitudinal gradients of four physically similar Rocky Mountain streams. *Freshwater Biology*, **50**, 243–261.
- Finn, D.S., Zamora-Muñoz, C., Múrria, C., Sáinz-Bariáin, M. & Alba-Tercedor, J. (2014). Evidence from recently deglaciated mountain ranges that *Baetis alpinus* (Ephemeroptera) could lose significant genetic diversity as alpine glaciers disappear. *Freshwater Science*, **33**, 1–11.
- Forister, M.L., McCall, A.C., Sanders, N.J., Fordyce, J.A., Thorne, J.H., O'Brien, J., Waetjen, D.P. & Shapiro, A.M. (2010). Compounded effects of climate

- change and habitat alteration shift patterns of butterfly diversity. *PNAS*, **107**, 1–5.
- Forsman, A. (2014). Effects of genotypic and phenotypic variation on establishment are important for conservation, invasion, and infection biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **111**, 302–307.
- Fosaa, A.M., Sykes, M.T., Lawesson, J.S. & Gaard, M. (2004). Potential effects of climate change on plant species in the Faroe Islands. *Global Ecology and Biogeography*, **13**, 427–437.
- Franco A.M.A., Hill, J.K., Kitschke, C., Collingham, Y.C., Roy, D.B. Fox, R., Huntley, B., Thomas, C.D. (2006). Impacts of climate warming and habitat loss on extinctions at species' low-latitude range boundaries. *Global Change Biology*, **12**, 1545–1553.
- Frochot, B. (1962). La larve de *Stenophylax permistus* McL. Travaux du Laboratoire de Zoologie et de la Station Agricole Grimaldi de la Faculté des Sciences de Dijon, **42**.
- Gibson, C., Meyer, J., Poff, N., Hay, L. & Georgakakos, A. (2005). Flow regime alterations under changing climate in two river basins: implications for freshwater ecosystems. *River Research and Applications*, **21**, 849–864.
- Gobbi, M., Fontaneto, D. & De Bernardi, F. (2006). Influence of climate changes on animal communities in space and time: the case of spider assemblages along an alpine glacier foreland. *Global Change Biology*, **12**, 1985–1992.
- Gómez, N., Donato, J.C., Girogi, A., Guasch, H., Mateo, P. & Sabater, S. (2009). La biota de los ríos: los microorganismos autótrofos. *En: Elosegi, A. & Sabater, S. (Eds.) Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. pp 219-243. Fundación BBVA. Bilbao.
- González, M.A. (2013). El Reino Animal en la Península Ibérica y las Islas Baleares. Orden Trichoptera. Familia Limnephilidae. www.fauna-iberica.mncn.csic.es/faunaib/arthropoda/insecta/trichoptera/limnephilidae.php. (acceso 10 de mayo de 2014).
- González, M.A. & Botosaneanu, L. (1985). Étude de trois espèces de *Hydropsyche* Pictet d'Espagne décrites par F. Schmid (Insecta: Trichoptera). *Bulletin of the Zoological Museum of the University of Amsterdam*, **10**(13), 89–95.
- González, M. & Cobo, F. (2004). Mecopteroides. Generalidades. *En: Tinaut, A. & Pascual, F. (Eds.), Proyecto Andalucía. Naturaleza. Tomo XVII: Zoología V*. Publicaciones Comunitarias. Grupo Hércules, Sevilla, pp. 352–382.
- González, M.A. García de Jalón, D., & Terra, L.S.W. (1987). Faunistic studies on iberian Trichoptera: a historical survey and present state of knowledge. *En: Bournaud, D. & Tachet, H. (Eds.), Proceedings of the 5th International Symposium on Trichoptera*. Junk Publishers, The Hague, pp. 85–90.
- González, M.A. & Malicky, H. (1988). Description de quatre nouvelles espèces de Trichoptères de l'Espagne et du Maroc (Trichoptera). *Mitteilungen aus der Entomologischen Gesellschaft*, **38**, 66–71.
- González, M.A. & Malicky, H. (1999). Une nouvelle espèce de *Hydropsyche* du groupe *pellucidula* (Trichoptera, Hydropsychidae). *Braueria*, **26**, 25–26.
- González, M.A. & Martínez-Menéndez, J. (2011). Checklist of the caddisflies of the Iberian Peninsula and Balearic Islands. *Zoosymposia*, **5**, 115–135.
- González, M.A., Terra, L.S.W., García de Jalón, D. & Cobo, F. (1992). *Lista faunística y bibliográfica de los Tricópteros (Trichoptera) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Asociación española de Limnología, Publicación n° 11, Madrid, 200 pp.
- González, M.A., Valiela, J. & González, T. (1986). Observaciones sobre los

- Tricópteros de la península ibérica. VII: Sierra Segundera (Noroeste de España). *Trabajos Compostelanos de Biología*, **13**, 109–118.
- Grabherr, G., Gottfried, M. & Pauli, H. (1994). Climate effects on mountain plants. *Nature*, **369**, 448–448.
- Grabherr, G., Gottfried, M. & Pauli, H. (2000). GLORIA: A Global Observation Research Initiative in Alpine Environments. *Mountain Research and Development*, **20**, 190–191.
- Graf, W., Murphy, J., Dahl, J., Zamora-Muñoz, C. & López-Rodríguez, M.J. (2008). *Distribution and Ecological Preferences of European Freshwater Organisms*. Pensoft, Sofía, 388 pp.
- Guisande-González, C., Barreiro-Felpeto, A., Maneiro-Estraviz, I., Riveiro-Alarcon, I., Vergara-Castaño, A. & Vaamonde-Liste, A. (2006). Tratamiento de datos. Ediciones Díaz de Santos, Madrid, 996 pp.
- Haidekker, A. & Hering, D. (2008). Relationship between benthic insects (Ephemeroptera, Plecoptera, Coleoptera, Trichoptera) and temperature in small and medium-sized streams in Germany: A multivariate study. *Aquatic Ecology*, **42**, 463–481.
- Hampe, A. (2011). Plants on the move: The role of seed dispersal and initial population establishment for climate-driven range expansions. *Acta Oecologica*, **37**, 666–673.
- Hering, D., Schmid-Kloiber, A., Murphy, J., Lücke, S., Zamora-Muñoz, C., López-Rodríguez, M.J., Huber, T. & Graf, W. (2009). Potential impact of climate change on aquatic insects: A sensitivity analysis for European caddisflies (Trichoptera) based on distribution patterns and ecological preferences. *Aquatic Sciences*, **71**(1), 3–14.
- Hershey, A.E., Lamberti, G., Dominic, T.C., Northington, R.M. (2010). Aquatic Insect Ecology. In: Thorp, J. & Covich, A.P. (Eds.), *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*, Elsevier Ltd, pp. 659–694.
- Hewitt, G. (1999). Post-glacial re-colonization of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society*, **68**, 87–112.
- Hewitt, G.M. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, **405**, 907–913.
- Hickin, N.E. (1967). *Caddis Larvae: Larvae of the British Trichoptera*. Hutchinson and Company, London, 476 pp.
- Higler, L.W.G. & Solem, J.O. (1986). Key to the larvae of north-west European *Potamophylax* species (Trichoptera, Limnephilidae) with notes on their biology. *Aquatic Insects*, **8**, 159–169.
- Hill, J.K., Griffiths, H.M. & Thomas, C.D. (2011) Climate change and evolutionary adaptations at species' range margins. *Annual review of entomology*, **56**, 143–59.
- Hillyer, R. & Silman, M.R. (2010) Changes in species interactions across a 2.5 km elevation gradient: effects on plant migration in response to climate change. *Global Change Biology*, **16**, 3205–3214.
- Hoffmann, A.A., Parsons, P.A. (Eds.) (1997). *Extreme Environmental Change and Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, 259 pp.
- Hoffsten, P.O. (2004). Site-occupancy in relation to flight-morphology in caddisflies. *Freshwater Biology*, **49**, 810–817.
- Hogan, C. (2012). Sierra Nevada, Spain. In: *The Encyclopedia of Earth*. [Cited 13 dec 2013] Available from URL: <http://www.eoearth.org/view/article/172707>.
- Holzenthal, R.W., Blahnik, R.J., Prather, A.L. & Kjer, K.M. (2007). Order Trichoptera Kirby, 1813 (Insecta), Caddisflies*. *Zootaxa*, **1668**, 639 – 698.

- Huamantínco, A. & Nessimian, J. (2000). Variation and life strategies of the Trichoptera (Insecta) larvae community in a first order tributary of the Paqueque river, Southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, **60**, 7108–7108.
- Hynes, H. (1970). The ecology of stream insects. *Annual Review of Entomology*, **15**, 25–42.
- IPCC (2007). Climate change 2007: the physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment. Report of the IPCC. Cambridge University Press, Cambridge [available on internet at <http://www.ipcc.ch>].
- Isaak, D.J. & Rieman, B.E. (2013). Stream isotherm shifts from climate change and implications for distributions of ectothermic organisms. *Global Change Biology*, **19**, 742–751.
- Iverson, L.R. & Prasad, A.M. (2001). Potential Changes in Tree Species Richness and Forest Community Types following Climate Change. *Ecosystems*, **4**, 186–199.
- Jáimez-Cuellar, P. (2004). Caracterización físico-química, macroinvertebrados acuáticos y valoración del estado ecológico de dos cuencas mediterráneas de influencia nival (ríos Guadalfeo y Adra), según los criterios de la Directiva Marco del Agua. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, 226 pp., 87ª. (Datos inéditos).
- Jáimez-Cuellar, P., Luzón-Ortega, J.M, Ruiz-Rodríguez, M., Palomino-Morales, J.A., Tierno de Figueroa, J.M. & Alba-Tercedor, J. (2002). Calidad biológica de las aguas de los ríos del Parque Natural de la Sierra de Huétor (Granada, España) Biological quality of the water from Parque Natural de la Sierra de Huétor. *Acta Granatense*, **1**, 3–9.
- Jenkins, M. (2003). Prospects for biodiversity. *Science*, **302**, 1175–7.
- Jiménez-Valverde, A. & Hortal, J. (2003). Las curvas de acumulación de especies y la necesidad de evaluar la calidad de los inventarios biológicos. *Revista Ibérica de Aracnología*, **8**, 151–161.
- Katoh, K., Kuma, K., Toh, H. & Miyata, T. (2005). MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment. *Nucleic Acids Research*, **33**, 511–518.
- Klausmeyer, K.R. & Shaw, M.R. (2009). Climate change, habitat loss, protected areas and the climate adaptation potential of species in mediterranean ecosystems worldwide. *PLoS one*, **4**, e6392.
- Konvicka, M., Maradova, M., Benes, J., Fric, Z. & Kepka, P. (2003). Uphill shifts in distribution of butterflies in the Czech Republic: effects of changing climate detected on a regional scale. *Global Ecology and Biogeography*, **12**, 403–410.
- Köppen, W. (1936). Das Geographische System der Klimate. In: Köppen, W. & Geiger, R. (Eds.), *Handbuch der Klimatologie, Vol. I. Gebrüder Borntraeger*, Berlin, 1–44.
- Lavado, Kullman, L. (2001). 20th Century Climate Warming and Tree-limit Rise in the Southern Scandes of Sweden. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, **30**, 72–80.
- Kumanski, K. & Malicky, H. (1984). On the fauna and zoogeographical significance of Trichoptera from the Standzha Mts (Bulgaria). *Proceedings of the 4th International Symposium on Trichoptera*: 197–201.
- Lavergne, S., Molina, J. & Debussche, M. (2006). Fingerprints of environmental change on the rare mediterranean flora: a 115-year study. *Global Change Biology*, **12**, 1466–1478.
- Lavorel, S., Touzard, B., Lebreton, J-D., Clément, B. (1998). Identifying functional groups for response to disturbance in an abandoned pasture. *Acta Oecologica*, **19**, 227–240.
- Laws, A.N. & Belovsky, G.E. (2010). How will species respond to climate change?

- Examining the effects of temperature and population density on an herbivorous insect. *Environmental entomology*, **39**, 312–9.
- Lechthaler, W. & Stockinger, W. (2005). *Trichoptera—Key to Larvae from Central Europe*. CD-Edition. (Eutaxa, Wien).
- Lehrian, S., Bálint, M., Peter, H. & Pauls, S.U. (2010). Genetic population structure of an autumn-emerging caddisfly with inherently low dispersal capacity and insights into its phylogeography. *Journal of the North American Benthological Society*, **29**, 1100–1118.
- Lencioni, V. (2004). Survival strategies of freshwater insects in cold environments. *Journal of Limnology*, **63**, 45–55.
- Lepneva, S.G. (1966). *Fauna SSSR, Rucheiniki, Lichinki i Kukolki Podotryada Tse'noshchupikovykh*. Zoologicheskii Institut Akademii Nauk SSSR, Moskva-Leningrad, 2(2), 560 pp. [Fauna of the U.S.S.R. Trichoptera, Larvae and Pupae of Integripalpia. Zoological Institute of the Academy of Science of the USSR, Moscow-St. Petersburg, volume 2, number 2. Translated by the Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem (1971), 638 pp.]
- Librado, P. & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, **25**, 1451–1452.
- Lloyd, A., Bunn, A. & Berner, L. (2011). A latitudinal gradient in tree growth response to climate warming in the Siberian taiga. *Global Change Biology*, **17**, 1935–1945.
- Lytle, D.A. & Poff, N.L. (2004). Adaptation to natural flow regimes. *Trends in ecology & evolution*, **19**, 94–100.
- Mackay, R.J., Wiggins, G.B. (1979). Ecological diversity in Trichoptera. *Annual Review of Entomology*, **24**, 185–208.
- Malcolm, J.R., Liu C, Neilson R., Hansen, L. & Hannah, L. (2006). Global Warming and Extinctions of Endemic Species from Biodiversity Hotspots. *Conservation Biology*, **20**, 538–548.
- Malicky, H. (1972). Weitere neue Arten und Fundorte von westpaläarktischen Köcherfliegen (Trichoptera) vor allen aus dem östlichen Mediterrangebiet. *Mitteilungen aus der Entomologischen Gesellschaft N.F.*, **27**, 25–68.
- Malicky, H. (1986). Zwei neue spanische Köcherfliegen (Trichoptera: Limnephilidae, Polycentropodidae). *Entomologische Zeitschrift*, **96**(3), 26–27.
- Malicky, H. (1994). Die Chaetopterygini (Insecta, Trichoptera, Limnephilidae) in Griechenland. *Annales Musei Gouandris*, **9**, 457–470.
- Malicky, H. (2000). Arealodynamik und Biomgrundtypen am Beispiel der Köcherfliegen (Trichoptera). *Entomologica Basiliensia*, **22**, 235–259.
- Malicky, H. (2004). *Atlas of European Trichoptera*, Second edition. Springer, 359 pp.
- Malicky, H. (2005). The caddisflies of European and the Mediterranean Region (area covered by the Atlas of European Trichoptera) are listed and commented, with synonyms (some of them new) and some new combinations. *Linzer Biologische Beitrage*, **37**, 533–596.
- Malicky, H. (Ed.) (2013). *Trichoptera*. Fauna Europae version 2.5, <http://www.faunaeur.org>. (acceso 10 mayo de 2014).
- Martín-Martín, J.M., Braga-Alarcón, J.C. & Gómez-Pugnaire, M. (2008). Itinerarios geológicos por Sierra Nevada. Guía de campo por el Parque Nacional y Parque Natural de Sierra Nevada. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía.
- Matter, S.F., Doyle, A., Illerbrun, K., Wheeler, J. & Roland, J. (2011). An assessment of direct and indirect effects of climate change for populations of the Rocky Mountain Apollo butterfly (*Parnassius smintheus* Doubleday). *Insect Science*,

- 18, 385–392.
- Mendez, P.K. & Resh, V.H. (2008). Life History of *Neophylax rickeri* (Trichoptera: Uenoidae) in Two Northern California Streams. *Annals of the Entomological Society of America*, **101**, 573–584.
- Menéndez, R., González-Megías, A., Hill, J.K., Braschler, B., Willis, S.G., Collingham, R.F., Roy, D.B. & Thomas, C.D. (2006). Species richness changes lag behind climate change. *Proceedings of the Royal Society Series B*, **273**, 1465–1470.
- Moreno, C. & Halffter, G. (2000). Assessing the completeness of bat biodiversity inventories using species accumulation curves. *Journal of Applied Ecology*, **37**, 149–158.
- Moreno, I., Millares, A., Herrero, J., Polo, M.J. & Losada, M.A. (2010). Futuro de los recursos hídricos en la cuenca del río Guadalfeo bajo supuesto de Cambio Climático. *Ambientalia*, **1**, 28–40.
- Moretti, G.P. (1983). Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. No 19. Tricotteri. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/196, Verona, 155 pp.
- Morse, J.C., (Ed.) (2014). Trichoptera World Checklist. <http://entweb.clemson.edu/database/trichopt/index.htm> (acceso 10 mayo de 2014).
- Mulholland, P.J., Best, G.R., Coutant, C.C., Hornsberger, G.M., Meyer, J.L., Robinson, P.J., Stenberg, J.R., Turner, R.E., Vera-Herrera, F. & Wetzel, R. (1997). Effects of Climate Change on Freshwater Ecosystems of the South-Eastern United States and the Gulf Coast of Mexico. *Hydrological Processes*, **11**, 949–970.
- Múrria, C., Bonada, N., Arnedo, M.A., Prat, N. & Vogler, A.P. (2013). Higher β - and γ -diversity at species and genetic levels in headwaters than in mid-order streams in *Hydropsyche* (Trichoptera). *Freshwater Biology*, **58**, 2226–2236.
- Múrria, C., Bonada, N., Arnedo, M.A., Zamora-Muñoz, C., Prat, N. & Vogler, A. P. (2012). Phylogenetic and ecological structure of Mediterranean caddisfly communities at various spatio-temporal scales. *Journal of Biogeography*, **39**, 1621–1632.
- Múrria, C., Zamora-Muñoz, C., Bonada, N., Ribera, C. & Prat, N. (2010). Genetic and morphological approaches to the problematic presence of three *Hydropsyche* species of the *pellucidula* group (Trichoptera: Hydropsychidae) in the westernmost Mediterranean Basin. *Aquatic Insects*, **32**(2), 85–98.
- Musolin, D.L., Saulich, A.Kh. (2012). Responses of insects to the current climate changes: from physiology and behavior to range shifts. *Entomological Review*, **92**, 715–740.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., de Fonseca, G.A. & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853–858.
- Navás, L. (1908). Neurópteros de España y Portugal. *Broteria (Ser. Zool.)*, **7**, 5–131.
- Navás, L. (1911). Notas entomológicas. 3. Excursiones por los alrededores de Granada. *Boletín de La Sociedad Española Aragonesa de Ciencias Naturales*, **10**, 204–211.
- Navás, L. (1920). Tricópteros (Ins.) de España. Asociación Española para el Progreso de las Ciencias (Sevilla), **4**, 5–16.
- Navás, L. (1924). Insectes de l'excursió de D. Ascensi Codina a Castella i Andalusia al Juny de 1923. *Treballs Museu de Ciències Naturals de Barcelona*, **4**, 1–10.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*, edn. Columbia University Press, New York.
- Nylin, S. & Gotthard, K. (1998). Plasticity in life-history traits. *Annual Review of*

- Entomology*, **43**, 63–83.
- Ocharán, R., Ocharán, F.J. & Anadón, A. (2006). Tricópteros de la Reserva de la Biosfera de Muniellos y de Asturias (N de España). *Boletín de La Asociación Española de Entomología*, **30**(1-2), 161–197.
- Oláh, J. & Kovács, T. (2012). New species and records of autumnal Trichoptera from Albania. *Folia Historico Naturalia Musei Matraensis*, **36**, 89–104.
- Olivares, F.J., Barea-Azcón, J.M., Pérez-López, F.J., Tinaut, A. & Henares, I. (2011). *Las mariposas diurnas de Sierra Nevada*. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía, 512 pp.
- Pace, G., Bonada, N. & Prat, N. (2013). Long-term effects of climatic-hydrological drivers on macroinvertebrate richness and composition in two Mediterranean streams. *Freshwater Biology*, **58**, 1313–1328.
- Palomares, A. (1982). *Zonación por calidades de agua de la Cuenca del río Genil en base a métodos ecológicos*. Proyecto Fin de Carrera, Universidad de Granada, Granada, 145 pp. (Datos inéditos).
- Panzenbock, M. & Waringer, J. (1997). A key to fifth instar larvae of *Halesus radiatus* Curtis 1834, *Halesus digitatus* Schrank 1781 and *Halesus tessellatus* Rambur 1842 (Trichoptera: Limnephilidae), based on Austrian material. *Aquatic Insects*, **19**, 65–73.
- Parmesan, C. (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **37**, 637–669.
- Parmesan, C., Root, T.L. & Willig, M.R. (2000). Impacts of extreme weather and climate on terrestrial biota. *Bulletin of the American Meteorological Society*, **81**, 443–450.
- Pascual, F. & Tinaut, A. (2001). *Insectos. Parque Nacional de Sierra Nevada*. Canseco editores, Talavera de la Reina, 149–168.
- Pauls, S., Lumbsch, H.T. & Haase, P. (2003). Genetische Isolation von *Drusus discolor* Rambur 1842 (Trichoptera: Limnephilidae) in montanen Mittelgebirgen Mitteleuropas - Erste Ergebnisse. *Deutsche Gesellschaft für Limnologie-Tagungsbericht*, **2002**, 378-379.
- Pauls, S.U., Lumbsch, H. T. & Haase, P. (2006). Phylogeography of the montane caddisfly *Drusus discolor*: evidence for multiple refugia and periglacial survival. *Molecular Ecology*, **15**, 2153-2169.
- Perry, A.L., Low, P.J., Ellis J.R. & Reynolds, J. (2005). Climate Change and Distribution Shifts in Marine Fishes. *Science*, **308**, 1912–1915.
- Peterson, T.C., Vose, R., Schmoyer, R. & Razuvaev, V. (1997). Global Historical Climatology Network (GHCN) quality control of monthly temperature data. *International Journal of Climatology*, **1179**, 1169–1179.
- Poquet, J.M. (2007). Modelos de predicción de las Comunidades de macroinvertebrados Acuáticos en ríos mediterráneos ibéricos. Medpacs. Mediterranean prediction and classification system. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, 207 pp. (Datos inéditos).
- Poole, G.C. & Berman, C.H. (2001). An ecological perspective on in-stream temperature: natural heat dynamics and mechanisms of human-caused thermal degradation. *Environmental management*, **27**, 787–802.
- Pozo, J., Elosegí, A., Díez, J. & Molinero, J. (2009). La biota de los ríos: los microorganismos autótrofos. En: Elosegí, A. & Sabater, S. (Eds.), *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. Fundación BBVA, Bilbao, pp. 141–167.
- Quinteiro, J., Rodríguez-Castro, J., Castillejo, J., Iglesias-Piñeiro, J. & Rey-Méndez, M. (2005). Phylogeny of slug species of the genus *Arion*: evidence of monophyly

- of Iberian endemics and of the existence of relict species in Pyrenean refuges. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **43**, 139–148.
- Reiso, S. & Brittain, J.E. (2000). Life cycle, diet and habitat of *Polycentropus flavomaculatus*, *Plectrocnemia conspersa* and *Rhyacophila nubila* (Trichoptera) in Øvre Heimdalen, Jotunheimen Mountains, Norway. *Norwegian Journal of Entomology*, **47**, 113–124.
- Resh, V.H. (1992). Recent trends in the use of Trichoptera in water quality monitoring. *En: Otto, C. (Ed.), Proceedings of the 7th International Symposium on Trichoptera*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 285–291.
- Resh, V.H. & Cardé, R. (2003). *Encyclopedia of Insects*. San Diego, Academic Press.
- Resh, V. H. & Rosenberg, D.M. (1984). *The Ecology of Aquatic Insects*. Praeger, New York, 625 pp.
- Resh, V.H. & Unzicker, J.D. (2010). Water and aquatic quality monitoring of the importance organisms : identification species. *Water Environment Federation*, **47**, 9–19.
- Ribera, I., Foster, G.N. & Vogler, A.P. (2003). Does habitat use explain large scale species richness patterns of aquatic beetles in Europe? *Ecography*, **26**, 145–152.
- Ribera, I. & Vogler, A. P. (2004). Speciation of Iberian diving beetles in Pleistocene refugia (Coleoptera, Dystiscidae). *Molecular Ecology*, **13**, 179–193.
- Ricciardi, A. & Rasmussen, J.B. (1999). Extinction Rates of North American Freshwater Fauna. *Conservation Biology*, **13**, 1220–1222.
- Rodier, J. (1998). Análisis de las aguas. Ed. Omega. 1058 pp.
- Roff, D. (1980). Optimizing development time in a seasonal environment: The ups and downs of clinal variation. *Oecologia*, **45**, 202–208.
- Roy, D.B. & Sparks, T.H. (2000) Phenology of British butterflies and climate change. *Global Change Biology*, **6**, 407–416.
- Ruano-Díaz, F., Tierno de Figueroa, J.M. & Tinaut, A. (Eds.) (2013) Los Insectos de Sierra Nevada. León, Asociación española de Entomología.
- Ruiz-García, A. & Ferreras-Romero, M. (2007). The larva and life history of *Stenophylax crossotus* McLachlan, 1884 (Trichoptera: Limnephilidae) in an intermittent stream from the southwest of the Iberian Peninsula. *Aquatic Insects*, **29**(1), 9–16.
- Ruiz-García, A., Salamanca-Ocaña, J.C. & Ferreras-Romero, M. (2004). The larvae of *Allogamus gibraltarius* González & Ruiz, 2001 and *Allogamus mortoni* (Navás, 1907) (Trichoptera, Limnephilidae), two endemic species of the Iberian Peninsula. *Annales de Limnologie—International Journal of Limnology*, **40**(4), 343–349.
- Sáinz-Bariáin, M. & Zamora-Muñoz, C. (2012a). New record of *Annitella amelia* Siphiler, 1998 (Trichoptera, Limnephilidae) in the Iberian Peninsula. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **36**(1-2), 203–205.
- Sáinz-Bariáin, M. & Zamora-Muñoz, C. (2012b). The larva and life history of *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875) (Trichoptera: Limnephilidae) in high mountain streams (Sierra Nevada, Spain) and key to the Iberian larvae of the genus. *Zootaxa*, **81**(3483), 71–81.
- Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C. & González, M.A. (2013). Los Tricópteros (Trichoptera). *En: Ruano, F., Tierno de Figueroa, J.M. & Tinaut, A. (Eds.), Los insectos de Sierra Nevada: 200 años de historia, Vol I*. Asociación Española de Entomología, León, pp. 202–231.
- Sáinz-Cantero, C.E. (1989). *Coleópteros acuáticos de Sierra Nevada*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, 237 pp. (Datos inéditos).

- Salavert, V., Zamora-Muñoz, C. & Tinaut, A. (2011). Distribución de tricópteros troglófilos (Trichoptera, Limnephilidae) en cuevas andaluzas (Andalucía, España). *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **35**(3–4), 325–344.
- Sand, K. & Brittain, J.E. (2009). Life cycle shifts in *Baetis rhodani* (Ephemeroptera) in the Norwegian mountains. *Aquatic Insects*, **31**, 283–291.
- Sauer, J., Domisch, S., Nowak, C. & Haase, P. (2011). Low mountain ranges: summit traps for montane freshwater species under climate change. *Biodiversity and Conservation*, **20**, 3133–3146.
- Schmid, F. (1952a). Contribution a l'étude des Trichoptères d'Espagne. *Pirineos*, **26**, 627–695.
- Schmid, F. (1952b) Le groupe de *Chaetopteryx* (Limnophilidae, Trichoptera). *Revue Suisse de Zoologie*, **59**, 99–171.
- Schmid, F. (1957). Les genres *Stenophylax* Kol., *Micropterna* St. et *Mesophylax* Mc.L. (Trichopt. Limnoph.). *Trabajos del Museo de Zoología*, **2**(2), 3–49.
- Schröter, D., Cramer, W., Leemans, R., Prentice, I.C., Araújo, M.B., Arnell, N.W., Bondeau, A., Bugmann, H., Carter, T.R., Gracia, C.A., de la Vega-Leinert, A.C., Erhard, M., Ewert, F., Glendining, M., House, J.I., Kankaanpää, S., Klein, R.J.T., Lavorel, S., Lindner, M., Metzger, M.J., Meyer, J., Mitchell, T.D., Reginster, I., Rounsevell, M., Sabaté, S., Sitch, S., Smith, B., Smith, J., Smith, P., Sykes, M.T., Thonicke, K., Thuiller, W., Tuck, G., Zaehle, S. & Zierl, B. (2005). Ecosystem service supply and vulnerability to Global Change in Europe. *Science*, **310**, 1333–1337.
- Sipahiler, F. (1998). Studies on the Genus *Annitella* Klapálek (Trichoptera: Limnephilidae: Chaetopterygini). *Aquatic Insects*, **20**(3), 149–164.
- Soberón, J. & Llorente, J. (1993). The use of species accumulation functions for the prediction of species richness. *Conservation Biology*, **7**, 480–488.
- Solem, J.O. & Gullefors, B. (1996). Trichoptera, Caddisflies. In: Nilsson, A.N. (Ed.), *Aquatic insects of NW Europe – a taxonomic handbook. Vol. 1*. Apollo Books, Kirkeby Sand, pp. 223–255.
- Stamatakis, A. (2006). RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, **22**, 2688–2690.
- Sweeney, B.W. (1984). Factors influencing life-history patterns of aquatic insects. In: Resh, V.H. & Rosenberg, D.M. (Eds.), *The ecology of aquatic insects*. Praeger Publishers, New York, pp. 56–100.
- Taubmann, J., Theissing, K., Feldheim, K.A., Laube, I., Graf, W., Haase, P., Johannesen, J. & Pauls, S.U. (2011). Modelling range shifts and assessing genetic diversity distribution of the montane aquatic mayfly *Ameletus inopinatus* in Europe under climate change scenarios. *Conservation Genetics*, **12**, 503–515.
- Thackeray, S.J., Sparks, T.H., Frederiksen, M., Burthe, S., Bacon, P.J., Bell, J.R., Botham, M.S., Brereton, T.M., Bright, P.W., Carvalho, L., Clutton-Brock, T., Dawson, A., Edwards, M., Elliott, J.M., Harrington, R., Johns, S., Jones, I.D., Jones, J.T., Leech, D.I., Roy, D.B., Scott, W.A., Smith, M., Smithers, R., Winfield, I.J. & Wanless, S. (2010). Trophic level asynchrony in rates of phenological change for marine, freshwater and terrestrial environments. *Global Change Biology*, **16**, 3304–3313.
- Thomas, C.D., Cameron, A., Green, R.E., Bakkenes, M., Beaumont, L.J., Collingham, Y.C., Erasmus, B.F.N., Ferreira de Siqueira, M., Grainger, A., Hannah, L., Hughes, L., Huntley, B., van Jaarsveld, A.S., Midgley, G.F., Milles, L., Ortega-Huerta, M.A., Peterson, A.T., Phillips, O.L. & Williams, S.E. (2004).

- Extinction risk from climate change. *Nature*, **427**, 145–148.
- Thuiller, W. (2004). Patterns and uncertainties of species' range shifts under climate change. *Global Change Biology*, **10**, 2020–2027.
- Thuiller, W. (2007). Climate change and the ecologist. *Nature*, **448**, 550–552.
- Tierno de Figueroa, J.M. (1998). *Biología imaginal de los plecópteros (Insecta, Plecoptera) de Sierra Nevada (Granada, España)*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, 310 pp. (Datos inéditos).
- Tierno de Figueroa, J.M., López-Rodríguez, M.J., Fenoglio, S, Sánchez-Castillo, P. & Fochetti, R. (2012). Freshwater biodiversity in the rivers of the Mediterranean Basin. *Hydrobiologia*, **719**, 137-186.
- Tierno de Figueroa, J.M., Palomino-Morales, J.A. & Luzón-Ortega, J.M. (2000). Spatial distribution on river banks of *Isoperla nevada* (Plecoptera, Perlodidae), *Chloroperla nevada* (Plecoptera, Chloroperlidae) and *Sericostoma* cf. *vittatum* (Trichoptera, Sericostomatidae). *Italian Journal of Zoology*, **67**, 355–358.
- Townsend, C.R. & Hildrew, A.G. (1994). Species traits in relation to a habitat templet for river systems. *Freshwater Biology*, **31**, 265–275.
- Ulbrich, U., May, W., Li, L., Lionello, P., Pinto, J. & Somot, S. (2006). The Mediterranean Climate Change under Global Warming. In: *Mediterranean Climate Variability. Volume 4* (eds Lionello P, Malanotte-Rizzoli P, Boscolo R), pp 399–415. Amsterdam, Elsevier Science.
- Vannote, R.L. & Sweeney, B.W. (2007). Geographic Analysis of Thermal Equilibria : A Conceptual Model for Evaluating the Effect of Natural and Modified Thermal Regimes on Aquatic Insect Communities. *The American Naturalist*, **115**, 667–695.
- Vieira-Lanero, R. (2000). *Las larvas de los Tricópteros de Galicia (Insecta: Trichoptera)*. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 612 pp.
- Vieira-Lanero, R., González, M.A. & Cobo, F. (2003). The larvae of *Polycentropus corniger* McLachlan, 1884 and *Polycentropus intricatus* Morton, 1910. *Spixiana*, **26**, 243–247.
- Van Vliet, M.T., Ludwig, F., Zwolsman, J.J., Weedon, G., Kabat & P. (2011). Global river temperatures and sensitivity to atmospheric warming and changes in river flow. *Water Resources Research*, **47**, W02544.
- Vučković, I., Previšić, A., Graf, W. & Kučinić, M. (2011). Description of the female and new data on the distribution of *Annitella apfelbecki* Klapálek, 1899 (Insecta: Trichoptera). *Aquatic Insects*, **33**, 381–388.
- Wagner, R. (1991). Life cycles of some autumn emerging caddisflies. In: Tomszewski, C. (Ed.), *Proceedings of the 6th International Symposium on Trichoptera*. Adam Mickiewicz University Press, Poznan, pp. 171–175.
- Wallace, I.D., Wallace, B. & Philipson, G.N. (2003). *A Key to the Case-bearing Caddis Larvae of Britain and Ireland*. Freshwater Biological Association Scientific Publication 61, Liverpool, 259 pp.
- Walther, G.R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C., Fromentin, J.M., Hoegh-Guldberg, O. & Bairlein, F. (2002). Ecological responses to recent climate change. *Nature*, **416**, 389–395.
- Ward, J.V. & Stanford, J.A. (1982). Thermal responses in the evolutionary ecology of aquatic insects. *Annual Review of Entomology*, **27**, 97–117.
- Waringer, J.A. (1993). The larva of *Halesus rubricollis* (Pictet, 1834) (Trichoptera: Limnephilidae) from an Austrian mountain brook. *Aquatic Insects*, **15**, 249–255.

- Waringer, J. & Graf, W. (1997). *Atlas der Österreichischen Köcherfliegenlarven: Unter Einschluss der angrenzenden Gebiete*. Facultas-Universitätsverlag, Vienna, 286 pp.
- Waringer, J. & Graf, W. (2011). *Atlas der mitteleuropäischen Köcherfliegenlarven—Atlas of Central European Trichoptera Larvae*. Erik Mauch Verlag, Dinkelscherben, Germany, 468 pp.
- Waringer, J., Graf, W., Kućinić, M., Previšić, A. & Vučković, I. (2009). The larva and life cycle of *Annitella apfelbecki* (Klapálek, 1899), including a redescription of *Melampophylax nepos* (McLachlan, 1880) (Trichoptera: Limnephilidae). *Aquatic Insects*, **31**, 71–80.
- Wiggins, G.B. (2004). *Caddisflies. The Underwater Architects*. University of Toronto. Press Incorporated, Toronto, Buffalo, London, 291 pp.
- Williams, D.D. & Feltmate, B.W. (1992). *Aquatic insects*. C.A.B. International, Wallingford, U.K, 358 pp.
- Williams, N. & Wiggins, G. (1981). A proposed setal nomenclature and homology for larval Trichoptera. *En: Moretti, G.P. (Ed.), Proceedings of the 3rd International Symposium on Trichoptera*. Dr. W. Junk publishers, The Hague, pp. 421–429.
- Wilson, R.J., Gutiérrez, D., Gutiérrez, J., Martínez, D., Agudo, R. & Monserrat, V.J. (2005). Changes to the elevational limits and extent of species ranges associated with climate change. *Ecology Letters*, **8**, 1138–1146.
- Wilson, R.J., Gutiérrez, D., Gutiérrez, J., Monserrat, V.J. (2007). An elevational shift in butterfly species richness and composition accompanying recent climate change. *Global Change Biology*, **13**, 1873–1887.
- Wilson, R.J. & Maclean, I.M.D. (2011). Recent evidence for the climate change threat to Lepidoptera and other insects. *Journal of Insect Conservation*, **15**, 259–268.
- Wrona, F., Prowse, T., Reist, J., Hobbie, J., Lévesque, L.M. & Vincent, W. (2006). Climate impacts on arctic freshwater ecosystems and fisheries: background, rationale and approach of the Arctic Climate Impact Assessment (ACIA). *Ambio*, **35**, 326–9.
- WWF (2012). Living Planet Report 2012. Gland, Switzerland.
- Xenopoulos, M.A., Lodge, D.M., Alcamo, J., Märker, M., Sxhulze, K., Van Vuuren, D.P. (2005). Scenarios of freshwater fish extinctions from climate change and water withdrawal. *Global Change Biology*, **11**, 1557–1564.
- Zamora-Muñoz, C. (1992). Macroinvertebrados acuáticos, caracterización y calidad de las aguas de los cauces de la cuenca alta del río Genil. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, 364 pp. (Datos inéditos).
- Zamora-Muñoz, C. (2004). Tricópteros. Fauna Andalucía. *En: A. Tinaut & F. Pascual (Eds.), Proyecto Andalucía. Naturaleza. Tomo XVIII: Zoología VI*. Publicaciones Comunitarias, Grupo Hércules, Sevilla, pp. 15–28.
- Zamora-Muñoz, C. & Alba-Tercedor, J. (1992a). Description of the larva of *Rhyacophila* (*Rhyacophila*) *nevada* Schmid, 1952 and key to the species of *Rhyacophila* of the Iberian Peninsula (Trichoptera: Rhyacophilidae). *Aquatic Insects*, **14**, 65–71.
- Zamora-Muñoz, C. & Alba-Tercedor, J. (1992b). Caracterización y calidad de las aguas del río Monachil (Sierra Nevada, Granada). Factores físico-químicos y comunidades de macroinvertebrados acuáticos. Agencia del Medio Ambiente. Ed. Anel, Granada, 171 pp.
- Zamora-Muñoz, C. & Alba-Tercedor, J. (1995). Primera cita de *Halesus tessellatus* Rambur 1842 (Trichoptera: Limnephilidae) en la Península Ibérica. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **19**(3–4), 200–201.
- Zamora-Muñoz, C., Alba-Tercedor, J. & García de Jalón, D. (1995). The larvae of the genus *Hydropsyche* (Hydropsychidae; Trichoptera) and keys for the

- identification of species of the Iberian Peninsula. *Mitteilungen Der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, **68**, 189–219.
- Zamora-Muñoz, C. & Bonada, N. (2003). Catálogo de los Tricópteros de Aragón (Trichoptera). *Sociedad Entomológica Aragonesa*, **28**, 3–15.
- Zamora-Muñoz, C., González, M., Picazo-Muñoz, J. & Alba-Tercedor, J. (2002). *Hydropsyche fontinalis*, a New Species of the *instabilis*-Group from the Iberian Peninsula (Trichoptera, Hydropsychidae). *Aquatic Insects*, **24**, 189–197.
- Zamora-Muñoz, C., Picazo, J., Alba-Tercedor, J. (1997). New findings on the larval pattern variability in *Rhyacophila meridionalis* Pictet, 1865 (Trichoptera: Rhyacophilidae). *Aquatic Insects*, **19**, 1–8.

Anexos



Borreguiles del río Dílar, verano 2008

ANEXO 1: Localización de las estaciones muestreadas en Sierra Nevada durante el desarrollo de esta tesis doctoral. Para cada estación se presenta, el nombre del río, arroyo o laguna muestreada, la localidad, la altitud s.n.m, las coordenadas UTM, el número asignado en el mapa (Figura 5) y los objetivos en los que ha intervenido el material colectado.

RÍO/ ARROYO/ LAGUNA	LOCALIDAD	ALTITUD	X_UTM	Y_UTM	MAPA (FIG. 5)	OBJETIVOS
SIERRA NEVADA						
<i>CUENCA DEL RÍO ADRA</i>						
Mecina*	Área Recreativa Las Chorreras	1866	488336	4101049	1	1 y 5
Nechite*	Las Piedras de Márquez	1835	491880	4102947	2	1 y 5
Laroles* †	Área Recreativa Laroles	1753	495909	4102162	3	1 al 5
Palancón*	Posada de los Arrieros	1720	498151	4103605	4	1 y 5
Río Paterna*	Paterna del Río	1175	504844	4098391	5	1 y 5
Río Mecina*	Mecina- Bombarón	1144	486721	4093848	6	1 y 5
Río Laroles*	Laroles	1000	498007	4096666	7	1 y 5
Río Nechite	Mecina- Alfahar	840	494116	4095062	8	1
<i>CUENCA DEL RÍO ANDARAX</i>						
Nacimiento	Refugio El Ubeire	1631	508956	4107159	9	1
Isfalada	Cruce con Barranco de Dólar	1509	503303	4108381	10	1
Tejos	Huéneja	1500	504076	4107093	11	1, 3 y 4
Andarax	A 2 Km del Área Recreativa El Nacimiento	1035	509641	4097329	12	1
<i>CUENCA DEL RÍO GENIL</i>						
Dólar	Lagunillos de la Virgen	2945	466213	4100626	13	1
Dólar	Laguna de las Yeguas	2900	466302	4101268	14	1
Dólar †	Borreguiles	2855	466148	4101564	15	1 al 4
Valdeinfiernos	Laguna Larga	2790	470400	4101800	16	1
Monachil* †	Borreguiles	2679	465816	4103202	17	1 al 5

Anexo 1-Continuación

RÍO/ ARROYO/ LAGUNA	LOCALIDAD	ALTITUD	X_UTM	Y_UTM	MAPA (FIG. 5)	OBJETIVOS
San Juan	Cabecera	2498	466684	4104484	18	1
San Juan	Hoya de la Mora	2421	465905	4109739	19	1
Valdecasillas	Majada del Real	1900	471600	4104200	20	1
Valdeinfiernos	Majada del Palo	1780	470900	4105200	21	1
Manuel Casas †	Carril del Robledal. Extracción de serpentina	1704	460987	4105369	22	1 al 4
Real	Junta de los dos ríos	1690	470600	4105200	23	1
Guarnón	Minas de La Estrella	1500	469602	4106375	24	1
Monachil**	Central de Díechar	1416	459643	4106471	25	1 y 5
Aguas Blancas	Arroyo de Tocón	1300	468550	4121550	26	1
San Juan	Confluencia Genil-San Juan	1178	465444	4110007	27	1
Genil*	Vereda de la Estrella	1156	465349	4109791	28	1 y 5
Maitena*	Desembocadura	1018	463140	4111624	29	1 y 5
Dílar**	Central Eléctrica	952	450669	4102077	30	1 y 5
CUENCA DEL RÍO GUADALFEO						
Veleta*	Laguna de Aguas Verdes	3050	467000	4100000	31	1 y 5
Seco	Laguna de Río Seco	3033	469304	4100740	32	1
La Caldera*	Al pie de la laguna	3022	470788	4100977	33	1 y 5
Trevélez	Albaidí	2546	479419	4104892	34	1
Trevélez	Juntillas	1975	478452	4102297	35	1
Grande de Bérchules	Cortijo de Las Jeromillas	1797	483524	4099759	36	1
Trevélez*	Poqueira	1540	477400	4096700	37	1 y 5
Lanjarón	Cortijo de Los Pilonos	1500	459200	4090500	38	1
Dúrcal	Cortijo La Magara	1270	454759	4098938	39	1

Anexo 1-Continuación

RÍO/ ARROYO/ LAGUNA	LOCALIDAD	ALTITUD	X_UTM	Y_UTM	MAPA (FIG. 5)	OBJETIVOS
Torrente	Nigüelas, Tajo Bernal	1100	454000	4093800	40	1
Grande de Bérchules	Las Fuentes de Narilla	1100	483000	4092000	41	1
CUENCA DEL RÍO GUADIANA MENOR						
Alhama	Dehesa del Camarate	2150	477554	4112204	42	1, 3 y 4
Pasillos* †	Los Pasillos	1646	493948	4107674	43	1 al 5
Venta	Área Recreativa Lanteira	1612	488072	4109422	44	1
Pueblo*	La Cabañuela	1547	486104	4110050	45	1 y 5
Alhorí*	Central eléctrica	1514	482323	4111526	46	1 y 5
Alcázar*	Área Recreativa La Tizná	1494	483531	4110396	47	1 y 5
SIERRA DE BAZA						
CUENCA DEL RÍO GUADALQUIVIR						
Gor †	Nacimiento	1773	513147	4133118	48	1-4

* Localidades donde se ha realizado el estudio comparativo para detectar efectos del cambio climático;

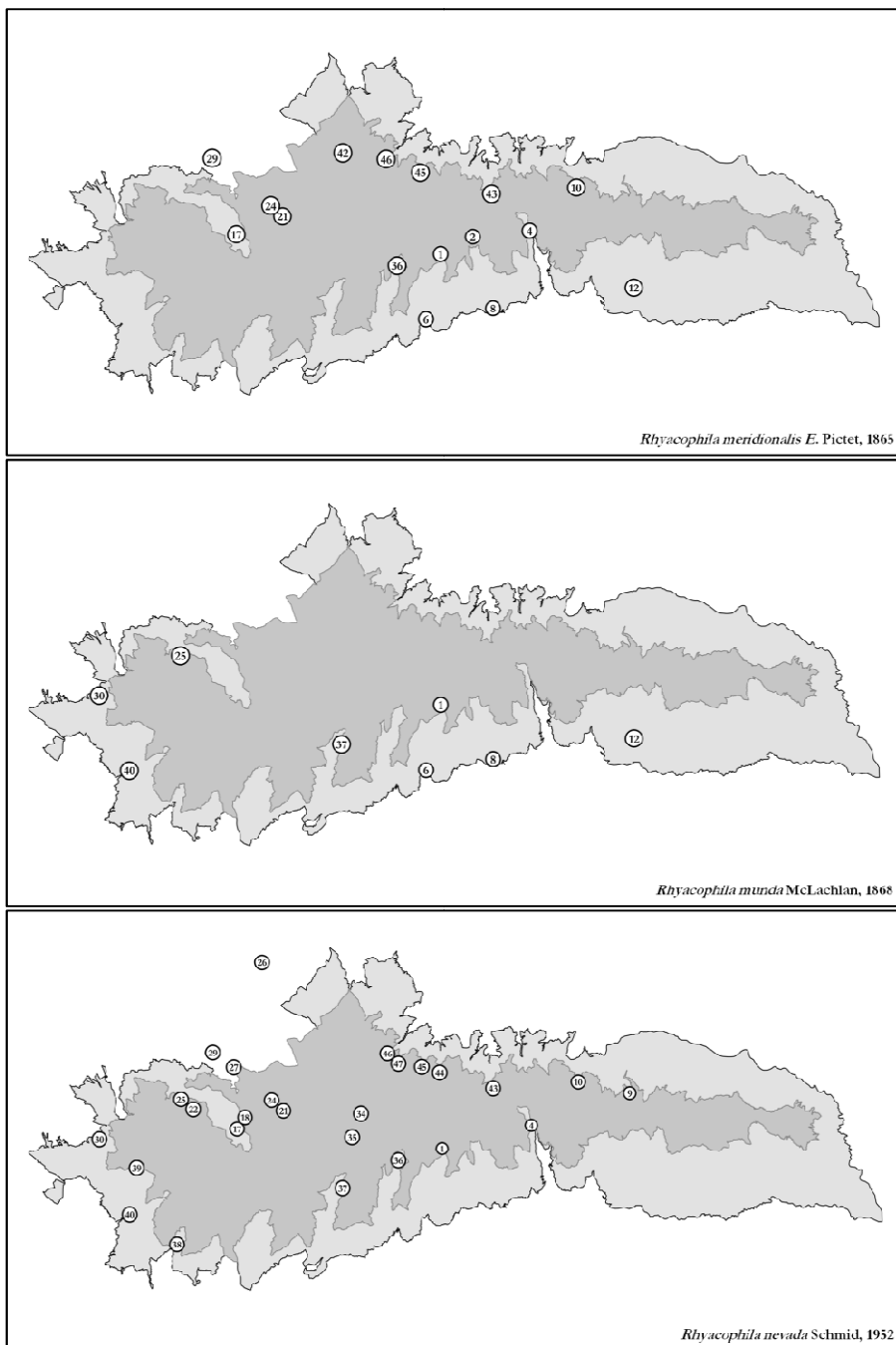
** Localidades donde se sitúan las estaciones de aforo para estudiar el caudal en relación con el cambio climático;

† Localidades donde se ha estudiado el ciclo de vida y las estrategias vitales de *A. esparraquera* y *A. iglesiasi*.

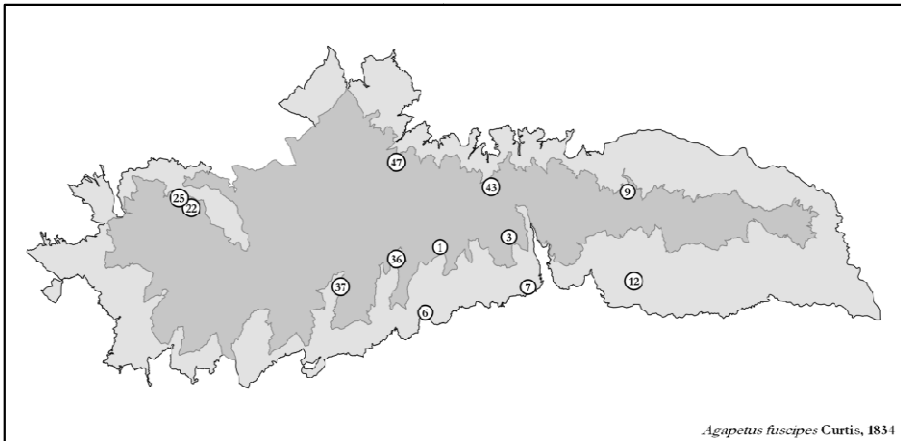
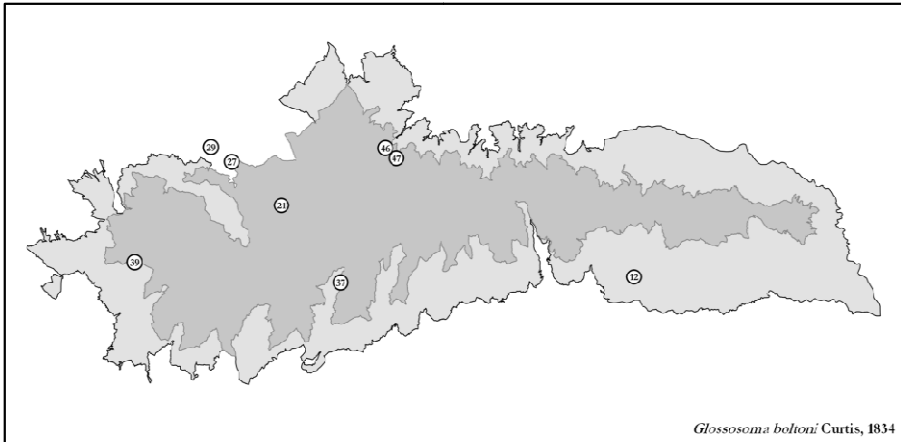
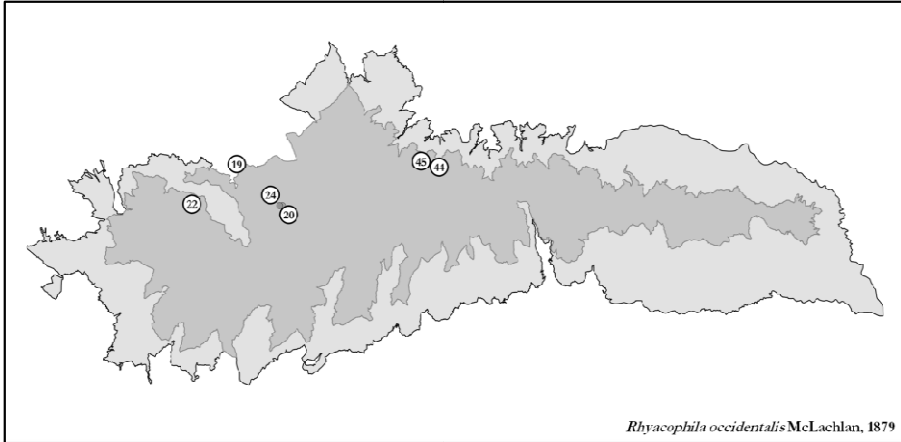
ANEXO 2: Localización de procedencia del material del género *Annitella* distinta a Sierra Nevada y Sierra de Baza (Anexo 1, Figura 5).

ESPECIE	PAIS	SITUACIÓN	COLECTOR
<i>Annitella amelia</i>	España	Cabeza de Manzaneda	M. Sáinz-Bariáin & M. Berbel
<i>Annitella esparaguera</i>	España	Sierra de Cazorla	M. Fernández & C. Zamora-Muñoz
<i>Annitella pyrenaea</i>	España	Pirineos	N. Bonada
<i>Annitella sanabriensis</i>	España	Sierra de Ancares	J. Martínez & M. González
<i>Annitella obscurata</i>	Noruega	Hamar	M. Sáinz-Bariáin, J. E. Brittain & C. Zamora-Muñoz
<i>Annitella obscurata</i>	Noruega	Rondane	M. Sáinz-Bariáin, J. E. Brittain & C. Zamora-Muñoz
<i>Annitella obscurata</i>	Polonia	Cárpatos	B. Szczesny
<i>Annitella apfelbecki</i>	Croacia	Alpes Dináricos, Balcanes	I. Vukovic A. Previsi
<i>Annitella lateroproducta</i>	Rumania	Cárpatos	M. Bálint
<i>Annitella lateroproducta</i>	Ucrania	Cárpatos	B. Szczesny
<i>Annitella dziedzieleniczi</i>	Ucrania	Cárpatos	B. Szczesny
<i>Annitella thuringica</i>	Ucrania	Alpes	B. Szczesny
<i>Annitella thuringica</i>	Polonia	Cárpatos	B. Szczesny
<i>Annitella chomicensis</i>	Polonia	Cárpatos	B. Szczesny

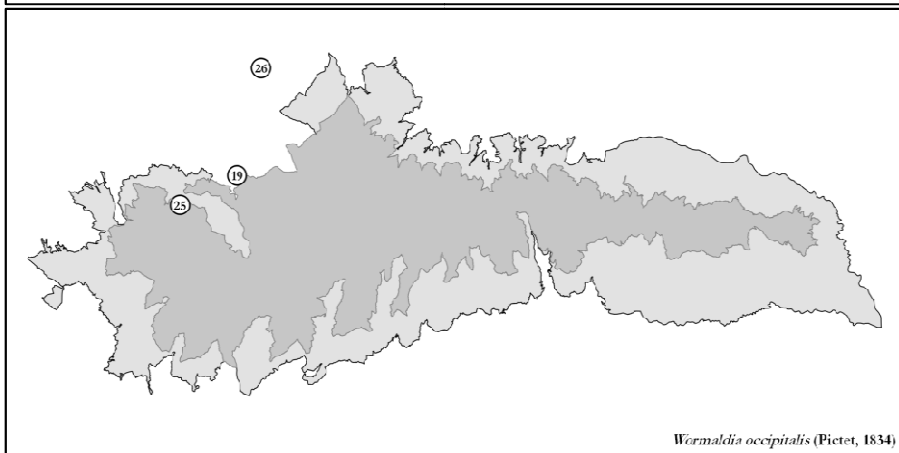
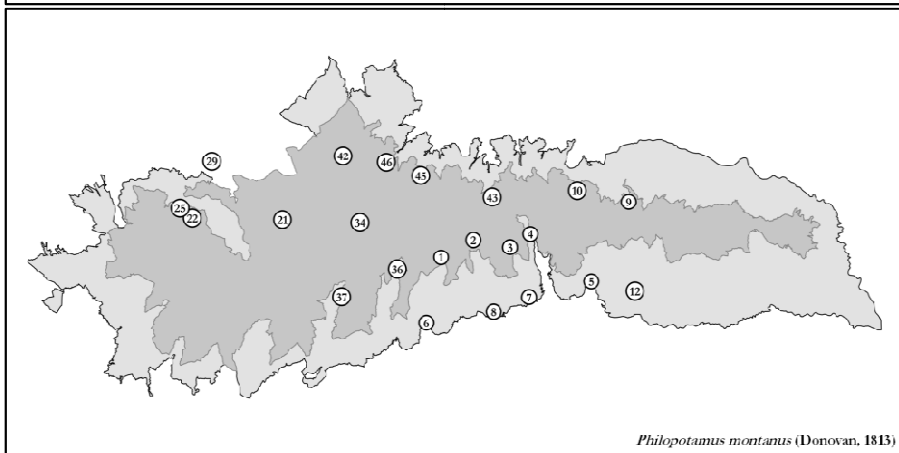
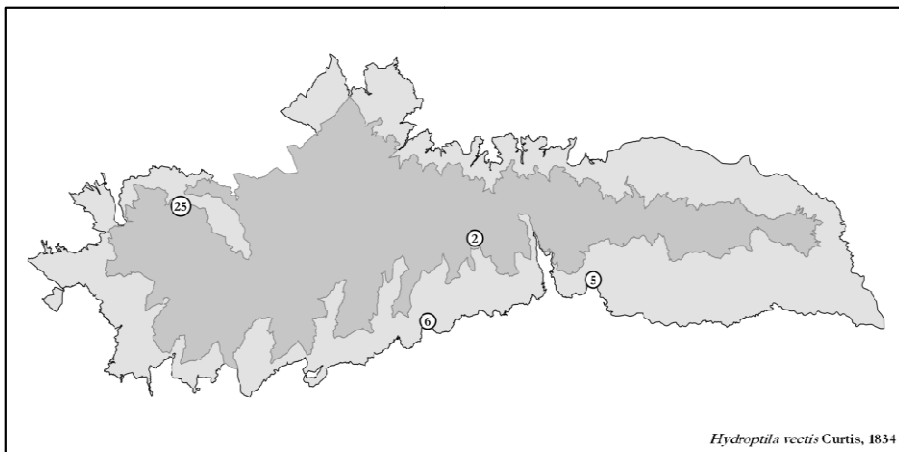
ANEXO 3: Localización de las especies colectadas durante los muestreos realizados en los años 2008 y 2009 en el Espacio Natural de Sierra Nevada. El número de la localidad se corresponde con el del Anexo 1.



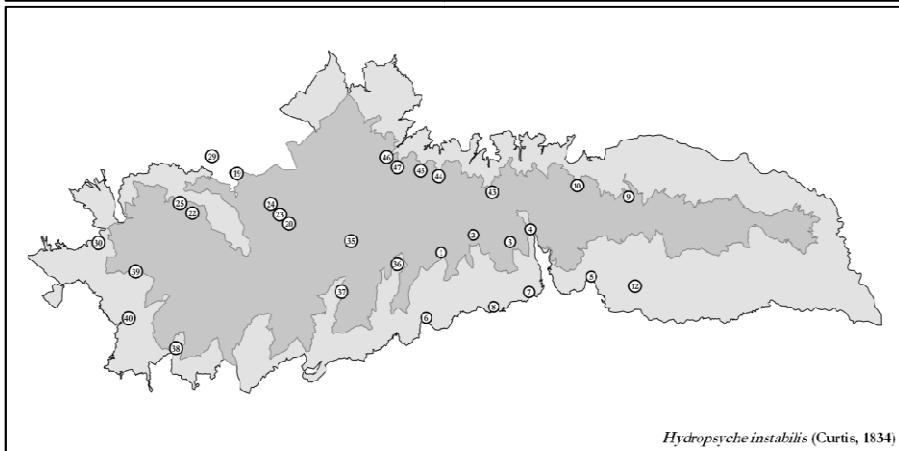
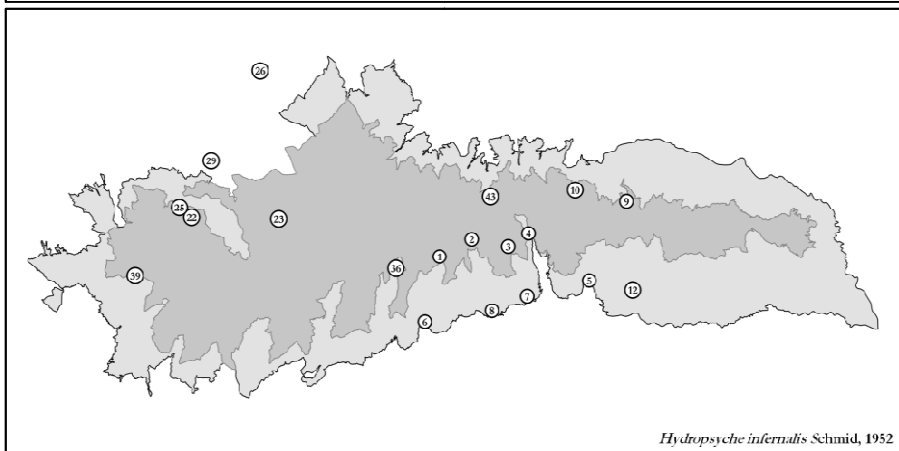
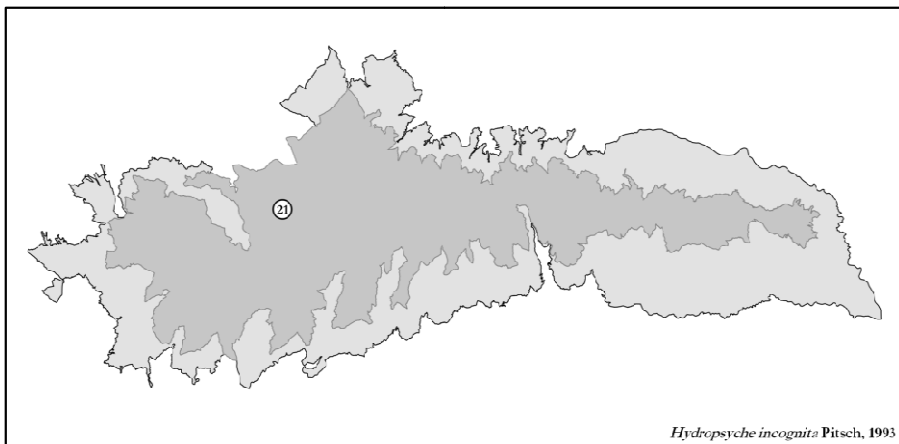
Anexo 3-Continuación



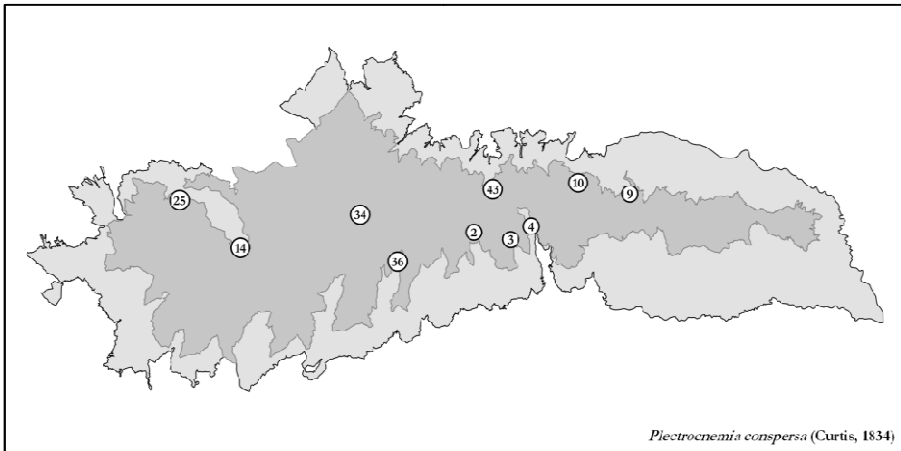
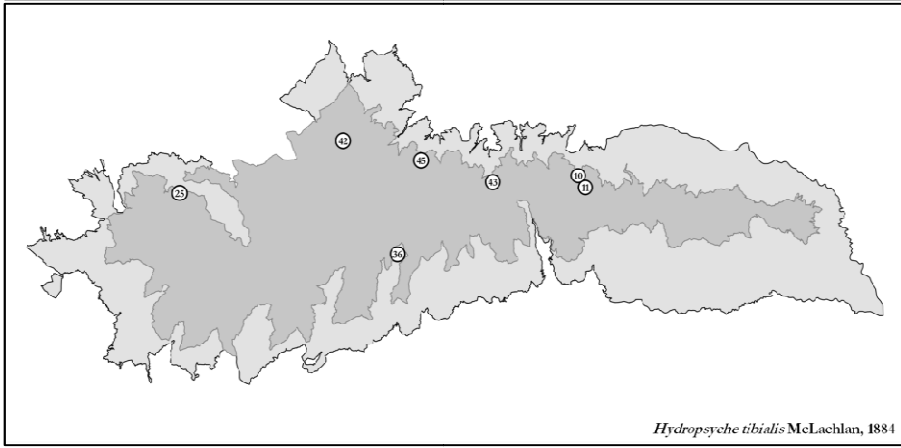
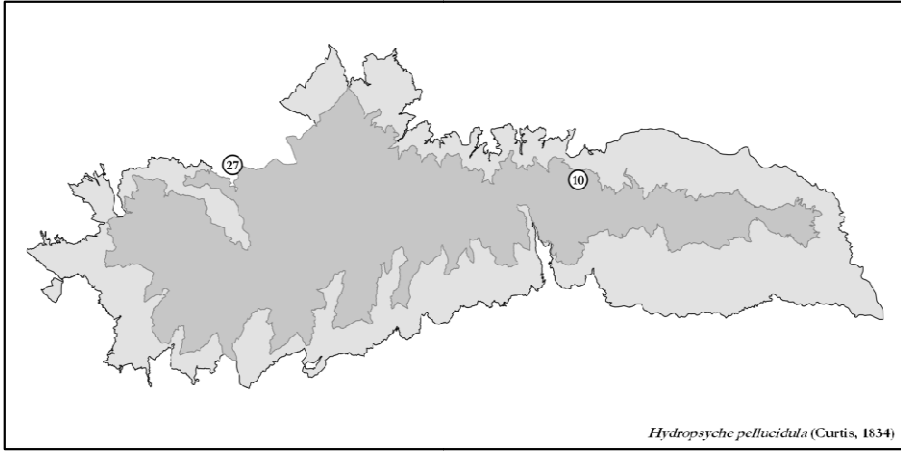
Anexo 3-Continuación



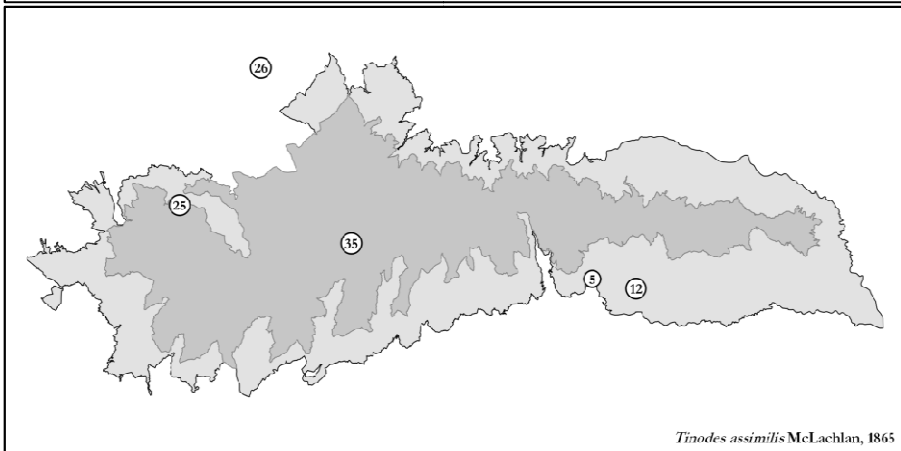
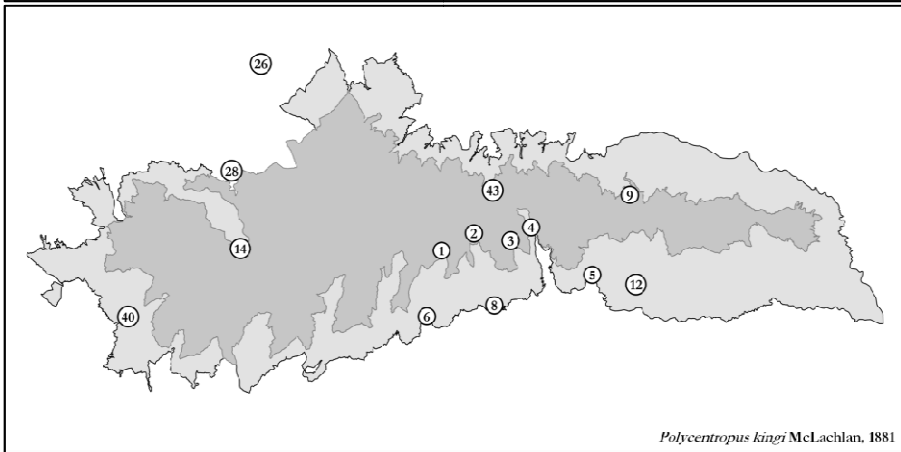
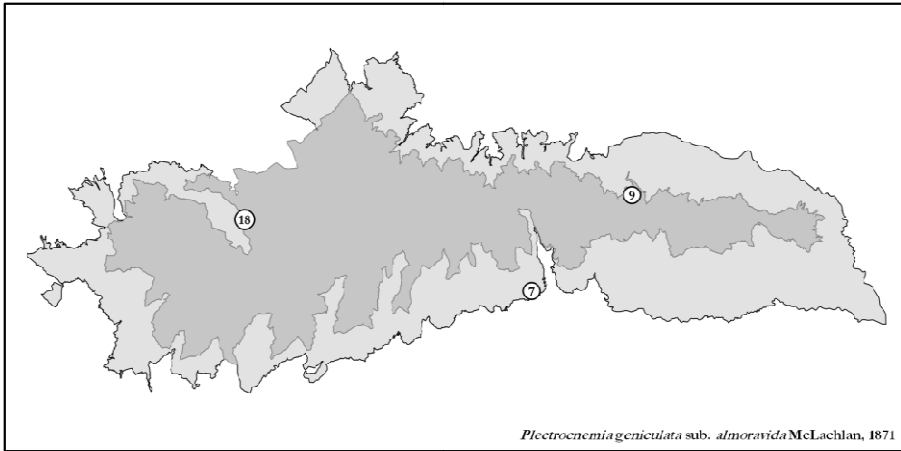
Anexo 3-Continuación



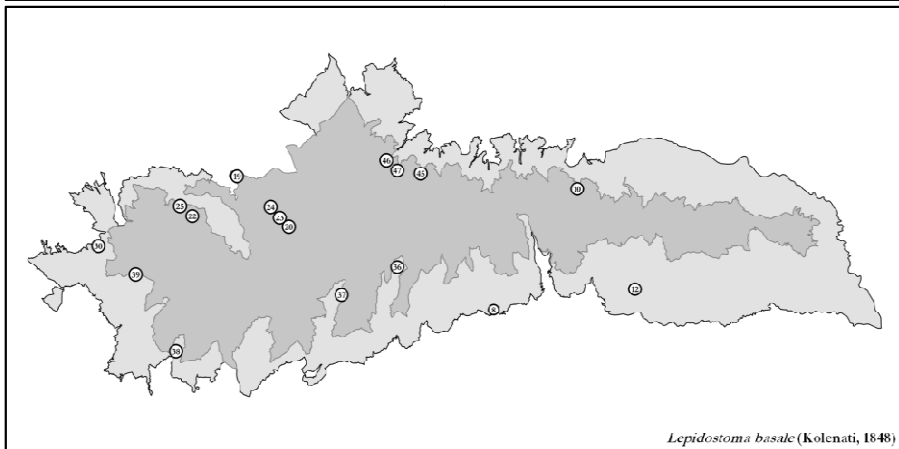
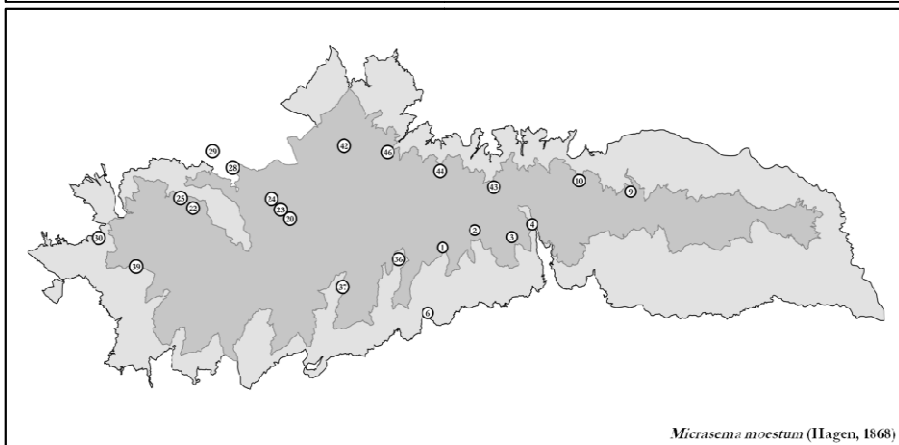
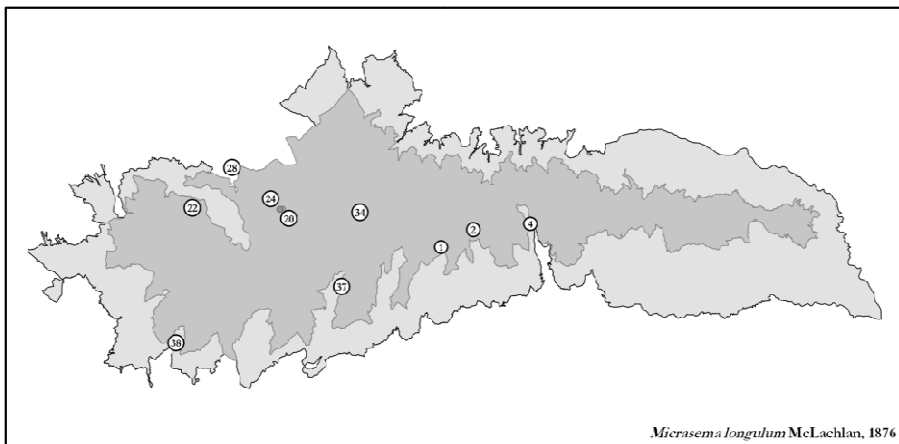
Anexo 3-Continuación



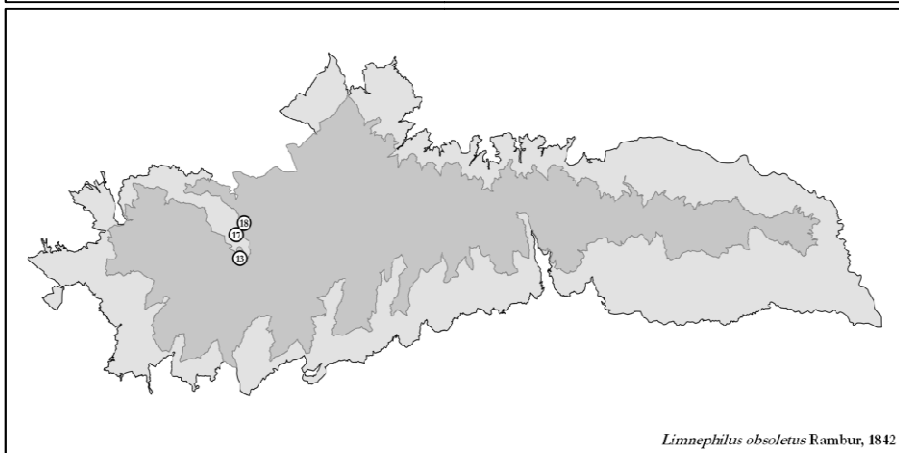
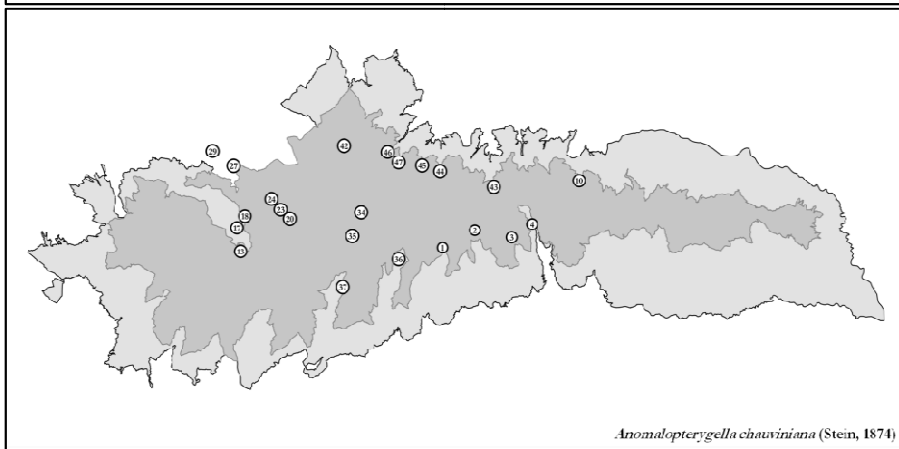
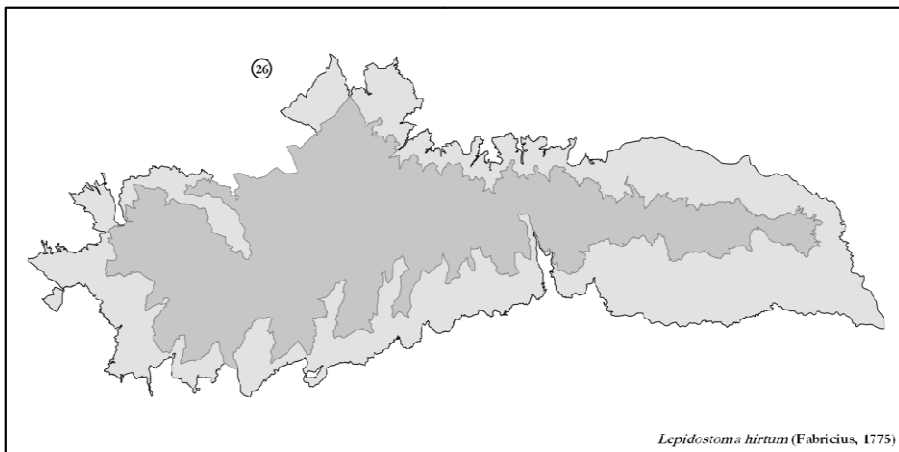
Anexo 3-Continuación



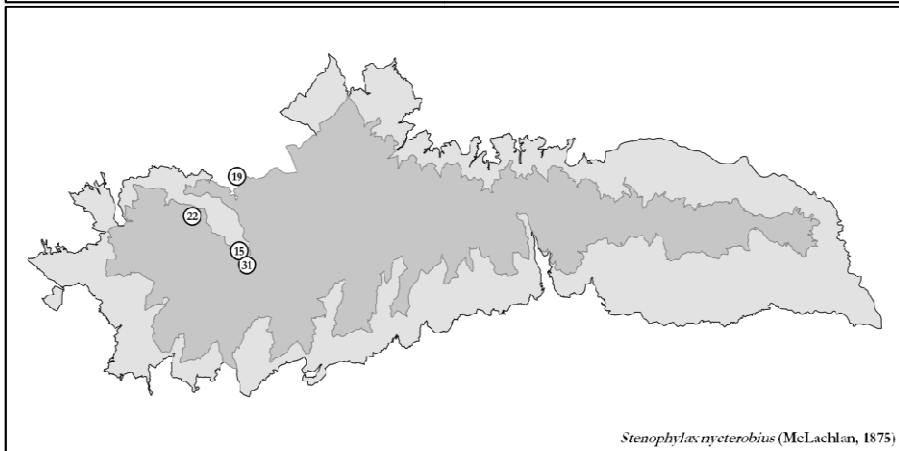
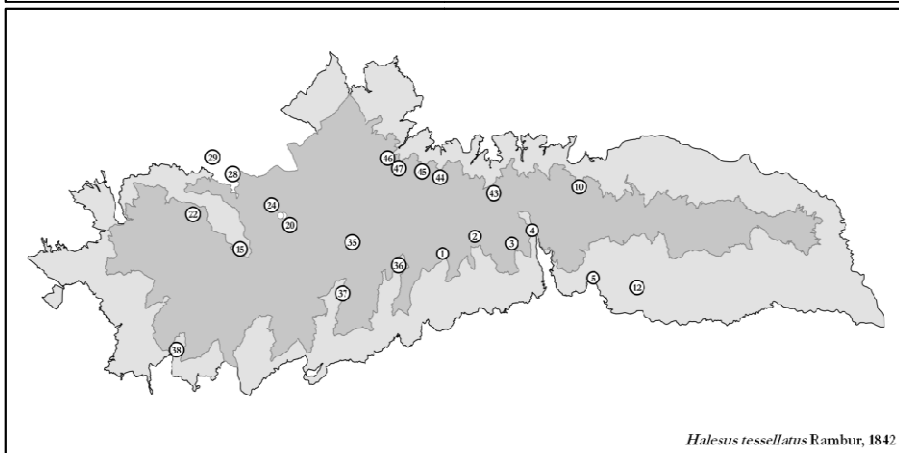
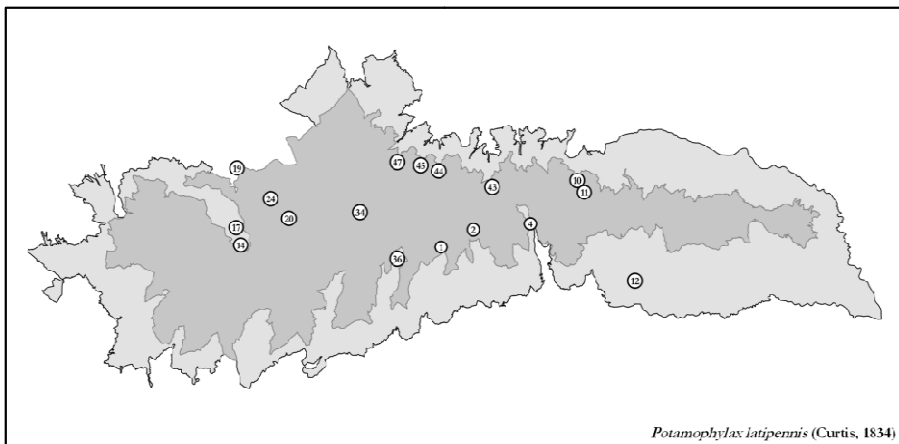
Anexo 3-Continuación



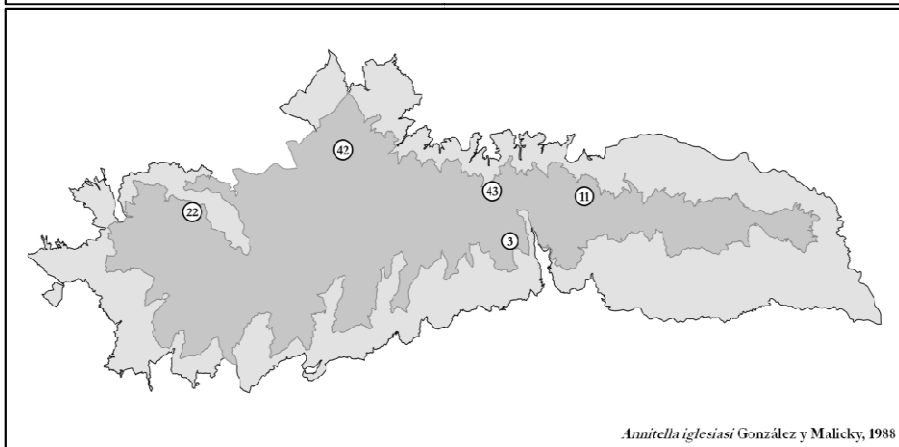
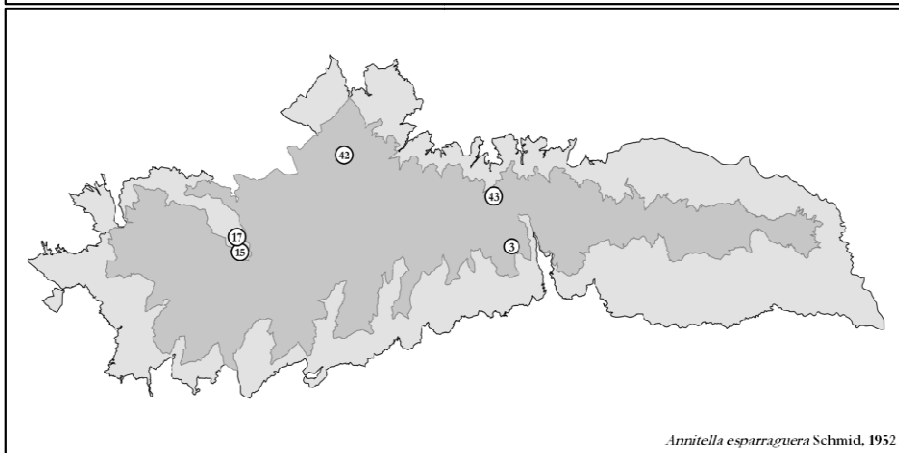
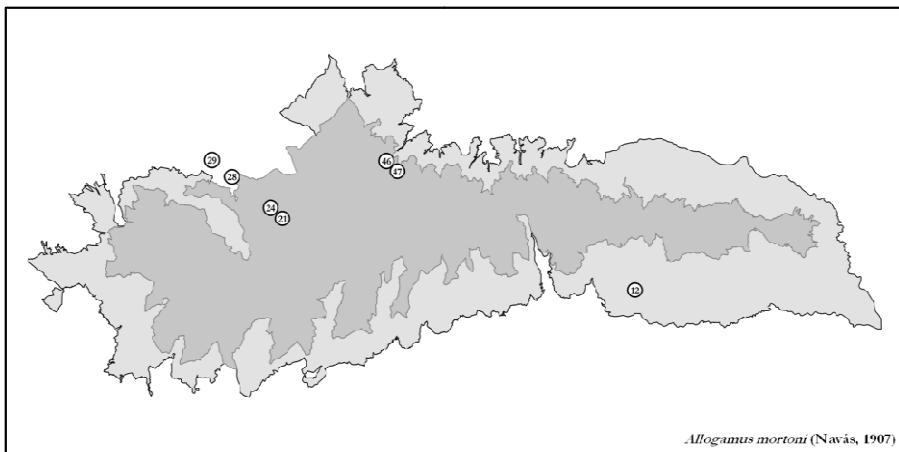
Anexo 3-Continuación



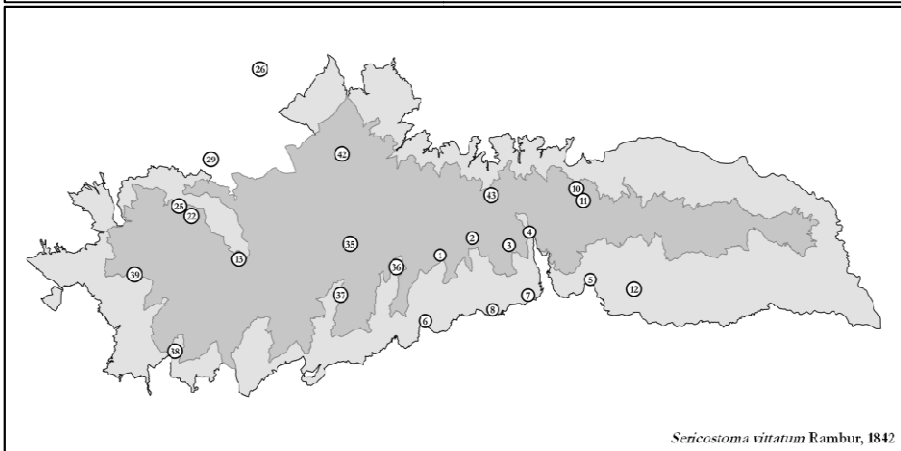
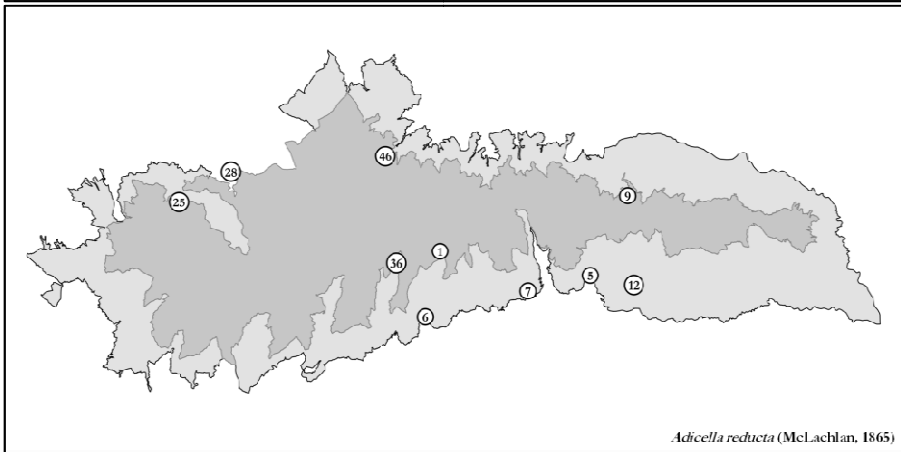
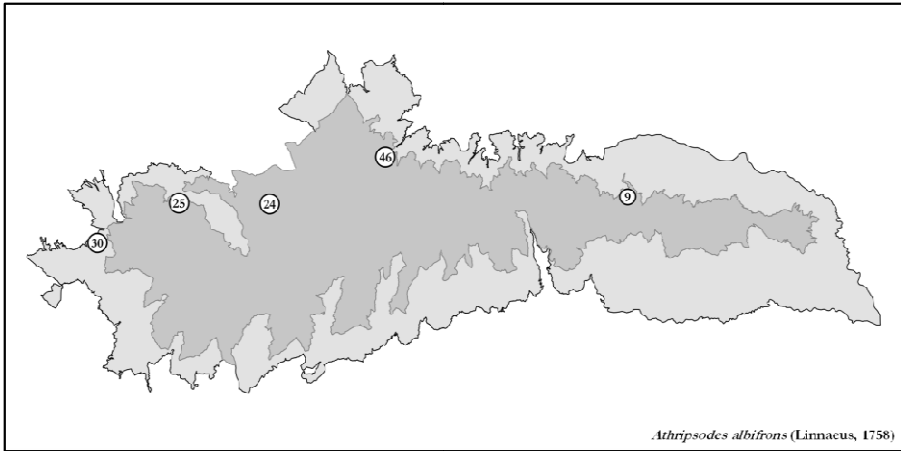
Anexo 3-Continuación



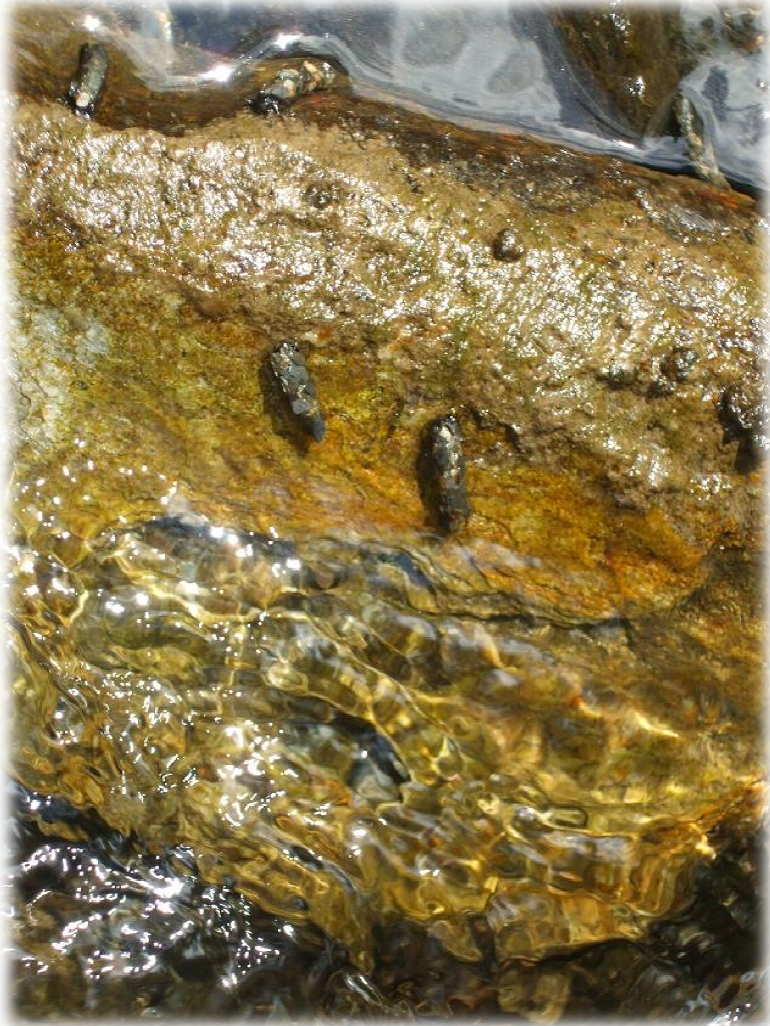
Anexo 3-Continuación



Anexo 3-Continuación



BLOQUE 1: DIVERSIDAD DE TRICÓPTEROS EN SIERRA NEVADA



Larvas de *Allogamus mortoni* (Navás, 1907), Río Maitena, verano 2008

Capítulo 1

Los Tricópteros (Trichoptera) de Sierra Nevada



Alcazaba y Mulhacén desde la vereda de la Estrella, primavera 2009

Resumen

En este capítulo se presenta el listado completo y actualizado del orden Trichoptera en Sierra Nevada. Para llevarlo a cabo, además de realizar una revisión bibliográfica sobre la distribución de este grupo en el macizo, se aportan datos nuevos procedentes de muestreos recientes y de material de colección inédito. A parte de la distribución local de las especies en el macizo, se comentan su distribución global y sus características ecológicas.

Palabras clave: *Trichoptera, faunística, distribución, Sierra Nevada, península ibérica*

Abstract

The complete and updated checklist of the order Trichoptera in Sierra Nevada is presented. In order to carry out it, besides realising a bibliographical revision on the distribution of this group in the massif, new data coming from recent samplings and of unpublished material of collection are given. In addition to the local species distribution in the massif, their global distribution and ecological characteristics are commented.

Keywords: *Trichoptera, faunistic, distribution, Sierra Nevada, Iberian Peninsula*

Este capítulo reproduce íntegramente el siguiente artículo:

Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C. & González, M.A. (2013). **Los Tricópteros (Trichoptera)**. *In: Ruano, F., Tierno de Figueroa, J.M. & Tinaut, A. (Eds.), Los insectos de Sierra Nevada: 200 años de historia, Vol I.* Asociación Española de Entomología, León, pp. 202–231.

INTRODUCCIÓN

Los tricópteros son un grupo de insectos pterigotas holometábolos, con adultos voladores de actividad principalmente crepuscular y nocturna (González & Cobo, 2004). Presentan tamaños comprendidos entre 1 y 30 mm y, generalmente, son de color pardo, por lo que pasan desapercibidos durante el día, escondidos entre la vegetación cercana a los cursos de agua. Las larvas y pupas son acuáticas y habitan en la mayoría de los ecosistemas dulceacuícolas, pudiéndose encontrar en fuentes, arroyos de montaña, grandes ríos, lagos o humedales, e incluso se han encontrado algunas especies en aguas salobres (Williams & Feltmate, 1992). El grupo es sobre todo conocido por la habilidad de sus larvas para fabricar, con sedas y diversos materiales, una gran variedad de construcciones (estuches, redes, galerías, etc.) (González & Cobo, 2004). Las estrategias alimenticias de las larvas incluyen la fragmentación de hojas y madera, la recolección de material orgánico en suspensión mediante las redes de seda que fabrican o mediante piezas bucales modificadas, el raspado de algas, la succión de contenidos celulares de algas y la depredación (Wiggins, 2004). Dentro del conjunto de los macroinvertebrados acuáticos se caracterizan por ser uno de los grupos con mayor riqueza específica y ecológica, lo que les hace muy sensibles a los cambios ambientales, de ahí su importancia como bioindicadores en ecosistemas acuáticos por reflejar la intensidad de diferentes factores estresantes en estos ecosistemas (Resh, 1992).

El orden incluye más de 13.000 especies descritas pertenecientes a 608 géneros dentro de 47 familias (Morse, 2012). En Europa se conocen más de 1.000 especies (Malicky, 2011) y, de ellas, 342 se citan en la península ibérica e Islas Baleares (González & Martínez-Menéndez, 2011). A pesar de la elevada diversidad de especies de tricópteros de la península ibérica, comparable a la de otros países mediterráneos (como Italia, con 381 especies), el conocimiento taxonómico y ecológico en algunas áreas de la Península es muy incompleto y muchas de las especies ni siquiera son identificables en fase larvaria. El número total de especies citadas en Andalucía es de 103 (Zamora-Muñoz, 2004), una

cantidad baja (por incompleta) si la comparamos con el número de especies capturadas en otras comunidades de menor extensión y áreas españolas con un mayor conocimiento de la fauna tricóptero-lógica, como Galicia con 147 especies (Vieira-Lanero, 2000), Aragón con 124 (Zamora-Muñoz & Bonada, 2003) o los estudios realizados en 28 cuencas fluviales del arco mediterráneo español y norteafricano con 112 especies (Bonada *et al.*, 2004, 2008).

En Sierra Nevada se han llevado a cabo muy pocos estudios sobre tricópteros. La mayoría de las citas registradas se deben a capturas aisladas de naturalistas e investigadores durante visitas esporádicas al macizo, o a estudios generales sobre invertebrados acuáticos. Concretamente, el estudio más importante realizado sobre este grupo en Sierra Nevada fue el de Schmid (1952) quien, durante los meses de agosto y septiembre de 1950, realizó un viaje por la península ibérica y visitó varias localidades de Sierra Nevada, capturando 17 especies de tricópteros, de las cuales 8 eran nuevas para la ciencia. Hasta entonces, sólo Navás (1908, 1911, 1920, 1924) había citado 5 especies en distintas localidades de Sierra Nevada, siendo una de ellas nueva para la ciencia. A principios de los 90, se publica la *Lista faunística y bibliográfica de los tricópteros (Trichoptera) de la península ibérica e Islas Baleares* (González *et al.*, 1992) donde se recopila la información faunística, disponible hasta entonces, sobre los tricópteros de la Península e Islas Baleares. Aumenta el número de especies citadas para Sierra Nevada en 21, incluyendo una especie nueva para la ciencia y además endémica de la Sierra (*Annitella iglesiasi* González & Malicky, 1988). El resto de datos disponibles corresponden a nuevas citas, descripciones de especies y de formas larvarias (Malicky, 1972; González & Botosaneanu, 1985; González & Malicky, 1988, 1999; Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1992a, 1995; Zamora-Muñoz *et al.*, 1995), a un par de estudios sobre los tricópteros de las cuencas mediterráneas, que incluye algunas localidades de Sierra Nevada (Bonada *et al.*, 2004, 2008) y a estudios generales sobre macroinvertebrados acuáticos de algunos cursos de agua de este macizo (Palomares, 1982; Alba-Tercedor & Jiménez-Millán, 1987; Zamora-Muñoz &

Alba-Tercedor, 1992b; Tierno de Figueroa *et al.*, 2000).

MATERIAL Y MÉTODOS

El listado completo de especies del orden Trichoptera en Sierra Nevada se obtuvo tras realizar una exhaustiva revisión bibliográfica, recopilando todas las citas de este grupo en el macizo, y mediante el aporte de datos de muestreos recientes y antiguos, pero inéditos. Los datos recientes proceden de las muestras colectadas en Sierra Nevada en los años 2008 y 2009 como parte de un proyecto de investigación sobre el orden Trichoptera financiado por el Ministerio de Medio Ambiente. Se muestrearon un total de 47 localidades situadas en 32 ríos (ver Anexo 1 y Figura 1, *Introducción General*) del macizo de Sierra Nevada. Además, se aportan datos antiguos procedentes de los muestreos realizados por M. González en varias localidades de Sierra Nevada en 1983 y 1987 y de identificaciones inéditas de material de colección correspondiente a varios estudios ecológicos sobre macroinvertebrados realizados en la Universidad de Granada, en torno a tesis doctorales, tesinas e informes científicos con localidades en Sierra Nevada (Alba-Tercedor *et al.*, 1986; Sáinz-Cantero, 1989; Zamora-Muñoz, 1992; Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1992b; Tierno de Figueroa, 1998; Jáimez-Cuéllar, 2004; Poquet, 2007), ampliando el número de localidades estudiadas en el macizo a 100 (ver Anexo 1 y Figura 1).

Las larvas y pupas de tricópteros se obtuvieron muestreando los distintos hábitats distinguibles en cada localidad de muestreo mediante redes de mano de 250-500 μ de luz de malla. El material se conservó en formol (4%) o alcohol (70%) para su identificación en el laboratorio. También se colectaron en el campo larvas y pupas que se llevaron al laboratorio para su cría y posterior emergencia hasta adulto. Además, se colectaron adultos en el campo, manguando la vegetación de ribera mediante una red entomológica o usando trampas de luz actínica y ultravioleta.

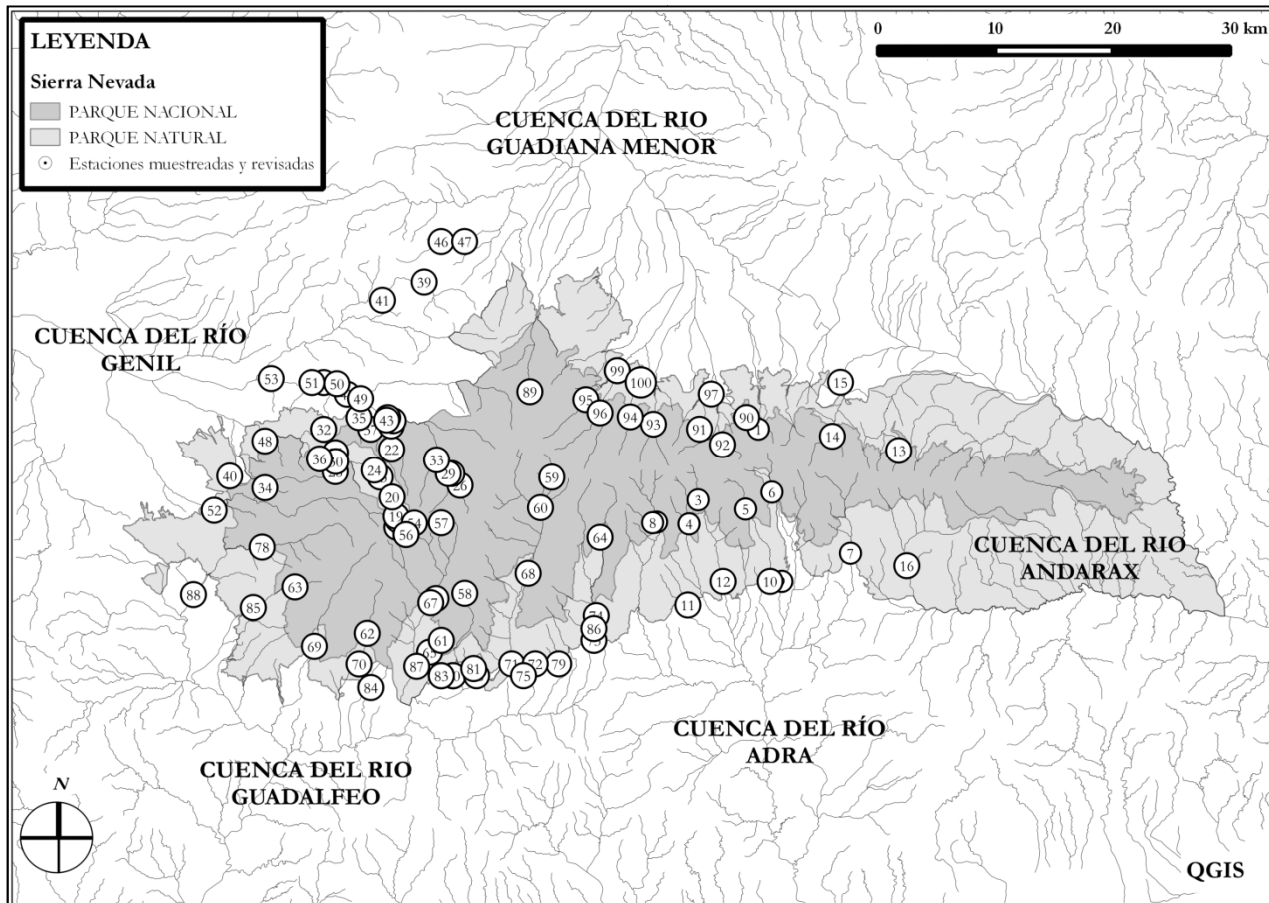


Figura 1. Localización de las estaciones de muestreo y de las estaciones incluidas en la revisión bibliográfica y del material de colección.

RESULTADOS

Listado comentado de especies

Se presenta el estado actual del conocimiento del orden Trichoptera en Sierra Nevada mediante un listado de especies comentado. Primero se incluye un apartado con los datos recopilados de la literatura (Datos bibliográficos) citando las localidades detalladas en los trabajos originales acompañadas de las referencias correspondientes. En el apartado de Datos nuevos, se aportan nuevas citas y capturas para Sierra Nevada tras la revisión del material antiguo y la identificación del material colectado durante los años 2008-2009. En el Anexo 3 del Bloque introductorio se muestra la localización de cada especie capturada durante los muestreos realizados en los años 2008-2009. Las estaciones de muestreo se señalan con códigos y su localización exacta se presenta en el Anexo 1 y en la Figura 1 de este capítulo. Para algunos trabajos citados en el apartado de Datos bibliográficos hemos incluido el mismo código utilizado en el Anexo 1 ya que coinciden con localidades muestreadas en otros trabajos inéditos o en los muestreos nuevos, para así facilitar su localización. Para cada especie, se indica el número de larvas (L), pupas (P) y adultos (m, machos; h, hembras). Además, para las pupas maduras y adultos, se señala el mes de colecta en números romanos. Se incluye también la distribución global de la especie en base a los trabajos de Bonada *et al.*, (2004, 2008) y de Graf *et al.* (2008). La Tabla 1 muestra información sobre las preferencias ecológicas de estas especies en base al trabajo de Graf *et al.* (2008), completado con los datos obtenidos en nuestro estudio (subrayada).

Familia RHYACOPHILIDAE Stephens, 1836

***Rhyacophila meridionalis* E. Pictet, 1865**

Datos bibliográficos: Laguna de las Yeguas y Valle del Lanjarón (Schmid, 1952), Capileira (González *et al.*, 1992), ríos Chico (GUA-9), Guadalfeo (GUA-21), Poqueira (GUA-14) y Trevélez (GUA-15) (Bonada *et al.*,

2004), arroyo Palancón (A-6) (Bonada *et al.*, 2004, 2008), ríos Mecina (A-2) y Nechite (A-3) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-1 (2L), A-2 (2Pm, VIII; 1Ph, VIII; 1m, V), A-3 (4L), A-6 (11L), A-8 (1L, 1Ph, VII), A-11 (1m, V), A-12 (1L), AX-2 (3L), AX-4 (1P), GEN-4 (1L), GEN-9 (1L), GEN-11 (2L), GEN-17 (1L), GEN-19 (2L), GEN-28 (1L), GEN-33 (1L), GUA-10 (2L), GUA-11 (5L), GM-1 (1L), GM-4 (4L), GM-6 (3L), GM-7 (3L), GM-8 (3L), GM-10 (1L).

Distribución: Sur de Europa.

***Rhyacophila munda* McLachlan, 1868**

Datos bibliográficos: Órgiva (Malicky, 1972), ríos Guadalfeo (GUA-21), Poqueira (GUA-14, GUA-34), Torrente (GUA-32) y Trevélez (GUA-15) (Bonada *et al.*, 2004), río Aguas Blancas (GEN-23) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-2 (1L), A-8 (1L), A-10 (7L), A-11 (9L), A-12 (21L), GEN-18 (2L), GEN-20 (1L, 1h, X), GEN-21 (1L), GEN-36 (1m, X), GUA-32 (24L), GM-4 (1L).

Distribución: Sur de Europa y norte de África.

***Rhyacophila nevada* Schmid, 1952**

Datos bibliográficos: Valle del Lanjarón (serie tipo) (Schmid, 1952), río Dílar (Palomares, 1982), ríos Genil, Maitena, Monachil, Dílar y Aguas Blancas (Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1992a), ríos Chico (GUA-9), Dúrcal (GUA-25, GUA-35), Guadalfeo (GUA-21), Poqueira (GUA-14, GUA-34) y Torrente (GUA-32) (Bonada *et al.*, 2004), río Trevélez (GUA-15) (Bonada *et al.*, 2004, 2008), ríos San Juan (GEN-22), Genil (GEN-27) y Poqueira (GUA-13) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-2 (7L; 1Ph, V), A-5 (1L), A-6 (9L; 2P), A-7 (21L), A-8 (10L), AX-1 (1L), AX-2 (3L), GEN-4 (1L; 1Pm, X); GEN-11 (3L) GEN-12 (1L), GEN-13(8L), GEN-17 (4L), GEN-20 (15L; 1m, IX; 1h, IX), GEN-22 (4m, VIII; 1m, IX; 1h, IX), GEN-25 (4L), GEN-26 (2L; 1Pm, VIII, 1Pm, IX; 9m, VIII; 6h, VIII; 1h, IX; 1h, X), GEN-27 (12L; 2Ph, VIII), GEN-32 (1Ph, VIII; 1m, IX), GEN-33 (14L; 1h, VII), GEN-36 (12L; 1m, IX; 1h, IX; 1h, X),

GUA-6 (1L), GUA-7 (4L), GUA-11 (3L), GUA-15 (3L), GUA-16 (3L), GUA-25 (3L; 1m, IX), GUA-32 (1L; 1h, VI), GM-3 (2L), GM-4 (6L), GM-5 (5L), GM-6 (1Pm, VII), GM-7 (3L; 1Ph, V; 1Ph, VII), GM-8 (1L).

Distribución: Endemismo ibérico.

Nota: es una especie endémica de la península ibérica que podemos encontrar en las cuencas del sur y sureste peninsular (Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1992a; Bonada *et al.*, 2004; 2008). Esta especie se describió con material capturado en Sierra Nevada (Schmid, 1952), de ahí su nombre. Malicky (2002, 2005) considera a *R. nevada* como una subespecie de *R. dorsalis*, pero nosotros coincidimos con Bonada *et al.* (2008) en que es una buena especie, perfectamente caracterizada por las particularidades morfológicas del adulto y de la larva, y por sus requerimientos ecológicos.

***Rhyacophila occidentalis* McLachlan, 1879**

Datos bibliográficos: Valle del Lanjarón (Schmid, 1952), ríos Genil y Dílar (Palomares, 1982), arroyo Palancón (A-6), ríos Chico (GUA-9), Poqueira (GUA-14) y Trevélez (GUA-15) (Bonada *et al.*, 2004), ríos San Juan (GEN-22), Genil (GEN-27), Chico (GUA-17) y Torrente (GUA-10) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: GEN-7 (1L), GEN-10 (4L; 1Ph, X) GEN- 11 (1L; 1P), GEN-12 (1L), GEN-13 (1L), GEN-17 (3L), GEN-19 (1L), GEN-22 (66m, VIII; 13h, VIII), GEN-25 (5L), GEN-26 (2L; 6P; 7m, VIII; 2h, VIII), GM-5 (2L), GM-6 (2L), GM-7 (2L), GM-8 (3L).

Distribución: Suroeste de Europa.

Familia GLOSSOSOMATIDAE Wallengren, 1891

***Glossosoma boltoni* Curtis, 1834**

Datos bibliográficos: Ríos San Juan (GEN-22) y Trevélez (GUA-15) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: AX-4 (2L; 1Ph, VIII; 1m, IX), GEN-13 (1L), GEN-26 (2L; 1P; 5m, VIII; 1h, IX), GEN-27 (1L; 1Pm, VI), GEN-33 (1L; 1Ph, VII), GUA-14 (1L; 1P), GM-7 (2L; 1P; 1Ph, VI), GM-8 (2L).

Distribución: Europa.

***Glossosoma privatum* McLachlan, 1884**

Datos bibliográficos: Ríos Genil y Dílar (Palomares, 1982).

Distribución: Endemismo ibérico.

Nota: Se trata de un endemismo ibérico con una amplia distribución por la mitad norte, lo que hace dudosa su presencia en Sierra Nevada ya que, además, hasta el momento sólo hemos podido confirmar la presencia de *G. boltoni*.

***Agapetus* sp.**

Datos nuevos: GEN-12 (1L), GEN-20 (1L).

Nota: No existen descripciones para todas las especies del género, por lo que estas larvas no han podido ser indentificadas específicamente.

***Agapetus fuscipes* Curtis, 1834**

Datos bibliográficos: Sierra Nevada (Navás, 1908, 1920), ríos Mecina (A-2) y Laroles (A-5) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-2 (1m, V), A-5 (7m, VI; 1h, VI), A-8 (2L), A10 (3L, 1Pm, VII); AX-1 (1Ph, VII; 1m, VII; 3h, VII), AX-4 (2L; 1Ph, VII), GEN-12 (1Pm, X), GEN-14 (3m, X; 1h, X), GEN-20 (1L; 1P; 1Pm, VII; 1Ph, VII; 2m, X; 1h, X), GEN-22 (5m, VIII; 1h, VIII), GUA-11 (2Ph, VII), GM-4 (1L), GM-8 (3L; 2P; 2m, VI; 1h, VI).

Distribución: Europa central y occidental.

Familia HYDROPTILIDAE Stephens, 1836

***Stactobia furcata* Mosely, 1930**

Datos bibliográficos: Valdeinfierno (Schmid, 1952).

Distribución: Sur de Europa.

Nota: Especie de amplia distribución en Europa sudoccidental. En Sierra Nevada sólo se conoce este dato pero, al corresponder a un ejemplar adulto, consideramos su presencia fiable.

***Oxyethira unidentata* Mclachlan, 1884**

Datos bibliográficos: Dúrcal (sub. *O. fuentejalona* Schmid, 1952) (Schmid, 1952).

Distribución: Mediterráneo y norte de África.

Nota: Esta especie no se ha vuelto a capturar en muestreos actuales, pero los datos corresponden a ejemplares adultos (Schmid, 1952), por lo tanto consideramos que la identificación es válida.

***Hydroptila* sp.**

Datos nuevos: A-3 (1L), A-7 (7L), GUA-14 (5L), GUA-15 (3L), GUA-21 (13L), GUA-25 (7L), GUA-32 (9L), GUA-34 (3L), GUA-35 (1L).

Nota: Debido a la dificultad que conlleva el reconocimiento de las larvas del género *Hydroptila* no hemos podido identificar el material a nivel de especie. Hasta el momento sólo se ha podido confirmar la presencia de *H. vectis* Curtis, 1834 en Sierra Nevada gracias a la captura de adultos y pupas.

***Hydroptila vectis* Curtis, 1834**

Datos bibliográficos: Güejar-Sierra, Dúrcal y Valle del Lanjarón (sub. *H. maclachlani* Klaplálek, 1891) (Schmid, 1952), río Poqueira (GUA-13) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: GEN-22 (14m, IX; 3h, IX).

Distribución: Suroeste de Asia, Europa y norte de África.

Familia PHILOPOTAMIDAE Stephens, 1829

***Philopotamus montanus* (Donovan, 1813)**

Datos bibliográficos: Valle del Lanjarón (1h, *Philopotamus* sp.) (Schmid, 1952), Ríos Chico (GUA-9), Guadalfeo (GUA-21) y Poqueira (GUA-14) (Bonada *et al.*, 2004), arroyo Palancón (A-6) (Bonada *et al.*, 2004, 2008), barranco de San Juan (GEN-22), ríos Nechite (A-3), Laroles (A-5), Válor (A-4) y Torrente (GUA-10) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-2 (7L), A-3 (4L), A-5 (12L; 1Pm, VI; 1m, VI), A-6 (1L), A-7 (2L), A-8 (5L), A-10 (22L), A-12 (2L), AX-1 (2L); AX-2 (9L), AX-4 (3L), GEN-9 (4L), GEN-12 (16L), GEN-13 (1L), GEN-14 (3m, X; 1h, X),

GEN-19 (3L), GEN-20 (12L), GEN-22 (3m, VIII), GEN-26 (1m, VIII; 5h, VIII), GEN-33 (7L), GUA-6 (1Pm, VI), GUA-9 (14L; 1Pm, VII; 1m, IV), GUA-11 (7L; 1P; 1Pm, V; 1Pm, VI; 2Ph, V; 3m, V; 2m, VI), GUA-12 (2L), GUA-26 (5L), GUA-29 (5L), GUA-30 (3L), GM-1 (6L), GM-3 (2L), GM-4 (41L; 1m, VIII), GM-6 (11L; 1P; 1m, VI), GM-7 (15L; 1Pm, VI), GM-9 (1L).

Distribución: Europa.

***Wormaldia occipitalis* (Pictet, 1834)**

Datos bibliográficos: Dúrcal (Schmid, 1952).

Datos nuevos: GEN-20 (3L; 1m, X), GEN-23 (1L), GEN-27 (3L).

Distribución: Centro y sur de Europa.

Nota: El reconocimiento de las larvas del género *Wormaldia* es realmente difícil, ya que la mayoría de las larvas de las especies presentes en la Península no están descritas. En Sierra Nevada sólo se ha citado *W. occipitalis* y la captura de un imago macho en el río Monachil hace pensar que las larvas capturadas en las otras localidades próximas pertenezcan a esta especie.

Familia HYDROPSYCHIDAE Curtis, 1835

***Hydropsyche iberomaroccana* González y Malicky, 1999**

Datos bibliográficos: Órgiva (González & Malicky, 1999; Malicky, 1999).

Distribución: Península ibérica y norte de África.

***Hydropsyche incognita* Pitsch, 1993**

Datos nuevos: GEN-13 (2L), GEN-26 (87L; 1P, III), GEN-33 (146L; 1P, VI; 1m, VIII), GUA-24 (4L), GUA-32 (2L), GUA-34 (1L).

Distribución: Centro y sur de Europa.

Nota: Malicky (1999) sugirió que los individuos identificados como *H. pellucidula* debían ser catalogados como *H. incognita*, ya que consideraba dudosa la presencia de la primera especie en la península ibérica. Sin embargo, en un estudio reciente, realizado con datos genéticos y morfológicos de material ibérico de especies de *Hydropsyche* del gr. *pellucidula*, se ha encontrado que *H.*

incognita sólo habita en ríos de zonas montañosas, entre ellas Sierra Nevada (Múrria *et al.*, 2010).

***Hydropsyche infernalis* Schmid, 1952**

Datos bibliográficos: Valdeinfierno (serie tipo) (Schmid, 1952), confluencia ríos Genil-San Juan (González & Botosaneanu, 1985), arroyo Palancón (A-6), ríos Dúrcal (GUA-25), Guadalfeo (GUA-21) y Poqueira (GUA-34) (Bonada *et al.*, 2004), ríos Aguas Blancas (GEN-23), Maitena (GEN-33), Laroles (A-5) y Válor (A-4) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-1 (2L), A-2 (9L), A-3 (60L; 1Pm, VI; 1Pm, VIII), A-4 (26L), A-5 (46L), A-6 (48L), A-7 (107L; 2P), A-8 (40L; 2Pm, VII, 1Ph VII), A-10 (88L), A-11 (38L), AX-1 (19L), AX-2 (12L), AX-4 (16L), GEN-9 (2L), GEN-12 (1L), GEN-14 (1Pm, X; 1m, X), GEN-15 (2L), GEN-18 (32L), GEN-19 (14L), GEN-21 (22L), GEN-26 (1m, VIII), GEN-28 (28L), GEN-29 (7L), GEN-30 (5L), GEN-31 (1L), GEN-32 (1L; 7m, IX; 1m, X; 1h, IX), GEN-33 (2L; 2Pm, VIII), GEN-34 (1m, IX), GEN-35 (33L), GUA-11 (12L), GUA-12 (5L), GUA-17 (10L), GUA-19 (14L), GUA-22 (4L), GUA-23 (9L), GUA-25 (1L), GUA-26 (21L), GUA-27 (2L), GUA-29 (4L), GUA-30 (10L), GUA-31 (2L), GM-3 (1L), GM-4 (62L; 1P), GM-9 (2L).

Distribución: Endemismo ibérico.

Nota: Especie endémica de la península ibérica. Fue descrita por Schmid (1952) con material recogido en el río Valdeinfierno.

***Hydropsyche instabilis* (Curtis, 1834)**

Datos bibliográficos: Navás (1911, 1920), Valdeinfierno (serie tipo, sub. *H. hiberna* Schmid, 1952) (Schmid, 1952), ríos Genil y Dílar (Palomares 1982), Canteras de San Juan, confluencias ríos Genil-San Juan y Los Cahorros (González & Botosaneanu, 1985), ríos Genil, Monachil, Maitena, Aguas Blancas, Dílar, Darro, Alhama y Válor (Zamora-Muñoz *et al.*, 1995), ríos Chico (GUA-9), Dúrcal (GUA-25, GUA-35), Guadalfeo (GUA-21), Poqueira (GUA-14, GUA-34) y Torrente (GUA-32) (Bonada *et al.*, 2004), arroyo Palancón (A-6) y río Trevélez (GUA-15) (Bonada *et al.*, 2004, 2008), ríos San Juan (GEN-

22), Genil (GEN-27), Mecina (A-2), Nechite (A-3), Laroles (A-5), Chico (GUA-17), Poqueira (GUA-13) y Torrente (GUA-10) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-2 (151L; 1P; 1Pm, VI), A-3 (92L), A-4 (32L), A-5 (145L), A-6 (199L), A-7 (31L), A-8 (89L), A-9 (9L), A-11 (29L), A-12 (51L; 1P; 1Pm, VI), AX-1 (1L), AX-2 (15L; 1Ph, IX), AX-3 (2L), AX-4 (6L; 2Pm, VII), GEN-10 (2L), GEN-11 (14L), GEN-12 (13L), GEN-13 (29L), GEN-17 (23L), GEN-20 (26L; 1P; 2m, VII; 1h, VII), GEN-22 (409m, VIII; 1m, IX), GEN-25 (17L), GEN-26 (100L; 6P; 2Pm, VIII; 2Ph, VIII; 208m, VIII; 3h, VIII), GEN-28 (39L; 1P), GEN-29 (1L), GEN-32 (153L; 10P; 1m, X), GEN-33 (107L; 4P, VI; 1Pm, VII; 1m, VII; 2h, VII), GEN-36 (144L; 3P; 1m, VII), GUA-7 (47L), GUA-11 (38L), GUA-14 (2P), GUA-15 (27L; 2P), GUA-16 (14L; 5P), GUA-18 (1L), GUA-20 (17L), GUA-21 (3P), GUA-24 (4L), GUA-25 (265L; 2m, VII), GUA-32 (154L), GUA-33 (10L), GUA-34 (98L), GUA-35 (66L; 5P; 1Ph, VII), GM-2 (1L), GM-4 (4L), GM-5 (54L), GM-6 (36L; 1h, VII), GM-7 (112L), GM-8 (62L; 2P), GM-9 (10L), GM-10 (3L), GM-11 (28L), GM-12 (12L).

Distribución: Europa.

***Hydropsyche pellucidula* (Curtis, 1834)**

Datos nuevos: GEN-26 (1m, VIII), GEN-27 (16L), GUA-32 (1L) GUA-29 (1L).

Distribución: Europa.

Nota: A pesar de que la presencia de esta especie en la península ibérica se catalogó como dudosa (Malicky 1999), en el estudio recientemente realizado y nombrado anteriormente con especies de *Hydropsyche* del gr. *pellucidula*, se obtuvo que *H. pellucidula* es la especie de este grupo más extendida y común en la Península (Múrria *et al.*, 2010). Se encontró también que habita preferentemente en tramos medios y bajos de ríos, siendo sustituida en las cabeceras de algunos sistemas montañosos por *H. incognita* (Múrria *et al.*, 2010), de ahí que las citas de esta especie en los tramos altos de los ríos San Juan y Genil (González *et al.*, 1992) muy probablemente correspondan a *H. incognita*,

especie morfológicamente muy similar (Pitsch, 1993; Malicky, 1999; Múrrria *et al.*, 2010).

***Hydropsyche tibialis* McLachlan, 1884**

Datos bibliográficos: Ríos Chico (GUA-9) y Poqueira (GUA-14) (Bonada *et al.*, 2004), río Nechite (A-3) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-1 (2L), A-4 (8L; 1m, VI), A-5 (2m, V; 3h, V), A-6 (1L), AX-2 (2L), GEN-21 (6L), GEN-33 (3L), GEN-36 (1L), GUA-11 (4L; 2m, V; 2m, VI; 1h, VI), GM-1 (20L), GM-3 (4L), GM-4 (5L), GM-6 (10L), GM-7 (6L), GM-8 (8L), GM-10 (5L).

Distribución: Endemismo ibérico.

Familia POLYCENTROPODIDAE Ulmer, 1903

***Plectrocnemia conspersa* (Curtis, 1834)**

Datos nuevos: A-3 (3L), A-4 (2L), A-5 (10L), A-6 (3L), AX-1 (13L; 1Pm, IX), AX-2 (1L), GEN-3 (14L), GEN-20 (3L), GEN-23 (2L), GUA-6 (2L), GUA-9 (1L; 1Ph, VII), GUA-10 (2L), GUA-11 (1L), GM-4 (3L).

Distribución: Europa

Nota: Debido a la dificultad para identificar las larvas de este género (Vieira-Lanero, 2000) no podemos confirmar la presencia de esta especie en más localidades. Hasta el momento, en Sierra Nevada sólo se había citado *P. geniculata* (ssp. *almoravida* Malicky, 1986) como especie perteneciente a este género.

***Plectrocnemia geniculata* McLachlan, 1871**

Datos bibliográficos: Juviles (ssp. *almoravida*, paratipo) (Malicky, 1986).

Datos nuevos: A-5 (8L), A-10 (6L), GEN-5 (4L), GEN-22 (2m, VIII), GEN-26 (1h, VIII).

Distribución: Centro y sur de Europa y norte de África.

Nota: *P. geniculata* ssp. *almoravida* es un endemismo ibérico presente en Sierra Nevada y en Sierra del Segura (Malicky, 1986).

***Polycentropus kingi* McLachlan, 1881**

Datos bibliográficos: Río Guadalfeo (GUA-21) (Bonada *et al.*, 2004), río Laroles (A-5) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-2 (2L; 1P, VII), A-3 (1Pm, VII), A-5 (13L), A-6 (3L), A-7 (1L), A-8 (3L), A-12 (1L), AX-4 (4L), GEN-25 (6L), GEN-27 (3L), GEN-28 (1L), GUA-19 (2L), GUA-22 (1L), GUA-24 (2L), GUA-26 (5L), GM-3 (3L), GM-11 (6L), GM-12 (2L).

Distribución: Europa y norte de África.

Familia PSYCHOMYIIDAE Curtis, 1835

***Tinodes assimilis* McLachlan, 1865**

Datos bibliográficos: Valdeinfierno, Dúrcal y Valle del Dílar (Schmid, 1952), río Chico (GUA-9) (Bonada *et al.*, 2004), río Laroles (A-5) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-4 (1m, VI), A-7 (3L), AX-4 (3L), GEN-20 (5L), GEN-22 (1m, VIII), GEN-23 (5L), GEN-34 (2m, IX; 1h, IX), GEN-37 (1m, IX; 1h, IX), GUA-7 (1Ph, VI).

Distribución: Europa occidental.

Familia BRACHYCENTRIDAE Ulmer, 1903

***Brachycentrus maculatum* (Fourcroy, 1785)**

Datos nuevos: A-8 (1m, VI), A-11 (1m, V), GEN-22 (1m, IX), GUA-35 (2L; 1P).

Distribución: Asia y Europa.

Nota: Especie citada por primera vez en Sierra Nevada. Aunque la identificación larvaria puede dar lugar a dudas, la captura de adultos confirma su presencia en dichas localidades.

***Micrasema longulum* McLachlan, 1876**

Datos bibliográficos: Valle del Naute (serie tipo) (Schmid, 1952), Sierra Nevada (Botosaneanu 1974), ríos Genil y Dílar (Palomares, 1982), arroyo Palancón (A-6), ríos Chico (GUA-9), Dúrcal (GUA-25), Guadalfeo

(GUA-21) y Trevélez (GUA-15) (Bonada *et al.*, 2004), ríos San Juan (GEN-22), Genil (GEN-27), Mecina (A-2), Nechite (A-3) y Poqueira (GUA-13) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-2 (5L; 2P; 3m, V), A-3 (1L; 1P), A-4 (1L), A-5 (1L), A-6 (1L; 1m, VI), GEN-10 (3L), GEN-11 (8L), GEN-12 (1L), GEN-13 (15L), GEN-17 (16L), GEN-22 (6m, VIII), GEN-26 (2L), GEN-27 (4L), GUA-6 (1P), GUA-10 (2L), GUA-16 (4L), GM-7 (5L), GM-12 (1L).

Distribución: Centro y sur de Europa.

Nota: Tras la revisión del material tipo determinado como *M. gabusi* Schmid, 1952 se consideró que esta especie es una sinonimia de *M. longulum* (Botosaneanu & González, 2006).

***Micrasema minimum* McLachlan, 1876**

Datos nuevos: GEN-21 (4L).

Distribución: Sur de Europa.

Nota: Especie citada por primera vez en Sierra Nevada. En la península ibérica las localidades más al sur en las que se había colectado esta especie correspondían a la cuenca del río Segura (Bonada *et al.*, 2004).

***Micrasema moestum* (Hagen, 1868)**

Datos bibliográficos: Ríos Chico (GUA-9), Dúrcal (GUA-25, GUA-35), Guadalfeo (GUA-21) y Poqueira (GUA-14, GUA-34) (Bonada *et al.*, 2004), arroyo Palancón (A-6) y río Trevélez (GUA-15) (Bonada *et al.*, 2004, 2008), ríos San Juan (GEN-22), Mecina (A-2), Nechite (A-3), Laroles (A-5), Valor (A-4), Poqueira (GUA-13) y Torrente (GUA-10) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-2 (38L; 1m, VIII), A-3 (9L; 1P), A-4 (3L; 6m, VI; 1h, VI), A-5 (24L), A-6 (24L), AX-1 (15L), AX-2 (13L), AX-4 (2L), GEN-10 (5L), GEN-12 (12L), GEN-13 (5L), GEN-14 (1m, X), GEN-17 (1L), GEN-18 (3L), GEN-19 (1L), GEN-20 (14L), GEN-22 (45m, VIII), GEN-26 (2L; 1P; 49m, VIII; 5h, VIII), GEN-27 (19L), GEN-33 (17L), GEN-36 (2L), GUA-5 (1L), GUA-11 (26L; 1Ph, VIII), GUA-19 (1L), GUA-20 (4L), GUA-25 (16L), GUA-28 (1m, VIII), GM-1 (65L; 1Pm, VII; 5Ph, VII), GM-3 (4L), GM-4 (11L),

GM-5 (4L), GM-7 (16L).

Distribución: Sur de Europa y norte de África.

Familia LEPIDOSTOMATIDAE Ulmer, 1903

***Lepidostoma basale* (Kolenati, 1848)**

Datos bibliográficos: Sierra Nevada (Navás, 1908, 1920), ríos Genil y Dilar (Palomares, 1982), arroyo Palancón (A-6), ríos Chico (GUA-9), Dúrcal (GUA-25, GUA-35), Guadalfeo (GUA-21) y Poqueira (GUA-14, GUA-34) (Bonada *et al.*, 2004), río Trevélez (GUA-15) (Bonada *et al.*, 2004, 2008), ríos San Juan (GEN-22), Aguas Blancas (GEN-23), Genil (GEN-27), Laroles (A-5), Chico (GUA-17), Poqueira (GUA-13) y Torrente (GUA-10) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-9 (1L), AX-2 (41L; 1m, VII; 1h, VII), AX-4 (1h, IX), GEN-10 (1L), GEN-12 (9L), GEN-13 (2L), GEN-17 (4L), GEN-18 (4L), GEN-20 (22L; 1Pm, VIII), GEN-21 (4L), GEN-22 (11m, VIII; 8h, VIII), GEN-26 (12L; 9m, VIII; 2h, VIII), GEN-27 (6L), GEN-36 (10L; 1m, VII; 3h, VII), GUA-9 (1P), GUA-11 (17L; 1Pm, VIII), GUA-16 (23L), GUA-17 (2L), GUA-24 (1L), GUA-25 (12L), GUA-32 (64L; 23P; 1m, V; 2m, VII; 2h, VII), GM-6 (1L), GM-7 (15L), GM-8 (8L), GM-9 (3L), GM-10 (5L), GM-11 (13L).

Distribución: Europa excepto Escandinavia.

***Lepidostoma hirtum* (Fabricius, 1775)**

Datos bibliográficos: Río Aguas Blancas (GEN-23) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: GEN-23 (7L), GEN-25 (1L).

Distribución: Europa.

Familia LIMNEPHILIDAE Kolenati, 1848

***Anomalopterygella chauviniana* (Stein, 1874)**

Datos bibliográficos: Laguna de las Yeguas, Valle del Naute y Valle del Lanjarón (sub. *Anomalopteryx alacerrimus* Schmid, 1952) (Schmid, 1952), arroyo

Palancón (A-6), río Chico (GUA-9) (Bonada *et al.*, 2004), río Trevélez (GUA-15) (Bonada *et al.*, 2004, 2008), ríos San Juan (GEN-22), Mecina (A-2), Nechite (A-3) y Chico (GUA-17) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-2 (14L), A-3 (5L), A-5 (8L), A-6 (21L), AX-2 (17L), GEN-1 (1L), GEN-4 (17L; 1m, IX), GEN-5 (13L), GEN-6 (11m, VIII; 5h, VIII), GEN-10 (7L), GEN-11 (11L), GEN-13 (12L), GEN-17 (14L), GEN-26 (9L), GEN-27 (15L), GEN-33 (14L; 1m, VIII; 1h, VIII), GUA-6 (4L), GUA-7 (7L), GUA-11 (7L), GUA-15 (8L), GM-1 (17L), GM-4 (26L), GM-5 (18L), GM-6 (3L), GM-7 (28L), GM-8 (47L), GM-9 (4L).

Distribución: Sur de Europa.

***Limnephilus obsoletus* Rambur, 1842**

Datos bibliográficos: Laguna de las Yeguas (sub. *L. acrophylax* Schmid, 1952) (Schmid, 1952).

Datos nuevos: GEN-3 (9L; 2P; 2m, VII; 3h, VII), GEN-4 (5L), GEN-5 (3L).

Distribución: Endemismo nevadense.

Nota: Tiene una distribución restringida a la vertiente norte o atlántica de Sierra Nevada ya que se considera de dudosa validez la cita de esta especie en la provincia de Madrid recogida en la lista faunística de González *et al.* (1992).

***Potamophylax latipennis* (Curtis, 1834)**

Datos bibliográficos: Laguna de las Yeguas y Valle del Lanjarón [sub. *Stenophylax stellatus* (Curtis, 1834)] (Schmid, 1952), ríos Chico (GUA-9), Poqueira (GUA-14) y Trevélez (GUA-15) (Bonada *et al.*, 2004), arroyo Palancón (A-6) (Bonada *et al.*, 2004, 2008), ríos San Juan (GEN-22), Genil (GEN-27), Mecina (A-2), Nechite (A-3), Laroles (A-5) y Torrente (GUA-10) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-2 (2L; 1Pm, VIII; 2Ph, VIII, 2m, VIII), A-3 (1P), A-6 (5L; 6P; 1Ph, VIII), AX-2 (1L; 1P; 2Pm, VIII; 4m, VIII; 1h; VIII), GEN-4 (5L; 1Pm, VI; 2Ph, VI; 1m, VII; 3m, IX, 1h, VII), GEN-10 (1L), GEN-22

(7m, VIII; 1h, VIII), GEN-26 (1m, VIII), GUA-29 (2L; 1h, IX), GUA-11 (1L; 2m, VIII), GM-4 (6L; 2h, VIII), GM-5 (2L), GM-6 (1L), GM-7 (2L), GM-8 (4L), GM-10 (4L), GM-11 (1L).

Distribución: Siberia y Europa.

***Halesus tessellatus* Rambur, 1842**

Datos bibliográficos: Río Válor (Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1995), ríos Chico (GUA-9), Guadalfeo (GUA-21) y Poqueira (GUA-14, GUA-34) (Bonada *et al.*, 2004), arroyo Palancón (A-6) y río Trevélez (GUA-15) (Bonada *et al.*, 2004, 2008), ríos Mecina (A-2), Nechite (A-3), Laroles (A-5), Válor (A-4), Chico (GUA-17) y Poqueira (GUA-13) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-1 (2L), A-2 (8L; 1P), A-3 (10L; 1m, IX), A-6 (16L), A-7 (2L), AX-2 (21L), AX-4 (2L), GEN-3 (1L), GEN-10 (6L), GEN-11 (1L), GEN-13 (9L), GEN-17 (6L; 2P), GEN-26 (2L), GEN-27 (4L), GEN-33 (2L), GUA-7 (4L), GUA-15 (2L), GUA-16 (2L), GUA-20 (1L), GM-2 (3L), GM-4 (29L; 1P), GM-5 (15L), GM-6 (52L; 1P), GM-7 (22L; 1h, VIII), GM-8 (32L; 2P), GM-9 (5L), GM-11 (1L).

Distribución: Europa y Siberia.

***Stenophylax crossotus* McLachlan, 1884**

Datos nuevos: GEN-24 (7L).

Distribución: Mediterráneo y Europa occidental.

Nota: Especie citada por primera vez en Sierra Nevada. Debido a la dificultad de la identificación larvaria de las especies pertenecientes al género *Stenophylax*, y a pesar de que la larva de *S. crossotus* ha sido descrita recientemente (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007), consideramos necesaria la captura de adultos para confirmar su presencia en el macizo.

***Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875)**

Datos nuevos: GEN-1 (3L; 2P; 3m, IX; 2h, IX), GEN-3 (3L; 1m, IX), GEN-5 (16L; 9P; 1Pm, VIII; 3Ph, VIII; 6m, VII; 1m, VIII; 5h, VII), GUA-1 (2Pm, X), GUA-2 (3L; 1P; 5h, VII), GUA-3 (2L), GUA-4 (10L).

Distribución: Centro y sur de Europa y norte de África.

Nota: La preferencia altitudinal de esta especie en Sierra Nevada se puede considerar alpina (2.400-2.900 m) y subnival (2.900-3.100 m) aunque en el resto de Europa se distribuye por debajo de los 1.000 m, desde planar (>300 m) hasta submontano (800-1.000 m) (Graf *et al.* 2008; Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz, 2012) (Tabla 1).

***Stenophylax permistus* McLachlan, 1895**

Datos nuevos: GEN-19 (1L).

Distribución: Asia y Europa.

Nota: Especie citada por primera vez en Sierra Nevada. La identificación del género *Stenophylax* a nivel larvario es todavía difícil ya que las larvas de algunas especies ibéricas son desconocidas (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007). Mediante los trabajos de Vieira-Lanero (2000), Ruiz-García & Ferreras-Romero (2007) y Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz (2012) se pueden diferenciar las larvas de *S. permistus* del resto de larvas descritas. Sin embargo, sería necesaria la captura de ejemplares adultos o pupas maduras para confirmar la presencia de esta especie en Sierra Nevada.

***Mesophylax aspersus* (Rambur, 1842)**

Datos bibliográficos: Río Guadalfeo (GUA-20) (Bonada *et al.*, 2004).

Datos nuevos: AX-3 (1L).

Distribución: Europa occidental, región mediterránea y Asia sudoccidental.

***Allogamus mortoni* (Navás, 1907)**

Datos nuevos: AX-4 (16L), GEN-26 (37L), GEN-27 (51L; 1h, IX), GEN-33 (58L; 1P), GM-7 (4L), GM-8 (11L), GM-10 (7L).

Distribución: Endemismo ibérico.

Nota: Se cita por primera vez esta especie en Sierra Nevada. Presenta una amplia distribución en el macizo, localizándose en ríos que drenan en ambas vertientes.

***Annitella* sp.**

Datos nuevos: A-5 (12L), A-6 (5L), AX-1 (1L), GEN-3 (6L), GEN-4

(1L), GEN-5 (15L), GEN-17 (7L), GEN-20 (2L), GUA-15 (3L), GM-1 (26L), GM-9 (2L), GM-11 (3L).

Nota: Las larvas de los géneros *Chaetopteryx* y *Annitella* son muy semejantes y muy poco conocidas, lo que las hace difíciles de identificar. Hasta el momento, en Sierra Nevada sólo se han citado *A. esparraguera* y *A. iglesiasi* por lo que los individuos encontrados en otras localidades del macizo podrían corresponder a estas especies. Además, las larvas de estadio III y estadios inferiores de *Halesus* se pueden confundir con las de los géneros mencionados (Vieira-Lanero, 2000), por lo que, por el momento, no podemos confirmar a qué especie corresponden estos ejemplares.

***Annitella esparraguera* Schmid, 1952**

Datos bibliográficos: Laguna de las Yeguas y Valle del Lanjarón (serie tipo) (Schmid, 1952).

Datos nuevos: GEN-4 (1m, VIII; 1h, VIII), GM-4 (1m, X).

Distribución: Endemismo ibérico.

Nota: Especie endémica que se distribuye por el sureste peninsular (Sierra Nevada, Sierra de Cazorla y Sierra de Baza) (Sipahiler, 1998; Bonada *et al.*, 2008). Esta es la primera vez que se cita en el macizo desde su descripción, aunque parece tener una amplia distribución en Sierra Nevada (Zamora-Muñoz *et al.* 2012).

***Annitella iglesiasi* González y Malicky, 1988**

Datos bibliográficos: Barranco de Don Manuel (Holotipo) (González & Malicky, 1988).

Datos nuevos: A-5 (1m, X; 1h, X; 1m, XI; 1h, XI), GEN-12 (2m, X; 1h, X), GEN-14 (1m, X), GM-4 (10m, X; 2h, X).

Distribución: Endemismo nevadense.

Nota: Está emparentada con *Annitella obscurata* McLachlan 1876, una especie de distribución eurosiberiana. Es la primera vez que se cita desde su descripción, por lo que se había catalogado a esta especie con datos insuficientes (DD) en el Libro Rojo de Invertebrados de Andalucía (Barea-

Azcón *et al.*, 2008). Hasta el momento sólo se conocía el holotipo, que era un ejemplar braquíptero (González & Malicky, 1988). Según el material aparecido en las nuevas localidades existe variabilidad en este carácter, con ejemplares braquípteros, como el holotipo, y otros que no lo son. Además de en la localidad tipo, situada en la vertiente norte de Sierra Nevada, esta especie se distribuye también en la vertiente sur (Zamora-Muñoz *et al.*, 2012).

Familia LEPTOCERIDAE Leach, 1815

***Athripsodes* sp.**

Datos nuevos: A-6 (2L), AX-2 (5L), GEN-10 (4L), GEN-11 (3L), GEN-17 (10L), GEN-20 (2L), GEN-22 (2L), GEN-23 (1L), GEN-27 (1L), GEN-36 (1L), GUA-7 (5L), GUA-9 (6L), GUA-13 (13L), GUA-14 (11L), GUA-15 (8L), GUA-16 (9L), GUA-25 (68L), GUA-32 (6L), GUA-35 (19L), GM-5 (1L), GM-6 (1L), GM-7 (4L), GM-8 (3L).

Nota: El género *Athripsodes* incluye varias especies distribuidas en el sur peninsular cuyas larvas permanecen sin describir. En Sierra Nevada sólo se han capturado adultos de *A. albifrons* (ver a continuación), sin embargo, las larvas citadas en este apartado no corresponden con dicha especie, cuya larva sí está descrita. De las especies con larvas descritas se asemejarían a *A. tavaresi*, sin embargo esta especie sólo se ha citado en el cuadrante noroccidental. Sería necesaria la captura de adultos o pupas maduras para confirmar de qué especie se trata.

***Athripsodes albifrons* (Linnaeus, 1758)**

Datos bibliográficos: Río Chico (GUA-9) (Bonada *et al.*, 2004).

Datos nuevos: AX-1 (1L), GEN-18 (1L), GEN-22 (21m, VIII; 3m, IX; 23h, VIII), GEN-26 (21L, 24h, VIII), GEN-27 (4L), GEN-36 (2L), GM-7 (2L).

Distribución: Europa.

***Adicella reducta* (McLachlan, 1865)**

Datos bibliográficos: Dúrcal (Schmid, 1952), ríos Chico (GUA-9) y

Poqueira (GUA-14) (Bonada *et al.*, 2004), ríos Aguas Blancas (GEN-23), Válor (A-4) y Chico (GUA-17) (Bonada *et al.*, 2008).

Datos nuevos: A-1 (1L), A-2 (3L), A-7 (5L), A-8 (2L), A-10 (1L), AX-4 (2L), GEN-20 (3L; 1P), GEN-22 (1m, VIII), GEN-26 (2m, VIII), GEN-27 (5L), GEN-34 (2m, IX; 2h, IX), GEN-37 (2m, IX), GUA-10 (2L), GUA-11 (6m, V), GUA-12 (1L), GUA-34 (1L), GM-5 (2L), GM-7 (4L), GM-9 (1L), GM-10 (1L).

Distribución: Europa.

Familia SERICOSTOMATIDAE Stephens, 1836

***Sericostoma vittatum* Rambur, 1842**

Datos bibliográficos: Barranco de los Tejos (GEN-19) (Tierno de Figueroa, 2000), arroyo Palancón (A-6) (Bonada *et al.*, 2004).

Datos nuevos: A-2 (1L), A-3 (4L), A-4 (1L), A-5 (3L; 1P), A-6 (31L; 1P; 1m, VII; 2h, VII), A-7 (1L; 1P), A-8 (5L), A-10 (2L), A-12 (1L), AX-2 (8L), AX-4 (1L), GEN-1 (1L; 4P), GEN-9 (7L), GEN-12 (7L), GEN-15 (1L), GEN-16 (13L), GEN-19 (10L), GEN-20 (22L), GEN-22 (1m, VIII), GEN-23 (11L), GEN-33 (2L), GUA-5 (19L), GUA-7 (1L), GUA-8 (5L), GUA-9 (10L), GUA-10 (3L), GUA-11 (20L; 1Pm, VIII; 1h, V), GUA-12 (12L), GUA-13 (1L), GUA-14 (2L), GUA-15 (1L), GUA-16 (1L), GUA-21 (17L), GUA-25 (2L), GUA-19 (10L), GUA-20 (4L), GUA-22 (1L), GUA-26 (13L), GUA-27 (11L), GUA-33 (8L), GM-1 (11L), GM-3 (1L), GM-4 (32L; 2h, VI; 3Ph, VI), GM-5 (2L), GM-7 (11L), GM-10 (5L).

Distribución: Endemismo ibérico.

Nota: Botosaneanu & Malicky, 1978 la consideran sinónima de *Sericostoma baeticum* E. Pictet, 1856 pero, a día de hoy, los caracteres distintivos de las diferentes especies que integran la familia Sericostomatidae presentes en España no permiten una identificación exacta. Por otro lado, las larvas del género *Sericostoma* son difíciles de identificar a nivel de especie. Sin embargo, *S. vittatum* es la única especie citada hasta el momento en la provincia de Granada

y las capturas de imagos y pupas maduras en diferentes localidades de Sierra Nevada hacen pensar que las larvas colectadas pertenezcan a esta especie.

Tabla 1. Preferencias ecológicas de las especies de tricópteros presentes en Sierra Nevada (1: zona fluvial, 2: altitud, 3: microhábitat o preferencia de sustrato, 4: velocidad de corriente, 5: temperatura y 6: período de emergencia). La información procede de nuestros datos y de Graf *et al.* (2008). La información aportada exclusivamente por nuestros datos aparece subrayada. Ver la explicación detallada de la terminología usada al pie de tabla.

	1	2	3	4	5	6
<i>Rhyacophila meridionalis</i> E. Pictet, 1865	De Hypocrenon a Metarhithron	De Subnival a Colino	Cantos y guijarros Rocas y bloques	Reobionte	Templada-Fría	Invierno Primavera Verano Otoño
<i>Rhyacophila munda</i> McLachlan, 1868	De Epirhithron a Hyporhithron	<u>De Alpino a Montano</u>	Cantos y guijarros Rocas y bloques	Reobionte	<u>Templada-Fría</u>	Invierno Primavera Verano Otoño
<i>Rhyacophila nevada</i> Schmid, 1952	<u>De Hypocrenon a Metarhithron</u>	<u>De Subalpino a Montano</u>	<u>Cantos y guijarros Rocas y bloques</u>	<u>Reobionte</u>	<u>Templada-Fría</u>	<u>Invierno Primavera Verano Otoño</u>
<i>Rhyacophila occidentalis</i> McLachlan, 1879	De Epirhithron a Hyporhithron	De Subalpino a Colino	Cantos y guijarros Rocas y bloques	Reófilo	<u>Templada-Fría</u>	Invierno Verano Otoño
<i>Glossosoma boltoni</i> Curtis, 1834	De Metarhithron a Epipotamon	De Submontano a Colino	Cantos y guijarros Rocas y bloques	Reófilo	Templada	Primavera Verano Otoño
<i>Glossosoma privatum</i> McLachlan, 1884	De Epirhithron a Hyporhithron	De Montano a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques	Reófilo	<u>Templada</u>	Invierno Primavera Verano Otoño
<i>Agapetus fuscipes</i> Curtis, 1834	De Crenon a Epirhithron	De Submontano a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques	Reófilo	Templada	Primavera Verano Otoño
<i>Stactobia furcata</i> Mosely, 1930	De Crenon a Hypocrenon	Colino	Hábitat Higropétrico	Reobionte	<u>Fría</u>	Primavera Verano Otoño
<i>Oxyethira unidentata</i> McLachlan, 1884	De Epirhithron a Hyporhithron					
<i>Hydroptila vectis</i> Curtis, 1834	De Epirhithron a Metapotamon	De Montano a Planar	Algas	Reófilo	<u>Fría</u>	Invierno Primavera Verano Otoño

Tabla 1 - Continuación

	1	2	3	4	5	6
<i>Philopotamus montanus</i> (Donovan, 1813)	De Hypocrenon a Metarhithron	De Subalpino a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques	Limno- a reófilo	<u>Templada</u>	Invierno Primavera Verano Otoño
<i>Wormaldia occipitalis</i> (Pictet, 1834)	De Crenon a Hypocrenon	De Montano a Colino	Cantos y guijarros Rocas y bloques	Reo- a limnófilo	<u>Templada-Fría</u>	Primavera Verano Otoño
<i>Hydropsyche iberomaroccana</i> González y Malicky, 1993	De Epirhithron a Metarhithron	De Subnival a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques Macrófitos Hojarasca	Reófilo	<u>Euritérmica</u>	Primavera Verano Otoño
<i>Hydropsyche incognita</i> Pitsch, 1993	De Metarhithron a Epipotamon	De Submontano a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques Macrófitos Hojarasca	Reófilo	<u>Euritérmica</u>	Primavera Verano Otoño
<i>Hydropsyche infernalis</i> Schmid, 1952	De Crenon a Metarhithron	<u>De Subalpino a Submontano</u>	Cantos y guijarros Rocas y bloques Macrófitos Hojarasca	Reófilo	<u>Euritérmica</u>	<u>Primavera Verano Otoño</u>
<i>Hydropsyche instabilis</i> (Curtis, 1834)	<u>De Hypocrenon a Metarhithron</u>	De Montano a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques Macrófitos Hojarasca	Reófilo	<u>Euritérmica</u>	Primavera Verano Otoño
<i>Hydropsyche pellucidula</i> (Curtis, 1834)	De Epirhithron a Epipotamon	De Montano a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques Macrófitos Hojarasca	Reófilo	Caliente-Fría	Primavera Verano Otoño
<i>Hydropsyche tibialis</i> McLachlan, 1884	De Epirhithron a Hyporhithron	De Montano a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques Macrófitos Hojarasca	Reófilo	<u>Templada-Fría</u>	Primavera
<i>Plectrocnemia conspersa</i> (Curtis, 1834)	De Crenon a Hyporhithron	De Subnival a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques Macrófitos Hojarasca	Limno- a reófilo	<u>Euritérmica</u>	Primavera Verano Otoño

Tabla 1 - *Continuación*

	1	2	3	4	5	6
<i>Plectrocnemia cf. geniculata</i> McLachlan, 1871	De Crenon a Epirhithron	De Subalpino a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques Macrófitos MOP Hojarasca	Limno- a reófilo	<u>Templada-Fría</u>	Verano
<i>Polycentropus kingi</i> McLachlan, 1881	De Epirhithron a Epipotamon	De Subalpino a Planar	Cantos y guijarros	Limno- a reófilo	<u>Templada-Fría</u>	Primavera Verano Otoño
<i>Tinodes assimilis</i> McLachlan, 1865	De Hypocrenon a Epipotamon	De Montano a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques	Reófilo	<u>Templada-Fría</u>	Primavera Verano Otoño
<i>Brachycentrus maculatum</i> (Fourcroy, 1785)	De Metarhithron a Hyporhithron	De Submontano a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques Hojarasca	Reobionte	<u>Templada-Fría</u>	Verano Otoño
<i>Micrasema gabusi</i> Schmid, 1952						
<i>Micrasema longulum</i> McLachlan, 1876	De Epirhithron a Metarhithron	De Montano a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques Macrófitos	Reobionte	<u>Templada-Fría</u>	Primavera Verano Otoño
<i>Micrasema cf. minimum</i> McLachlan, 1876	De Epirhithron a Hyporhithron	De Subalpino a Colino	Cantos y guijarros Rocas y bloques Macrófitos	Reobionte	<u>Templada</u>	Primavera Verano
<i>Micrasema moestum</i> (Hagen, 1868)	De Metarhithron a Hyporhithron	De Montano a Planar	<u>Cantos y guijarros</u> <u>Rocas y bloques</u> <u>Macrófitos</u>	Reobionte	<u>Templada-Fría</u>	Primavera Verano Otoño
<i>Lepidostoma basale</i> (Kolenati, 1848)	De Metarhithron a Hyporhithron	De Montano a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques MOP Hojarasca	Reo- a limnófilo	<u>Templada-Fría</u>	Primavera Verano Otoño
<i>Lepidostoma hirtum</i> (Fabricius, 1775)	De Metarhithron a Hyporhithron	De Montano a Planar	Cantos y guijarros Rocas y bloques MOP Hojarasca	Limno- a reófilo	<u>Templada-Fría</u>	Primavera Verano Otoño

Tabla 1 - Continuación

	1	2	3	4	5	6
<i>Anomalopterygella chauviniana</i> (Stein, 1874)	De Epirhithron a Hyporhithron	De Montano a Submontano	Cantos y guijarros Rocas y bloques	Reófilo	<u>Caliente-Fría</u>	Verano Otoño
<i>Limnephilus obsoletus</i> Rambur, 1842	De Crenon a Epirhithron	<u>Alpino</u>	<u>Cantos y guijarros Hojarasca</u>	<u>Reófilo</u>	<u>Templada-Fría</u>	<u>Verano Otoño</u>
<i>Potamophylax latipennis</i> (Curtis, 1834)	De Hypocrenon a Metapotamon y Litoral	De Subnival a Colino	Cantos y guijarros Rocas y bloques MOP	Reo- a limnófilo	<u>Caliente-Fría</u>	Verano Otoño
<i>Halesus tessellatus</i> Rambur, 1842	De Metarhithron a Epipotamon	De Montano a Planar	MOP Hojarasca	Limno- a reófilo	Euritérmica	Verano Otoño
<i>Stenophylax crossotus</i> McLachlan, 1884	De Epirhithron a Hyporhithron	<u>Montano</u>	<u>Cantos y guijarros Rocas y bloques</u>	<u>Reo- a limnófilo</u>	<u>Templada</u>	<u>Primavera Verano Otoño</u>
<i>Stenophylax nycterobius</i> (McLachlan, 1875)	De Crenon a Epirhithron	De Subalpino a Planar <u>De Subnival a Alpino</u>	<u>Cantos y guijarros Rocas y bloques</u>	Reo- a limnófilo	<u>Templada-Fría</u>	<u>Primavera Verano Otoño</u>
<i>Stenophylax cf. permistus</i> McLachlan, 1895	De Hypocrenon a Metarhithron	De Subalpino a Colino	<u>Cantos y guijarros Rocas y bloques</u>	Reo- a limnófilo	<u>Templada</u>	Primavera Verano Otoño
<i>Mesophylax aspersus</i> (Rambur, 1842)	De Metarhithron a Epipotamon	De Submontano a Planar	Grava Cantos y guijarros Rocas y bloques Algas	Reo- a limnófilo	<u>Caliente-Fría</u>	Invierno Primavera Verano Otoño
<i>Allogamus mortoni</i> (Navás, 1907)	De Crenon a Epirhithron	<u>Montano</u>	<u>Cantos y guijarros Rocas y bloques</u>	Reófilo	<u>Templada-Fría</u>	<u>Otoño</u>
<i>Annitella esparraguera</i> Schmid, 1952	De Crenon a Epirhithron	<u>De Alpino a Montano</u>	<u>Cantos y guijarros Rocas y bloques Macrófitos</u>	Reófilo	<u>Fría</u>	<u>Verano Otoño</u>
<i>Annitella iglesiasi</i> González y Malicky, 1988	De Crenon a Epirhithron	<u>De Alpino a Montano</u>	<u>Cantos y guijarros Rocas y bloques Macrófitos</u>	Reófilo	<u>Fría</u>	<u>Verano Otoño</u>

Tabla 1 - Continuación

	1	2	3	4	5	6
<i>Athripsodes albifrons</i> (Linnaeus, 1758)	De Metarhithron a Epipotamon	De Submontano a Planar	Grava Cantos y guijarros	Reo- a limnófilo	Euritérmica	Verano Otoño
<i>Adicella reducta</i> (McLachlan, 1865)	De Metarhithron a Hyporhithron	De Subalpino a Planar	Macrófitos Hojarasca	Reo- a limnófilo	Caliente- Fría	Primavera Verano Otoño
<i>Sericostoma vittatum</i> Rambur, 1842	De Crenon a Hyporhithron	De Montano a Planar	<u>Cantos y guijarros</u> <u>Rocas y bloques</u>	<u>Reófilo</u>	<u>Caliente- Fría</u>	<u>Primavera</u> <u>Verano</u> <u>Otoño</u>

¹ Eucrenon (zona del nacimiento); Hipocrenon (tramos más altos de arroyo de montaña); Epirhithron (zona alta de arroyos de montaña = zona alta de la trucha); Metarhithron (zona media de arroyos de montaña = zona baja de la trucha); Hyporhithron (zona baja de arroyos de montaña = zona de salmónidos); Epipotamon (tramos altos de los ríos de zonas llanas = zona de los barbos); Metapotamon (tramos medios de los ríos de zonas llanas = zona de la Brema).

² Límites altitudinales en alta montaña: Nival (>3.100 m); Subnival (2.900-3.100 m); Alpino (2.400-2.900 m); Subalpino (1.900-2.400 m); Montano (1.000-1.900 m); Submontano (800-1900 m); Colino (300-800 m) y Planar (<300 m).

³ MOP (materia orgánica particulada gruesa y fina)

⁴ Limnobionte (habita sólo en aguas estancadas); Limnófilo (preferentemente en aguas estancadas, raras veces en lentas); Limno- a reófilo (preferentemente en aguas estancadas, pero regularmente en corrientes lentas). Reo- a limnófilo (preferentemente en zona de corriente, algunas veces encontradas en aguas estancadas): Reófilo (en corriente de moderada a alta); Reobionte (en zonas de elevada corriente) e Indiferente (sin preferencia hacia ninguna velocidad específica).

⁵ Muy fría (<6 °C); Fría (<10°C); Templada (<18 °C); Caliente (>18 °C) y Euritérmica (sin preferencia específica).

DISCUSIÓN

La fauna de tricópteros de Sierra Nevada es relativamente pobre (42 especies fiables), en comparación con la de otros macizos montañosos de la península ibérica, especialmente de la mitad norte peninsular. Por ejemplo, la Sierra Segundera, que forma parte del Parque Natural de Sanabria en Zamora, o la Reserva de la Biosfera de Muniellos, en Asturias, presentan un mayor número de especies de tricópteros con 92 y 72 especies respectivamente

(González *et al.*, 1986; Ocharán *et al.*, 2006), a pesar de que ambos espacios naturales presentan superficies bastante más pequeñas (22.365 ha Sanabria y 5.970 ha Muniellos) que los Parques Nacional (89.208 ha) y Natural (169.239 ha) de Sierra Nevada, por separado. Estas diferencias se han achacado a factores ecológicos e históricos y a la falta de estudios exhaustivos sobre este orden de insectos en el sur peninsular (González *et al.*, 1987). Tras los resultados aportados aquí, se añaden 20 especies a las registradas en la lista faunística de González *et al.* (1992) para este macizo montañoso. Sin embargo, la fauna de tricópteros del sur peninsular sigue mostrándose comparativamente más pobre que la del norte. Incluso si comparamos datos dentro de la región mediterránea, la riqueza de tricópteros es más baja en las cuencas del centro y sureste; atribuyéndose estas diferencias, en parte, a la dureza del clima (Bonada *et al.*, 2004, 2008). Además, en Sierra Nevada, hay que tener en cuenta que domina un ecotipo fluvial, las cabeceras de ríos silíceos de alta montaña. Aunque pueden albergar una diversa fauna de macroinvertebrados, típica de aguas rápidas y poco mineralizadas (Sánchez-Montoya *et al.*, 2007), queda limitado el tipo de hábitats disponibles para ser colonizados por otras especies de tricópteros especializadas, por ejemplo, en aguas calcáreas o en tramos medios y bajos de ríos.

Un elevado porcentaje de las especies citadas en el área (57%, 24 especies) como, por ejemplo: *Agapetus fuscipes*, *Hydroptila vectis*, *Hydropsyche instabilis*, *Lepidostoma hirtum*, *Potamophylax latipennis*, *Athripsodes albifrons* o *Adicella reducta*, son de amplia distribución, propias de las regiones montañosas de Europa occidental. Sin embargo, los elementos más originales de su fauna pertenecen al conjunto de los endemismos ibéricos (21%, 9 especies). En concreto algunas especies meridionales, tales como: *Rhyacophila nevada*, *Hydropsyche infernalis*, *Plectronemia geniculata almoravida*, *Limnephilus obsoletus*, *Annitella esparraguera* y *A. iglesiasi*, que son especies, todas ellas, con series tipo procedentes de localidades de Sierra Nevada. Dos de las especies endémicas presentes en Sierra Nevada (*A. esparraguera* y *A. iglesiasi*) pertenecen a un

género, el género *Annitella*, especialmente diverso en la península ibérica (con 8 especies). Este género tiene representantes en otras montañas europeas, tan lejanas como los Cárpatos o los Balcanes (Malicky, 2004) e integran un conjunto de especies interesantes, ya que forman parte de la, todavía poco conocida, fauna tricopteroológica otoñal. Los imagos de estas especies endémicas de la península ibérica presentan adaptaciones morfológicas relacionadas con los ambientes fríos donde viven. La distribución restringida y el tipismo de los hábitats donde fueron capturadas han llevado a muchos autores a relacionarlas con las glaciaciones del Pleistoceno (Botosaneanu, 1973; Mey & Botosaneanu, 1985). Dado el limitado rango de distribución de varias de las especies endémicas de Sierra Nevada, es previsible que puedan verse fuertemente amenazadas por el cambio climático (Hering *et al.*, 2009; Zamora-Muñoz *et al.*, 2012).

El 21% de las especies (9 especies) colectadas en este trabajo se han citado por primera vez gracias a la revisión del material de colección y a los nuevos muestreos: *Hydropsyche incognita*, *H. pellucidula*, *Plectrocnemia conspersa*, *Brachycentrus maculatum*, *Micrasema minimum*, *Stenophylax crossotus*, *S. nycterobius*, *S. permistus* y *Allogamus mortoni*. Casi un 10% (4 especies) corresponde a especies que fueron citadas, pero que no se han vuelto a capturar en este estudio: *Stactobia furcata*, *Glossosoma privatum*, *Oxyethira unidentata* e *Hydropsyche iberomaroccana*. Cabe destacar que la mayoría del material colectado en este estudio es material larvario y que el conocimiento taxonómico de las larvas de tricópteros es aún muy incompleto, lo que hace muy difícil o imposible su identificación a nivel de especie. El número de nuevas citas, por tanto, podría incrementarse cuando se pueda identificar todo el material recogido.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado por el Organismo Autónomo de Parques Nacionales del Ministerio de Medio Ambiente dentro del proyecto titulado “Diversidad, estrategias vitales y filogeografía de especies sensibles al cambio climático: tricópteros en el Parque Nacional de Sierra Nevada” (ref:

039/2007) y por una beca predoctoral concedida por el Gobierno de Navarra a Marta Sáinz-Bariáin. Nuestro agradecimiento a los miembros del grupo de investigación RNM 102 del Plan Andaluz de Investigación, por proporcionarnos el material de colección de tricópteros incluidos en esta revisión y que se colectó durante la vigencia de varios proyectos de investigación financiados por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (HID98-0323-C05-05, REN2001-3438-C07-06). También queremos agradecer a Alejandra Fernández, Modesto Berbel, a Julio, Eduardo, Isabel y Elena Sáinz, a María Luisa y Cándido Bariáin, a Juan, Carmen y Cristina Soler, a Manolo, Manu, Careli, Yanira, Rubén, María, Cristina, Víctor, Óscar y a Julio de Hydraena su ayuda en la recolección de nuevo material. A los guardas de Espacio Natural de Sierra Nevada por el apoyo logístico durante los muestreos y a Jesús Martínez-Menéndez los datos bibliográficos proporcionados.

BIBLIOGRAFÍA

- Alba-Tercedor, J. & Jiménez-Millán, F. (1987). Evaluación de las variaciones estacionales de la calidad de las aguas del Río Guadalfeo basada en el estudio de las comunidades de macroinvertebrados acuáticos y de los factores físico-químicos. LUCDEME III. Monografía 48 del ICONA. Madrid, 91 pp.
- Alba-Tercedor, J., Sánchez-Ortega, A. & Guisasola, I. (1986). Caracterización de los cursos permanentes de agua de la cuenca del río Adra: Factores físico-químicos, macroinvertebrados acuáticos y calidad de las aguas. Proyecto LUCDEME. Universidad de Granada. Granada, 54 pp. (Datos inéditos).
- Barea-Azcón, J.M., Ballesteros-Duperón, E. & Moreno, D. (Coords.) (2008). *Libro Rojo de los Invertebrados de Andalucía*. 4 Tomos. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla, 1430 pp.
- Bonada, N., Zamora-Muñoz, C., El Alami, M., Múrria, C. & Prat, N. (2008). New records of Trichoptera in reference mediterranean-climate rivers of the Iberian Peninsula and north of Africa: Taxonomical, faunistical and ecological aspects. *Graellsia*, **64**(2), 189–208.
- Bonada, N., Zamora-Muñoz, C., Rieradevall, M. & Prat, N. (2004). Trichoptera (Insecta) collected in Mediterranean river basins of the Iberian Peninsula: Taxonomic remarks and notes on ecology. *Graellsia*, **60**(1), 41–69.
- Botosaneanu, L. (1973). Les Trichoptères (Insecta: Trichoptera) de l'espace Carpatobalkanique, fournisseurs de documents pour l'étude de l'évolution. *Rivista di Hidrobiologia*, **13**, 119–152.
- Botosaneanu, L. (1974). Pour une meilleure connaissance des *Micrasema* d'Europe (Trichoptera, Brachycentridae). *Fragmenta Entomologica*, **10**(2), 65–106.
- Botosaneanu, L. & Malicky, H. (1978). Trichoptera. En: Illies, J. (Ed.), *Limnofauna Europea*. 2ª ed., Fischer Verlag, Stuttgart, pp. 333–359
- Botosaneanu, L. & González, M.A. (2006). Un difficile problème de taxonomie: les

- Micrasema* (Trichoptera: Brachycentridae) des eaux courantes de la Péninsule Ibérique et des Pyrénées. *Annales de la Société Entomologique de France* (Nouvelle série), **42**(1), 119–127.
- González, M.A. & Botosaneanu, L. (1985). Étude de trois espèces de *Hydropsyche* Pictet d'Espagne décrites par F. Schmid (Insecta: Trichoptera). *Bulletin of the Zoological Museum of the University of Amsterdam*, **10**(13), 89–95.
- González, M. & Cobo, F. (2004). Mecopteroides. Generalidades. *En*: Tinaut, A. & Pascual, F. (Eds.), *Proyecto Andalucía. Naturaleza. Tomo XVII: Zoología V*. Publicaciones Comunitarias. Grupo Hércules, Sevilla, pp. 352–382.
- González, M.A. García de Jalón, D., & Terra, L.S.W. (1987). Faunistic studies on Iberian Trichoptera: a historical survey and present state of knowledge. *En*: Bournaud, D. & Tachet, H. (Eds.), *Proceedings of the 5th International Symposium on Trichoptera*. Junk Publishers, The Hague, pp. 85–90.
- González, M.A. & Malicky, H. (1988). Description de quatre nouvelles espèces de Trichoptères de l'Espagne et du Maroc (Trichoptera). *Mitteilungen aus der Entomologischen Gesellschaft*, **38**, 66–71.
- González, M.A. & Malicky, H. (1999). Une nouvelle espèce de *Hydropsyche* du groupe *pellucidula* (Trichoptera, Hydropsychidae). *Braueria*, **26**, 25–26.
- González, M.A. & Martínez-Menéndez, J. (2011). Checklist of the caddisflies of the Iberian Peninsula and Balearic Islands. *Zoosymposia*, **5**, 115–135.
- González, M.A., Terra, L.S.W., García de Jalón, D. & Cobo, F. (1992). *Lista faunística y bibliográfica de los Tricópteros (Trichoptera) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Asociación española de Limnología, Publicación n° 11, Madrid, 200 pp.
- González, M.A., Valiela, J. & González, T. (1986). Observaciones sobre los Tricópteros de la península ibérica. VII: Sierra Segundera (Noroeste de España). *Trabajos Compostelanos de Biología*, **13**, 109–118.
- Graf, W., Murphy, J., Dahl, J., Zamora-Muñoz, C. & López-Rodríguez, M.J. (2008). *Distribution and Ecological Preferences of European Freshwater Organisms*. Pensoft, Sofía, 388 pp.
- Hering, D., Schmid-Kloiber, A., Murphy, J., Lücke, S., Zamora-Muñoz, C., López-Rodríguez, M.J., Huber, T. & Graf, W. (2007). Potential impact of climate change on aquatic insects: A sensitivity analysis for European caddisflies (Trichoptera) based on distribution patterns and ecological preferences. *Aquatic Sciences*, **71**(1), 3–14.
- Jáimez-Cuellar, P. (2004). Caracterización físico-química, macroinvertebrados acuáticos y valoración del estado ecológico de dos cuencas mediterráneas de influencia nival (ríos Guadalfeo y Adra), según los criterios de la Directiva Marco del Agua. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, 226 pp., 87^a. (Datos inéditos).
- Malicky, H. (1972). Weitere neue Arten und Fundorte von westpaläarktischen Köcherfliegen (Trichoptera) vor allen aus dem östlichen Mediterranengebiet. *Mitteilungen aus der Entomologischen Gesellschaft N.F.*, **27**, 25–68.
- Malicky, H. (1986). Zwei neue spanische Köcherfliegen (Trichoptera: Limnephilidae, Polycentropodidae). *Entomologische Zeitschrift*, **96**(3), 26–27.
- Malicky, H. (1999). Bemerkungen über die Verwandtschaft von *Hydropsyche pellucidula* Curtis (Trichoptera, Hydropsychidae). *Linzer Biologische Beiträge*, **31**(2), 803–821.
- Malicky, H. (2002). The sub-specific division of *Rhyacophila dorsalis* Curtis, 1834 and its transitions to *R. nubila* Zetterstedt, 1840 (Trichoptera: Rhyacophilidae). *Proceedings of the 10th International Symposium on Trichoptera*, **15**, 149–166.

- Malicky, H. (Ed.) (2011). *Trichoptera*. Fauna Europae version 2.4, <http://www.faunaeur.org>. (accessed 27 June 2012).
- Malicky, H. (2005). Ein kommentiertes Verzeichnis der Köcherfliegen (Trichoptera) Europas und des Mediterrangebietes. *Linzer Biologische Beiträge*, 37(1), 533–596.
- Mey, W., & Botosaneanu, L. (1985). Glazial-refugiale Subspeziation von *Psilopteryx psorosa* s.l. (Kolenati, 1860) in den Karpaten und angrenzenden Mittelgebirgen Zentraleuropas (Trichoptera, Limnephilidae). *Deutsche Entomologische Zeitschrift*, 32, 109–127.
- Morse, J.C., (Ed.) (2012). Trichoptera World Checklist. <http://entweb.clemson.edu/database/trichopt/index.htm> (accessed 27 June 2012).
- Múrria, C., Zamora-Muñoz, C., Bonada, N., Ribera, C. & Prat, N. (2010). Genetic and morphological approaches to the problematic presence of three *Hydropsyche* species of the *pellucidula* group (Trichoptera: Hydropsychidae) in the westernmost Mediterranean Basin. *Aquatic Insects*, 32(2), 85–98.
- Navás, L. (1908). Neurópteros de España y Portugal. *Broteria (Ser. Zool.)*, 7, 5–131.
- Navás, L. (1911). Notas entomológicas. 3. Excursiones por los alrededores de Granada. *Boletín de La Sociedad Española Aragonesa de Ciencias Naturales*, 10, 204–211.
- Navás, L. (1920). Tricópteros (Ins.) de España. Asociación Española para el Progreso de las Ciencias (Sevilla), 4, 5–16.
- Navás, L. (1924). Insectes de l'excursió de D. Ascensi Codina a Castella i Andalusia al Juny de 1923. *Treballs Museu de Ciències Naturals de Barcelona*, 4, 1–10.
- Ocharán, R., Ocharán, F.J. & Anadón, A. (2006). Tricópteros de la Reserva de la Biosfera de Muniellos y de Asturias (N de España). *Boletín de La Asociación Española de Entomología*, 30(1-2), 161–197.
- Palomares, A. (1982). *Zonación por calidades de agua de la Cuenca del río Genil en base a métodos ecológicos*. Proyecto Fin de Carrera, Universidad de Granada, Granada, 145 pp. (Datos inéditos).
- Pitsch, T. (1993). Zur Kenntnis der *Hydropsyche pellucidula*-Gruppe in Mitteleuropa (Trichoptera: Hydropsychidae). *Braueria*, 32(20), 27–32.
- Poquet, J.M. (2007). Modelos de predicción de las Comunidades de macroinvertebrados Acuáticos en ríos mediterráneos ibéricos. Medpacs. Mediterranean prediction and classification system. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, 207 pp. (Datos inéditos).
- Resh, V.H. (1992). Recent trends in the use of Trichoptera in water quality monitoring. *En: Otto, C. (Ed.), Proceedings of the 7th International Symposium on Trichoptera*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 285–291.
- Ruiz-García, A. & Ferreras-Romero, M. (2007). The larva and life history of *Stenophylax crossotus* McLachlan, 1884 (Trichoptera: Limnephilidae) in an intermittent stream from the southwest of the Iberian Peninsula. *Aquatic Insects*, 29(1), 9–16.
- Sáinz-Bariáin, M. & Zamora-Muñoz, C. (2012). The larva and life history of *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875) (Trichoptera: Limnephilidae) in high mountain streams (Sierra Nevada, Spain) and key to the Iberian larvae of the genus. *Zootaxa*, 81(3483), 71–81.
- Sáinz-Cantero, C.E. (1989). *Coleópteros acuáticos de Sierra Nevada*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, 237 pp. (Datos inéditos).
- Sánchez-Montoya, M.M., Puntí, T., Suárez, M.L., Vidal-Abarca, M.R., Rieradevall, M., Poquet, J. M., Zamora-Muñoz, C., Robles, S., Álvarez, M., Alba-Tercedor, J.,

- Toro, M., Pujante, A.M., Munné, A. & Prat, N. (2007). Concordance between ecotypes and macroinvertebrate assemblages in Mediterranean streams. *Freshwater Biology*, **52**(11), 2240–2255.
- Schmid, F. (1952). Contribution a l'étude des Trichoptères d'Espagne. *Pirineos*, **26**, 627–695.
- Sipahiler, F. (1998). Studies on the Genus *Annitella* Klapálek (Trichoptera: Limnephilidae: Chaetopterygini). *Aquatic Insects*, **20**(3), 149–164.
- Tierno de Figueroa, J.M. (1998). *Biología imaginal de los plecópteros (Insecta, Plecoptera) de Sierra Nevada (Granada, España)*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, 310 pp. (Datos inéditos).
- Tierno de Figueroa, J.M., Palomino-Morales, J.A. & Luzón-Ortega, J.M. (2000). Spatial distribution on river banks of *Isoperla nevada* (Plecoptera, Perlodidae), *Chloroperla nevada* (Plecoptera, Chloroperlidae) and *Sericostoma* cf. *vittatum* (Trichoptera, Sericostomatidae). *Italian Journal of Zoology*, **67**, 355–358.
- Vieira-Lanero, R. (2000). *Las larvas de los Tricópteros de Galicia (Insecta: Trichoptera)*. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 612 pp.
- Wiggins, G.B. (2004). *Caddisflies. The Underwater Architects*. University of Toronto. Press Incorporated, Toronto, Buffalo, London, 291 pp.
- Williams, D.D. & Feltmate, B.W. (1992). *Aquatic insects*. C.A.B. International, Wallingford, U.K, 358 pp.
- Zamora-Muñoz, C. (1992). Macroinvertebrados acuáticos, caracterización y calidad de las aguas de los cauces de la cuenca alta del río Genil. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, 364 pp. (Datos inéditos).
- Zamora-Muñoz, C. (2004). Tricópteros. Fauna Andaluza. *Err. A. Tinaut & F. Pascual* (Eds.), *Proyecto Andalucía. Naturaleza. Tomo XVIII: Zoología VI*. Publicaciones Comunitarias, Grupo Hércules, Sevilla, pp. 15–28.
- Zamora-Muñoz, C. & Alba-Tercedor, J. (1992a). Description of the larva of *Rhyacophila* (*Rhyacophila*) *nevada* Schmid, 1952 and key to the species of *Rhyacophila* of the Iberian Peninsula (Trichoptera: Rhyacophilidae). *Aquatic Insects*, **14**, 65–71.
- Zamora-Muñoz, C. & Alba-Tercedor, J. (1992b). Caracterización y calidad de las aguas del río Monachil (Sierra Nevada, Granada). Factores físico-químicos y comunidades de macroinvertebrados acuáticos. Agencia del Medio Ambiente. Ed. Anel, Granada, 171 pp.
- Zamora-Muñoz, C. & Alba-Tercedor, J. (1995). Primera cita de *Halesus tessellatus* Rambur 1842 (Trichoptera: Limnephilidae) en la Península Ibérica. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **19**(3-4), 200–201.
- Zamora-Muñoz, C., Alba-Tercedor, J. & García de Jalón, D. (1995). The larvae of the genus *Hydropsyche* (Hydropsychidae; Trichoptera) and keys for the identification of species of the Iberian Peninsula. *Mitteilungen Der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, **68**, 189–219.
- Zamora-Muñoz, C. & Bonada, N. (2003). Catálogo de los Tricópteros de Aragón (Trichoptera). *Sociedad Entomológica Aragonesa*, **28**, 3–15.
- Zamora-Muñoz, C., Sáinz-Bariáin, M., Múrria, C., Bonada, N., Sáinz-Cantero, C.E., González, M.A., Alba-Tercedor, J., & Tierno de Figueroa, J.M. (2012). Diversidad, estrategias vitales y filogeografía de especies sensibles al cambio climático: Tricópteros en el Parque Nacional de Sierra Nevada. *Err. Ramírez, L., & Asensio, B.* (Eds.), *Proyectos de investigación en parques nacionales 2008-2011*. Organismo Autónomo de Parques Nacionales, pp. 355–385.

ANEXO 1: Localización de las estaciones muestreadas. Para cada estación se presenta, el número asignado en el mapa (Fig. 1), el código utilizado en el texto, el nombre del río, la localidad, la altitud s.n.m, las coordenadas UTM, la provincia y la referencia de los trabajos en los que se ha estudiado.

ESTACIÓN DE MUESTREO (Fig. 1)	CÓDIGO	RÍO	LOCALIDAD	ALTITUD	X_UTM	Y_UTM	PROVINCIA	REFERENCIAS
CUENCA DEL RÍO ADRA								
1	A-1	Arroyo Palancón	Puerto de la Ragua	1880	497000	4107000	Granada	2
2	A-2	Río Mecina	Área Recreativa Las Chorreras	1866	488336	4101049	Granada	1, 7, 9
3	A-3	Río Nechite	Las Piedras de Márquez	1835	491880	4102947	Granada	1, 7, 9
4	A-4	Río Válor	Cortijo de la Sacristía	1820	491100	4100900	Granada	1, 7, 9
5	A-5	Río Laroles	Área Recreativa Laroles	1753	495909	4102162	Granada	1, 5, 7, 9
6	A-6	Arroyo Palancón	Posada de los Arrieros	1720	498151	4103605	Almería	1, 2, 6, 7, 9
7	A-7	Río Paterna	Paterna del Río	1175	504844	4098391	Almería	1, 2, 9
8	A-8	Río Mecina	Mecina-Bombarón	1140	488000	4101000	Granada	1, 9
9	A-9	Río Laroles	Acequia (Laroles)	1110	499000	4096000	Granada	2
10	A-10	Río Laroles	Laroles	1020	498000	4096000	Granada	1, 9
11	A-11	Río Válor	Válor	940	491000	4094000	Granada	1, 9
12	A-12	Río Nechite	Mecina-Alfahar	840	494000	4096000	Granada	1, 9
13	AX-1	Río Nacimiento	Refugio El Ubeire	1631	508956	4107159	Almería	9

Anexo 1-Continuación

ESTACIÓN DE MUESTREO (Fig. 1)	CÓDIGO	RÍO	LOCALIDAD	ALTITUD	X_UTM	Y_UTM	PROVINCIA	REFERENCIAS
CUENCA DEL RÍO ANDARAX								
14	AX-2	Río Isfalada	Cruce con Barranco de Dólar	1509	503303	4108381	Almería	9
15	AX-3	Río Isfalada	Huéneja	1140	504000	4113000	Almería	2
16	AX-4	Río Andarax	A 2 km del A.R. El Nacimiento	1035	509641	4097329	Almería	9
CUENCA DEL RÍO GENIL								
17	GEN-1	Lagunillos de la Virgen	Lagunillos de la Virgen	2945	466213	4100626	Granada	9
18	GEN-2	Laguna de las Yeguas	Laguna de las Yeguas	2900	466302	4101268	Granada	9
19	GEN-3	Río Dílar	Borreguiles	2855	466148	4101564	Granada	9
20	GEN-4	Río Monachil	Borreguiles	2679	465816	4103202	Granada	4, 9
21	GEN-5	Barranco S. Juan	Hoya de la Mora	2421	465905	4109739	Granada	9
22	GEN-6	Barranco S. Juan	Campos de Otero	2205	465772	4107277	Granada	8
23	GEN-7	Río Monachil	Pradollano	2160	464800	4104900	Granada	4
24	GEN-8	Río Monachil	Estación	2050	464300	4105500	Granada	4
25	GEN-9	Barranco del Saltillo	Arroyo (a 5 km de Prado Llano)	1940	461000	4107000	Granada	2

Anexo 1-Continuación

ESTACIÓN DE MUESTREO (Fig. 1)	CÓDIGO	RÍO	LOCALIDAD	ALTITUD	X_UTM	Y_UTM	PROVINCIA	REFERENCIAS
26	GEN-10	Río Valdecasillas	Majada del Real	1900	471600	4104200	Granada	9
27	GEN-11	Río Valdeinfiernos	Majada del Palo	1780	470900	4105200	Granada	9
28	GEN-12	Barranco de Manuel Casas	Carril del Robledal. Extracción de serpentine	1704	460987	4105369	Granada	9
29	GEN-13	Río Real	Junta de los dos ríos	1690	470600	4105200	Granada	9
30	GEN-14	Barranco de Manuel Casas	Desembocadura	1612	461020	4106242	Granada	8
31	GEN-15	Barranco de las Víboras	Barranco de las Víboras	1560	460000	4109000	Granada	2
32	GEN-16	Barranco de las Víboras	Fuente de las Víboras	1560	460000	4109000	Granada	2
33	GEN-17	Río Guarnón	Minas de La Estrella	1500	469602	4106375	Granada	9
34	GEN-18	Arroyo de Huenes	Puente de los siete ojos	1500	455000	4104000	Granada	2
35	GEN-19	Barranco de los Tejos	Güejar-Sierra	1430	463000	4110000	Granada	2
36	GEN-20	Río Monachil	Central de Díechar	1416	459643	4106471	Granada	4, 9
37	GEN-21	Barranco de Fuente Agrilla	Fuente Agrilla	1390	464000	4109000	Granada	2
38	GEN-22	Barranco de San Juan	Canteras de San Juan	1350	465741	4109281	Granada	7, 8

Anexo 1-Continuación

ESTACIÓN DE MUESTREO (Fig. 1)	CÓDIGO	RÍO	LOCALIDAD	ALTITUD	X_UTM	Y_UTM	PROVINCIA	REFERENCIAS
39	GEN-23	Río Aguas Blancas	Arroyo de Tocón	1300	468550	4121550	Granada	9
40	GEN-24	Río Monachil	Estanque Fuente del Hervidero	1260	452000	4105000	Granada	2, 7
41	GEN-25	Río Aguas Blancas	Cortijo de los Alacranes	1200	465000	4120000	Granada	2
42	GEN-26	Barranco San Juan	Confluencia Genil-San Juan	1178	465444	4110007	Granada	3, 8, 9
43	GEN-27	Río Genil	Vereda de la Estrella	1156	465349	4109791	Granada	2, 7, 9
44	GEN-28	Canal de Riego Barrio Alto	Güejar-Sierra	1140	460000	4113000	Granada	2
45	GEN-29	Acequia El Peñón	Güejar-Sierra	1100	462000	4112000	Granada	2
46	GEN-30	Río Morollón	Barranco del Madroño	1100	470000	4125000	Granada	2
47	GEN-31	Río Morollón	Fuente de la Gitana	1100	472000	4125000	Granada	2
48	GEN-32	Río Monachil	Los Cahorros	1080	455000	4108000	Granada	4, 8
49	GEN-33	Río Maitena	Desembocadura	1018	463140	4111624	Granada	2, 3, 9
50	GEN-34	Río Genil	Güejar-Sierra	1000	461123	4112900	Granada	8
51	GEN-35	Acequia Güejar-Sierra	Güejar-Sierra	1000	459000	4113000	Granada	2
52	GEN-36	Río Dílar	Central Eléctrica	952	450669	4102077	Granada	2, 9

Anexo 1-Continuación

ESTACIÓN DE MUESTREO (Fig. 1)	CÓDIGO	RÍO	LOCALIDAD	ALTITUD	X_UTM	Y_UTM	PROVINCIA	REFERENCIAS
53	GEN-37	Río Genil	Pinos-Genil	780	455531	4113340	Granada	8
54	GUA-1	Río Veleta	Lagunillos del Veleta	3127	467707	4100981	Granada	8
55	GUA-2	Laguna de Aguas Verdes	Laguna de Aguas Verdes	3050	467000	4100000	Granada	2, 9
56	GUA-3	Río Veleta	Cabecera	3040	467000	4100000	Granada	2
CUENCA DEL RÍO GUALDALQUIVIR								
57	GUA-4	Laguna La Caldera	Al pie de la Caldera	3040	470000	4101000	Granada	2
58	GUA-5	Río Chico	Acequie Loma de tanto	2640	472000	4095000	Granada	2
59	GUA-6	Río Trevélez	Albaudí	2546	479419	4104892	Granada	9
60	GUA-7	Río Trevélez	Juntillas	1975	478452	4102297	Granada	9
61	GUA-8	Río Poqueira	Acequia Alta Capileira	1960	470000	4091000	Granada	2
62	GUA-9	Río Chico	Área Recreativa Puente Palo	1860	463700	4091600	Granada	6, 7
63	GUA-10	Río Torrente	Peñón de Muñoz	1860	457550	4095550	Granada	7
64	GUA-11	Río Grande de Bérchules	Cortijo de Las Jeromillas	1797	483524	4099759	Granada	9
65	GUA-12	Río Poqueira	Barranco de Bubión	1660	469000	4090000	Granada	2
66	GUA-13	Río Poqueira	Central Eléctrica Poqueira	1650	469550	4094550	Granada	7
67	GUA-14	Río Poqueira	Central La Cebadilla	1540	469100	4094200	Granada	6, 9

Anexo 1-Continuación

ESTACIÓN DE MUESTREO (Fig. 1)	CÓDIGO	RÍO	LOCALIDAD	ALTITUD	X_UTM	Y_UTM	PROVINCIA	REFERENCIAS
68	GUA-15	Río Trevélez	Poqueira	1540	477400	4096700	Granada	2, 6, 7, 9
69	GUA-16	Río Lanjarón	Cortijo de Los Pilonos	1500	459200	4090500	Granada	9
70	GUA-17	Río Chico	Acequia Soportújar	1460	463000	4089000	Granada	2
71	GUA-18	Río Trevélez	Charca	1400	476000	4089000	Granada	2
72	GUA-19	Barranco de Fuente Medina	Prado Nogal	1380	478000	4089000	Granada	2
73	GUA-20	Río Chico	Arroyo de Bérchules	1380	483000	4091000	Granada	2
74	GUA-21	Río Grande de Bérchules	Área Recreativa Bérchules	1350	483200	4093100	Granada	6
75	GUA-22	Barranco de Fuente Medina	Estanque	1300	477000	4088000	Granada	2
76	GUA-23	Río Trevélez	Acequia de Busquístar	1300	473000	4088000	Granada	2
77	GUA-24	Río Bermejo	Los Hilacares	1280	471000	4088000	Granada	2, 7
78	GUA-25	Río Dúrcal	Cortijo La Magara	1270	454759	4098938	Granada	6, 9
79	GUA-26	Barranco de la Umbría	Juviles	1260	480000	4089000	Granada	2
80	GUA-27	Río Bermejo	Acequia de Pitres	1260	471000	4088000	Granada	2
81	GUA-28	Barranco de Fuente Agrilla	Pórtugos	1255	472757	4088608	Granada	8
82	GUA-29	Río Bermejo	Arroyo de Pitres	1240	470000	4088000	Granada	2

Anexo 1-Continuación

ESTACIÓN DE MUESTREO (Fig. 1)	CÓDIGO	RÍO	LOCALIDAD	ALTITUD	X_UTM	Y_UTM	PROVINCIA	REFERENCIAS
83	GUA-30	Barranco de la Rata	Loma del Secano	1240	470000	4088000	Granada	2
84	GUA-31	Río Chico	Acequia Fuente de la Coca	1200	464000	4087000	Granada	2
85	GUA-32	Río Torrente	Nigüelas, Tajo Bernal	1100	454000	4093800	Granada	6, 9
86	GUA-33	Río Grande de Bérchules	Las Fuentes de Narilla	1100	483000	4092000	Granada	2
87	GUA-34	Río Poqueira	Central Pampaneira	1000	467900	4088800	Granada	6
88	GUA-35	Río Dúrcal	Dúrcal	760	448900	4094900	Granada	6
CUENCA DEL RÍO GUADIANA MENOR								
89	GM-1	Río Alhama	Dehesa del Camarate	2150	477554	4112204	Granada	9
90	GM-2	Arroyo Hondo	Puerto de la Ragua	1740	496000	4110000	Granada	2
91	GM-3	Barranco de los Tejos	Aldeire	1660	492000	4109000	Granada	2, 9
92	GM-4	Barranco de los Pasillos	Los Pasillos	1646	493948	4107674	Granada	2, 5, 9
93	GM-5	Barranco de la Venta	Área Recreativa Lanteira	1612	488072	4109422	Granada	2, 9
94	GM-6	Barranco del Pueblo	La Cabañuela	1547	486104	4110050	Granada	9
95	GM-7	Arroyo de Alhorí	Central eléctrica	1514	482323	4111526	Granada	2, 9

Anexo 1-Continuación

ESTACIÓN DE MUESTREO (Fig. 1)	CÓDIGO	RÍO	LOCALIDAD	ALTITUD	X_UTM	Y_UTM	PROVINCIA	REFERENCIAS
96	GM-8	Arroyo del Alcázar	Área Recreativa La Tizná	1494	483531	4110396	Granada	2, 9
97	GM-9	Barranco de los Pasillos	Aldeire	1300	493000	4112000	Granada	2
98	GM-10	Arroyo de Alhorí	Acequia del Castañal	1260	485000	4114000	Granada	2
99	GM-11	Arroyo de Alhorí	Jérez del Marquesado	1260	485000	4114000	Granada	2
100	GM-12	Río del Pueblo	Lanteira	1260	487000	4113000	Granada	2

¹ Alba-Tercedor *et al.*, 1986

² Sáinz-Cantero, 1989

³ Zamora-Muñoz, 1992

⁴ Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1992b

⁵ Tierno de Figueroa, 1998

⁶ Jáimez-Cuellar, 2004

⁷ Poquet, 2007

⁸ Muestreos realizados por M. González en varias localidades de Sierra Nevada en 1983 y 1987.

⁹ Proyecto “Diversidad, estrategias vitales y filogeografía de especies sensibles al cambio climático: Tricópteros en el Parque Nacional de Sierra Nevada” (ref:039/2007).

Capítulo 2

The larva and life history of *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875) (Trichoptera: Limnephilidae) in high mountain streams (Sierra Nevada, Spain) and key to the Iberian larvae of the genus



Laguna Aguas Verdes, primavera 2008

Abstract

*The larva and pupa of *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875) were briefly, although insufficiently, described by Lepneva (1966). Here, the larva is fully described and figured. Its most important diagnostic features to distinguish it from other species are illustrated. A key is presented for the identification of the known *Stenophylax* larvae of the Iberian Peninsula. Descriptions of its habitat, life cycle and its particular life history in high mountain streams from the southeast of the Iberian Peninsula (Sierra Nevada) are included.*

Keywords: *Stenophylax; larval description; key; Life cycle; phenology; Iberian Peninsula.*

Este capítulo reproduce íntegramente el siguiente artículo:

Sáinz-Bariáin, M. & Zamora-Muñoz, C. (2012). The larva and life history of *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875) (Trichoptera: Limnephilidae) in high mountain streams (Sierra Nevada, Spain) and key to the Iberian larvae of the genus. *Zootaxa* 3483, 71–81.

INTRODUCTION

According to Botosaneanu (1992), *Micropterna* Stein, 1874 cannot be considered as a distinct genus separated from *Stenophylax* Kolenati, 1848 because there is no single character that allows the separation of these genera in all cases. Although the trend in check-lists is to follow this suggestion (International Barcode of Life Project, 2008; González, 2012; Morse, 2012), other workers keep both genera (e.g., Malicky, 2004, 2005, 2011).

Following Morse (2012), the genus *Stenophylax* is composed of 49 species distributed in the West Palearctic, East Palearctic and Oriental biogeographic regions, but it is most abundant in the first one. In the Iberian Peninsula the presence of 11 species is confirmed: *Stenophylax crossotus* McLachlan, 1884; *S. espanioli* Schmid, 1957; *S. fissus* (McLachlan, 1875); *S. lavandieri* (Décamps, 1972); *S. malatestus* (Schmid, 1957); *S. mitis* McLachlan, 1875; *S. nycterobius*; *S. permistus* McLachlan, 1895; *S. sequax* (McLachlan, 1875); *S. testaceus* (Gmelin, 1789); and *S. vibex* (Curtis, 1834). The presence of another five species requires confirmation or is considered doubtful: *S. barnolanus* Navás, 1917; *S. mucronatus* McLachlan, 1880; *S. nassarei* Navás, 1925; *S. oreinus* Navás, 1921; and *S. serratus* Navás, 1920 (González, 2012).

Despite the fact that this genus is very abundant, there are few known larvae included in keys. Of the species of the Iberian Peninsula, only the larvae of five species have already been fully described: *S. crossotus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007); *S. permistus* (Frocho, 1962; Moretti 1983; Waringer & Graf, 1997; Wallace *et al.*, 2003); *S. sequax* (Moretti, 1983; Waringer & Graf, 1997; Wallace *et al.*, 2003); *S. testaceus* (Waringer & Graf, 1997); and *S. vibex* (Waringer & Graf, 1997; Wallace *et al.*, 2003). The larva of *S. fissus* has been described (Décamps & Magne, 1966; Moretti, 1983), but these works are insufficient to separate it from other species (Vieira-Lanero, 2000), so a new re-description is necessary (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007). The larva of *S. nycterobius* was briefly described by Lepneva (1966) and is keyed by Waringer and Graf (1997) and by Lechthaler and Stockinger (2005), as

Micropterna nycterobia McLachlan, 1875. The characters included, however, do not differentiate it from other *Stenophylax* species known from the Iberian Peninsula, and the description of new features are essential for a correct identification and comparison with other species of the genus.

Stenophylax nycterobius is a widely distributed species (Europe, North Africa and Anatolia) (Morse, 2012). In the Iberian Peninsula, this species has been reported from the north of Portugal and from northern and southeastern Spain (González *et al.*, 1992; Bonada *et al.*, 2008; Salavert *et al.*, 2011).

This one, as another species of the “*Stenophylax* group” (Schmid, 1957), is well known by speleologists because adults are part of the troglophile fauna (Schmid, 1957; Botosaneanu, 1959, 1966; Bournaud & Bouvet, 1969; Bouvet & Ginet, 1969; Bournaud, 1971, 1974; Bouvet, 1971, 1972, 1994; Filbá, 1974; Malicky, 1981, 1987; Salavert *et al.*, 2011). The life cycle of *Stenophylax* species is univoltine (Bouvet, 1974). The larvae of these species exploit temporary waters and the adults undergo summer diapause, delaying reproduction until autumn or winter when larval habitats are refilled or rain is imminent (Bouvet, 1971; Botosaneanu, 1974; Denis, 1977; Wiggins *et al.*, 1980; Bouvet, 1994; Williams, 2006).

The aim of this article is to describe and illustrate the most important diagnostic features of the larva of *S. nycterobius* and to distinguish it from other species of the genus. A key is presented for the identification of the known *Stenophylax* larvae of the Iberian Peninsula. Information on the habitat of this species and its particular life cycle in high mountain streams from the southeastern part of the Iberian Peninsula (Sierra Nevada) is included.

MATERIAL AND METHODS

A total of 81 specimens of *S. nycterobius* were collected from 6 sites of the Sierra Nevada mountain range (Granada, southeast Spain), from June to September 2008 and from March to November 2009: Laguna de Aguas Verdes (UTM: 30SVG670000, 3.050 m a.s.l.); Lagunillos de la Virgen (UTM: 30SVG662006, 2.945 m a.s.l.); Borreguiles del Río Dílar (UTM: 30SVG661015,

2.855 m a.s.l.); Río San Juan (“Hoya de de San Juan”) (UTM: 30SVG666044, 2.498 m a.s.l.); Río San Juan (“Cascada de los militares”) (UTM: 30SVG659056, 2.421 m a.s.l.), Barranco de Manuel Casas (UTM: 30SVG609053, 1.704 m a.s.l.).

Sixty-six larvae and 14 pupae were collected by “kick sampling” using a 30 cm wide hand net (mesh size= 500 μm) in distinct habitats of each locality. Fifteen 5th instar larvae and 8 pupae were reared in the laboratory, thereby ensuring the association between larva and adults. One adult was caught by hand on the riverside in “Río San Juan (Cascada de los militares)”.

Physicochemical parameters were seasonally (spring, summer and autumn) measured in each locality. Water depth, current velocity, pH, water temperature, conductivity, oxygen, saturation and dissolved oxygen were measured in situ. Water samples were taken to measure the following nutrients and cations in the laboratory: ammonium, phosphates, nitrites, nitrates, sulfates, calcium, magnesium and chlorides.

A total of 41 larvae were measured in order to study the life cycle of this species in the Sierra Nevada. Larvae of instars II–V were separated by head capsule widths (Figure 1). To check whether the separation of five larval instars for *S. nycteroibius* based on the frequency distribution of head capsule widths conformed to Dyar’s Law, the natural logarithm of mean head capsule widths for the four instars was plotted (Figure 2). The plot indicates that Dyar’s Law was applicable, ensuring a correct instar definition based on head capsule widths.

A total of 23 fifth instar larvae were measured and used for the description of the larva. The measurements, in millimetres, are given as a range. Mean value and number of individuals (N) are given in parentheses. Setal nomenclature and terminology follows Williams and Wiggins (1981) and Wallace *et al.* (2003)

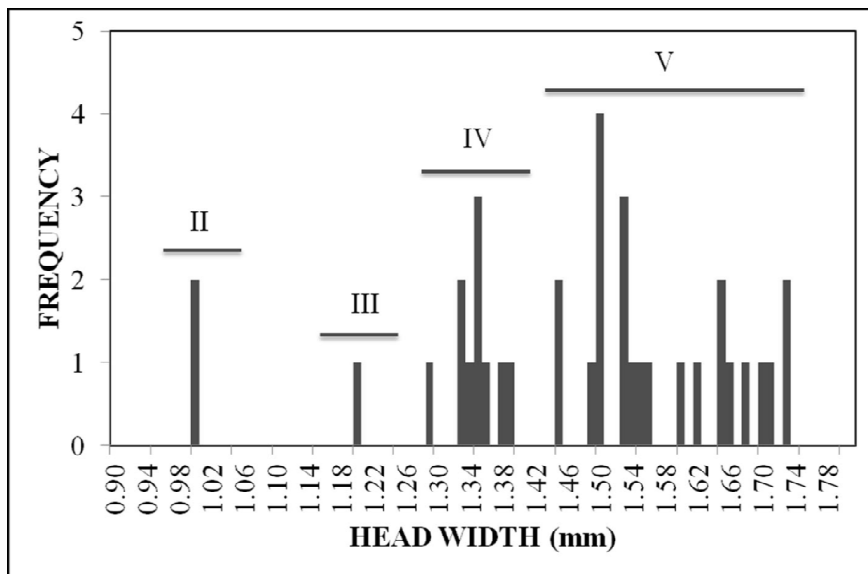


Figure 1. Frequency distribution histogram of head width measurements of *Stenophylax mycterobius* (McLachlan, 1875) larvae. Larval instars are indicated as II, III, IV and V

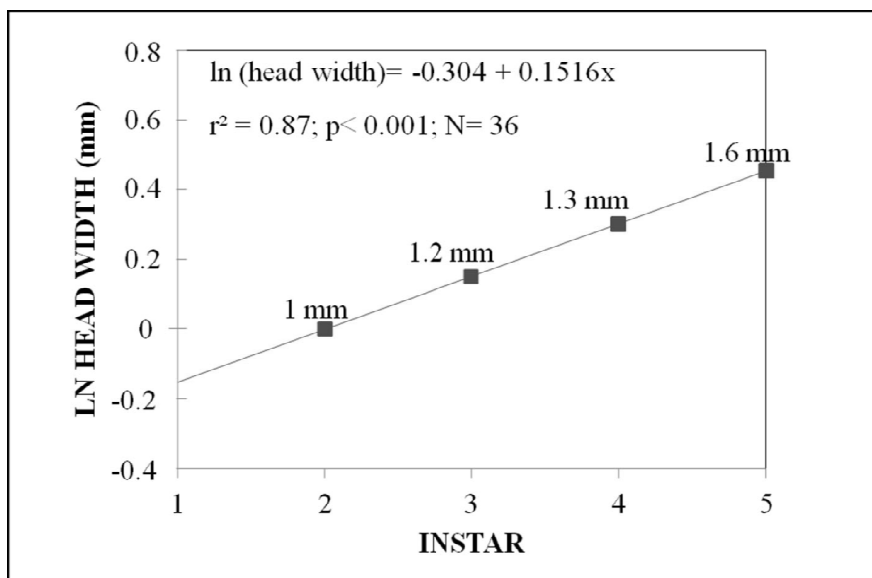


Figure 2. Relationship between the natural logarithm of head width (mm) and instar number

RESULTS AND DISCUSSION

Description of the final (5th) instar larva and case

Body

Body length: 10.4–23.0 mm (mean = 17.2 mm, N=23); body width: 2.6–5.0 mm (mean= 3.7 mm, N=23).

Head capsule

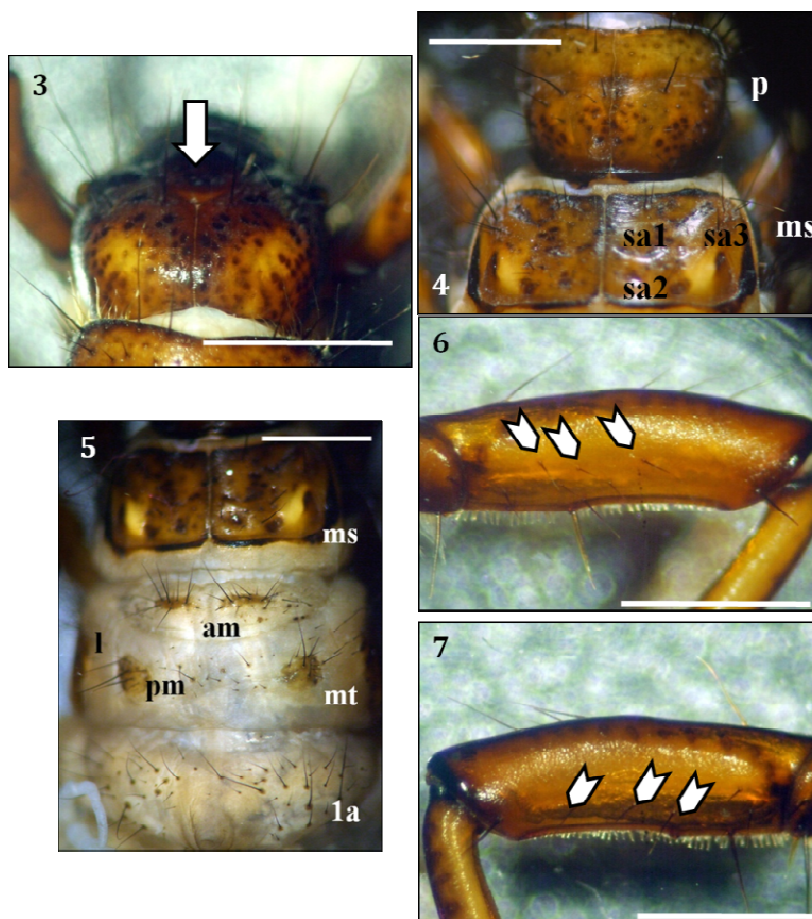
Head length: 1.6–2.3 mm (mean = 1.8 mm, N = 23); head width: 1.5–1.7 mm (mean = 1.6 mm, N = 23), uniformly brown except for light areas around eyes; two yellow spots (Figure 3) in posterior third and light yellow triangle at posterior end of frontoclypeus (Figure 3, arrow). Conspicuous muscle attachment spots numerous and clearly visible. Spinules on head capsule covering large areas around eyes and on frontoclypeus. Labrum width 0.6–0.9 mm (mean = 0.8 mm, N = 13). Mandibles black, with teeth along anterior edge as well as ridges in central concavity.

Thorax

Pronotum length: 1.0–1.4 mm (mean = 1.2 mm, N = 23); pronotum width: 1.5–2.2 mm (mean = 1.7 mm, N = 23), composed of two brown sclerites with transverse rim at anterior third without depressions, dorsal humps or ridges, and black band on posterior edges. Numerous setae with round brown dots at their base distributed all over surface. Conspicuous brown spots at posterior third of each sclerite arranged as inverted V-shape bordered by two oblique rows (Figure 4).

Mesonotum length: 0.7–1.3 mm (mean = 1.0 mm, N = 23); mesonotum width: 1.7–2.8 mm (mean = 2.3 mm, N = 23), composed of two light brown subrectangular sclerites with yellow spot at bottom of each sclerite and black band on posterior and anterolateral edges (Figure 4). Three groups of setae on each sclerite (*sa1*, *sa2* and *sa3*, Figure 4).

Metadorsum membranous with three pairs of small sclerites (Figure 5). Anteromedian sclerites narrow, their maximum length (measured from anterior to posterior border) distinctly smaller than their median separation; large group of setae present between posteromedian sclerites; lateral sclerites each with setae only on anterior half.



Figures 3–7. *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875) larva. (3) Head capsule, dorsal; (4) thorax and abdominal segment I, dorsal; (5) thorax and abdominal segment I, dorsal; (6) Femur of mesothoracic leg, anterior face; (7) femur of mesothoracic leg, posterior face. am = anteromedian sclerites, ms = mesonotum; mt = metanotum; l = lateral sclerites; la = abdominal segment I; p = pronotum; pm = posteromedian sclerites; sa1–3 = setal areas 1, 2, and 3, respectively. Scale bar: 1 mm.

Legs brown, meso- and metathoracic legs with additional setae on anterior and posterior faces; group of additional setae of anterior faces situated in ventral half (Figure 6, arrows) and that of posterior faces situated on ventral third (Figure 7, arrows).

Abdomen

Lateral fringe generally starts at posterior third of second abdominal segment (only very rarely at third abdominal segment; Figure 8, arrow).

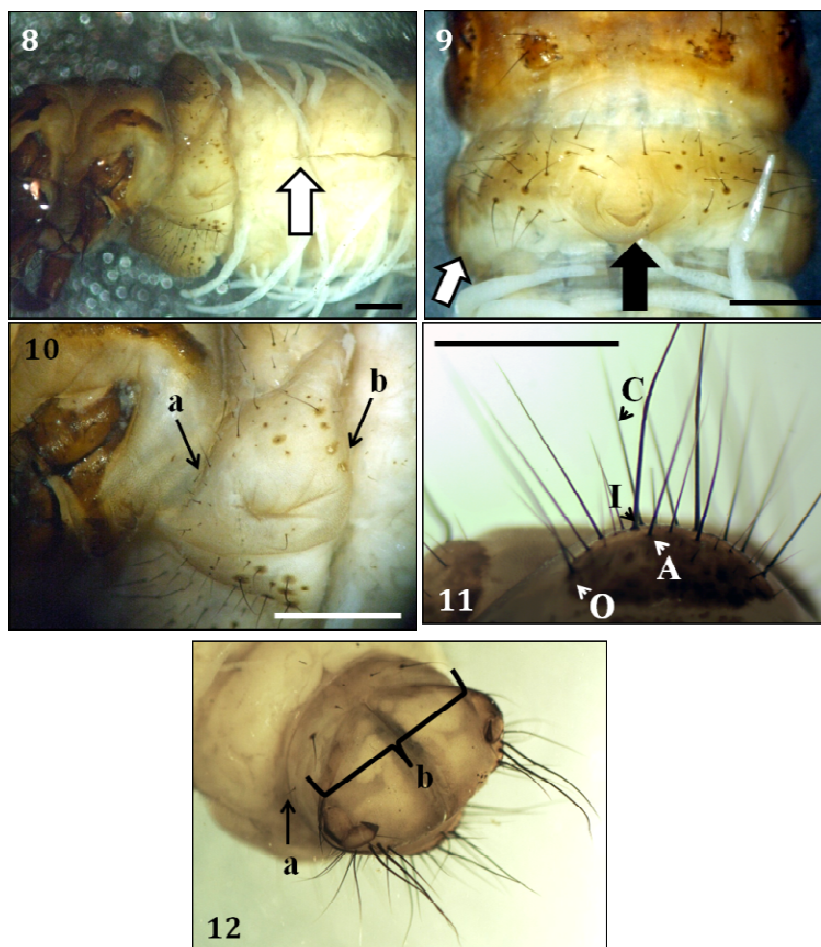
First abdominal segment with three humps (one dorsal and two lateral) darker than rest of abdomen (Figure 9, arrows). Large group of setae anterior of dorsal hump, and one seta or none posterior of it (Figure 9, black arrow). An important characteristic of this species: presence of row of setae along anterior margin of each lateral hump (Figure 10a). Posterior region of each lateral hump with 1–3 (normally 2) small separate sclerites without setae, but each sclerite with central hole (Figure 10b).

All gills consisting of single filaments (gill positions: Table 1).

Table 1. Gill formula of abdominal segments of *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875) (fifth instar larva). Abbreviations as follows: A, anterior; P, posterior; D, dorsal; L, lateral and V, ventral.

Segment	II		III		IV		V		VI		VII		VIII	
	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P
D	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0/1	0/1	0/1	0	0
DL	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
VL	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0/1	0	0	0	0
V	1	1	1	1	1	1	0/1	1	0/1	0/1	1	0/1	0	0

Posterior third of abdominal dorsum VIII with 10–18 setae. Abdominal tergite IX usually with 8 long black setae on posterior edge; A-setae and C-setae (A = innermost pair, C = next-innermost pair, occasionally only one C-seta) with similar length (Figure 11). One posterolateral seta on abdominal segment IX (Figure 12a); two pairs of setae ventrally, outer longer than inner (Figure 12b). Anal claws each with accessory hook on dorsal side.



Figures 8–12. *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875) larva. (8) Thorax and abdominal segments 1–3, left lateral, arrow: start of the lateral fringe; (9) metathorax and abdominal segment I, arrows: dorsal and lateral humps; (10) abdominal segment I, left lateral, a: row of setae along anterior margin of lateral hump, b: posterior sclerites on lateral hump; (11) setal nomenclature of tergite IX, dorsal view; (12) tip of abdomen, ventral, a: posterolateral setae on the abdominal segment IX, b: two pairs of setae on ventral side; Scale bar in figures 8–11: 1 mm

Larval case

Larval case length: 7.4–31.0 mm (mean = 18.4 mm, N = 17). Larval case width: 3.9–7.5 mm (mean = 6.0 mm, N = 17). Case straight or slightly curved and made of mineral particles (Figure 13); occasionally posterior third of case consisting of fragments of vegetal material. Near pupation, anterior half of case covered with coarse, irregularly-arranged mineral particles.



Figure 13. Larval cases, 1: fourth instar case, 2: fifth instar case, 3, case prior to pupation; Scale bar: 5 mm

Taxonomic remarks

Based on the standard morphological characters proposed by Waringer (1993), this larva is included in the “*permistus* group” (Schmid, 1957). The most important diagnostic features to distinguish this larva from other known *Stenophylax* species are as follows:

- Two yellow spots well defined in the posterior third of the head capsule and more conspicuous than in the other known species.
- The spinules on the head capsule arranged in a large area on the parietal dorsally and posteriorly of the eye, as in *S. crossotus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007). In *S. permistus* these spinules are distributed in two small, oval areas behind the eyes (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007).
- A row of setae along the anterior margin of the first abdominal hump characteristic for *Allogamus auricollis*, for example, but lacking in other *Allogamus* species, such as *A. gibraltarius* (González & Ruiz, 2001, see Ruiz-García *et al.*, 2004). This feature is shared also with *S. vibex* (Camargo & García de Jalón, 1988).
- The posterior region of each abdominal segment I lateral hump has two small separate sclerites, without setae, but with a central hole, as

in *S. crossotus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007), while *S. permistus* has three small separate sclerites (Waringer & Graf, 1997; Wallace *et al.*, 2003) and *S. sequax* has no sclerites in this region (Vieira-Lanero, 2000).

- Additional setae on the anterior and posterior faces of meso- and metathoracic legs, as in *S. crossotus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007), *S. permistus* (Waringer & Graf, 1997) and *S. sequax* (Wallace *et al.*, 2003).
- Eight setae (including 1–2 C-setae) at the posterior margin of the dorsal sclerite on the ninth segment, similar to *S. crossotus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007), while *S. permistus* has only 1 C-seta (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007).
- Larval case made up of mineral particles, straight or slightly curved, as in *S. sequax* (Vieira-Lanero, 2000); sometimes the posterior half is composed of plant fragments, like in *S. crossotus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007). The anterior half is much thicker in final instars near pupation. Otherwise, the larval case is straight and consists of plant material in *S. permistus* (Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007) and in *S. vibex* (Vieira-Lanero, 2000).

Identification key

A key is presented for the identification of *Stenophylax* larvae of the Iberian Peninsula, updating the previous key to the Iberian genera of the Limnephilidae of Camargo and García de Jalón (1988). This is done by replacing couplets 8 to 13 and adding other couplets based on previous works (Waringer & Graf, 1997, 2011; Vieira-Lanero, 2000; Wallace *et al.*, 2003; Ruiz-García *et al.*, 2004; Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007) and our own observations. Although *S. testaceus* belongs to genus *Stenophylax* (González, 2012, Morse, 2012), this species has not been included in the key in accordance with Vieira-Lanero (2000). This author suggested that this species must be

keyed together with genus *Melampophylax* Schmid, 1955 because ridges in the central concavity and teeth along the anterior edge of the mandible are lacking.

8. –At least one metathoracic femur with more than one setae in proximodorsal group (Waringer & Graf, 1997, 2011)..... **HALESUS**
 –No metathoracic femur with more than one seta in proximodorsal group (Waringer & Graf, 1997, 2011).....**9**
9. –Posterior region of abdominal segment I lateral hump without sclerites or with 1–3 small separate sclerites, each without setae, but with central hole (Waringer & Graf, 1997, 2011); additional setae sometimes on anterior and posterior faces of meso- and metathoracic legs**STENOPHYLAX**
 - 9.1 –Lateral humps of abdominal segment I each with 1–3 separate posterior sclerites, each without setae, but with central hole (Waringer & Graf, 1997, 2011) **9.2**
 –Lateral humps of abdominal segment I without posterior sclerites (Waringer & Graf, 1997, 2011)..... **S. sequax**
 - 9.2 –Additional setae present on anterior faces of meso- and metathoracic legs (Waringer & Graf, 1997, 2011) **9.3**
 - 9.3 –Additional setae on anterior faces of meso- and metathoracic legs lacking**S. vibex**
 - 9.4 –Spinules on head capsule arranged in large area on parietals dorsally and posteriorly of each eye (Waringer & Graf, 1997, 2011) **9.4**
 –Spinules on head capsule restricted to small patch behind each eye (Waringer & Graf, 1997, 2011).....**S. permistus**
 - 9.5 –Row of small setae along anterior edges of abdominal segment I lateral humps (Figure 10a)..... **S. nycterobius**

- Without row of small setae along anterior edges of abdominal segment I lateral humps ***S. crossotus***
- Posterior region of each lateral hump of abdominal segment I with big sclerite without setae, but with 1–3 holes (Waringer & Graf, 1997, 2011); without additional setae on anterior and posterior faces of meso- and metathoracic legs.....**10**
- 10.** –Distal-most spine on the ventral edge of each mesothoracic femur dividing it into two equal parts.....***ALLOGAMUS***
- Two spines on the ventral edge of each mesothoracic femur confined to proximal half..... **11**
- 11.** –One posterolateral seta on abdominal dorsum IX (Waringer & Graf, 1997, 2011)**12**
- More than one posterolateral seta on abdominal dorsum IX (Waringer & Graf, 1997, 2011)..... ***POTAMOPHYLAX***
- 12.** –Anteromedian sclerites of metanotum large and egg-shaped, distance between them smaller than their length (Lechthaler & Stockinger, 2005)***ANNITELLA***
- Anteromedian sclerites of metanotum more slender, distance between them greater than their length (Lechthaler & Stockinger, 2005) ***CHAETOPTERYX***

Habitat, ecological preferences and life cycle

The species was collected in permanent and temporary running waters and a lagoon of the Sierra Nevada mountains range. In the springs and the lagoon, the borders are covered by wet grasslands (“Borreguiles”) formed by the accumulation of meltwater and dominated by grasses such as matgrass (*Nardus stricta*), herbaceous plants as the starry saxifrage (*Saxifraga stellaris* ssp. *alpigena*) and the endemic plants *Plantago nivalis* and *Armeria splendens*, with different species of mosses such as *Poblia* aff. *wahlenbergii* and the aquatic plant

Callitriche stagnalis. At lower altitudes, we found riparian species as *Ulmus minor*, *Salix alba*, *Mentha longifolia*, *Betula pendula* subsp. *fontquer* as well as shrubs such as *Acer opalus* subsp. *granatense*, *Paeonia coriacea* or *Salvia lavandulifolia* among many others.

Lepneva (1966) stated that this species inhabits stony-bottom brooks with high current speeds. In our localities this species was found in streams with stony bottom as well, consisting of cobbles and gravel with patches of sand, but in slow current zones. Larvae were collected near shores at a water depth less than 50 cm or in the riverbed where the current velocities were low, less than 1.77 m/s. Thus it must be classified as a rheo- to limnophil species as was proposed by Graf *et al.* (2008).

The altitudinal preference recorded for *S. nycterobius* in high mountain ecoregions from Europe is below 1000 m, from planar (> 300 m) to submontane zones (800–1000 m) (Graf *et al.*, 2008). In the southern part of the Iberian Peninsula, this species has been found above this altitude. Particularly in Sierra Nevada, this species inhabits headwater streams located in the south side of the mountain range, from 1704 to 3050 m, showing an alpine (2400–2900 m) and subnival (2900–3100 m) altitudinal preference.

The physicochemical analyses revealed that larvae grow in cold (4.6 °C to 13.1 °C), well oxygenated (oxygen saturation: 52%–100%) and low mineralized waters (conductivity: 11.8–108.5 µS/cm) with a pH range of 6.8–8.9, typical characteristics of hypocrenal to epirhithral zone. These values agree to those given by Graf *et al.* (2008) for this species.

Accompanying Trichoptera species were *Rhyacophila nevada* Schmid, 1952, *Rhyacophila occidentalis* McLachlan, 1879, *Agapetus fuscipes* Curtis, 1834, *Philopotamus montanus* (Donovan, 1813), *Hydropsyche infernalis* Schmid, 1952, *Hydropsyche instabilis* (Curtis, 1834), *Plectrocnemia conspersa* (Curtis, 1834), *Micrasema longulum* McLachlan, 1876, *Micrasema moestum* (Hagen, 1868), *Lepidostoma basale* (Kolenati, 1848), *Anomalopterygella chauviniana* (Stein, 1874), *Limnephilus obsoletus* Rambur, 1842, *Halesus tessellatus* Rambur, 1842, *Annitella*

esparraguera Schmid, 1952, *Annitella iglesiasi* González & Malicky, 1988, *Athripsodes* cf. *tavaresi* (Navás, 1916) and *Sericostoma vittatum* Rambur, 1842.

As previously mentioned species of the “*Stenophylax*” group have a univoltine life cycle (Bouvet, 1974) and undertake long-distance flights for the spring migration from breeding sites to caves and for the autumn migrations in search of oviposition sites (Bournaud & Bouvet, 1969; Bouvet, 1972; Bouvet & Ginet, 1969; Filbá, 1974; Malicky, 1981; Malicky & Winkler, 1974; Salavert *et al.*, 2008). In Europe, *S. nycterobius* is on the wing from April–May to November (Bournaud & Bouvet, 1969; Bouvet & Ginet, 1969; Malicky, 1981).

An analysis of the population structure of *S. nycterobius* throughout the year showed a clearly univoltine life cycle in the Sierra Nevada (Figure 14). Phenological changes have been observed in relation with cycles described in other European and Iberian localities at lower altitude (Figure 14). In this mountain range, at altitudes above 2000 m a.s.l., the thaw does not begin until June or July. At this time, most larvae were already of last instars, and pupae were caught from the end of July to September. Adults emerged in September (Figure 14). However, in the “Barranco de Manuel Casas,” the stream situated at lower altitude with snowmelt starting early, larvae of second and fifth instars were found in April. Unlike findings in other studies (Bouvet, 1971, 1994; Botosaneanu, 1974; Salavert *et al.*, 2011), in the Sierra Nevada adults will not migrate into caves and undergo summer diapause before mating. Instead, oviposition takes place immediately after emergence, before the start of snowfall and the freezing of water courses. Larvae might undergo as very early instars, as found in other species living in high mountain rivers (Masaki, 1980; Lencioni, 2004). Aquatic ecosystems at high altitudes of the Sierra Nevada mountain range are particularly harsh because of its latitudinal and altitudinal position. Low temperatures in winter and very high temperatures in summer reduce the water availability because of frost and drought. These conditions promote the development of particular life cycle strategies to survive and reproduce in this type of habitat (Lencioni, 2004; Danks, 2007).

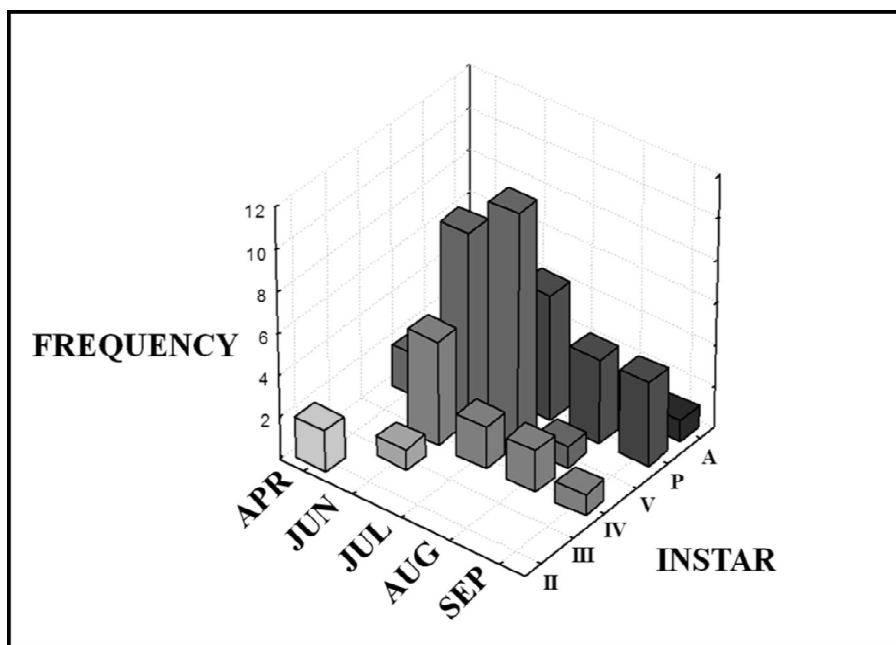


Figure 14. Life history diagram of *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875) (larval instar II to adults) in the Sierra Nevada, Spain.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research received support from the project ref: 039/2007 financed by the Organismo Autónomo de Parques Nacionales (O.A.P.N.) of the Spanish Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Funds were also provided by a pre-doctoral grant to Marta Sáinz-Bariáin by the Gobierno de Navarra and the Junta de Andalucía/Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) to investigation group RNM-102. Sierra Nevada National Park supplied logistic help and sampling permissions. We are very grateful to Alejandra Fernández and Modesto Berbel and all the people who helped us during field work, especially to Hydraena S.L. for help sampling in the “Laguna de Aguas Verdes.” We are also very grateful to Elena Sáinz for checking the English, to the editor Professor J.C. Morse and two anonymous reviewers for their valuable comments and suggestions towards the improvement of this manuscript.

REFERENCES

- Bellés, X. (1987). Fauna cavernícola de la Península Ibérica i les Illes Balears. Moll, Palma de Mallorca, 207 pp.
- Bonada, N., Zamora-Muñoz, C., El Alami, M., Múrrria, C. & Prat, N. (2008). New records of Trichoptera in reference mediterranean-climate rivers of the Iberian Peninsula and north of Africa: Taxonomical, faunistic and ecological aspects. *Graellsia*, **64**(2), 189–208.
- Botosaneanu, L. (1959). Reserches sur les Trichoptères cavernicoles, principalement sur ceux des collections Biospeologica. *Archives de Zoologie expérimentale et générale*, **97**(1), 32–50.
- Botosaneanu, L. (1966). Genurile *Stenophylax* Kol. Si *Micropterna* Stein in Romania. Prezentare cu caracter statistic. *Lucrarile Institutului de Speologie "Emil Racovita"*, **5**, 99–114.
- Botosaneanu, L. (1974). Notes descriptives, faunistiques, écologiques, sur quelques Trichoptères du "trio subtroglophile" (Insecta: Trichoptera). *Travaux de l'Institut de Speologie "Emile Racovitzu"*, **13**, 61–75.
- Botosaneanu, L. (1992). *Fauna Palestina VI: Trichoptera of the Levant (Imagines)*. The Israel Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem, 293 pp.
- Bournaud, M. (1971). Observations biologiques sur les Trichoptères cavernicoles. *Bulletin Mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, **7**, 196–211.
- Bournaud, M. & Bouvet, Y. (1969). Récoltes des Trichoptères dans les grottes de Chartreuse et dans la grotte du Crochet (Jura meridional). *Bulletin Mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, **5**, 139–147.
- Bouvet, Y. (1971). La diapause des trichoptères cavernicoles. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, **96**(4), 375–383.
- Bouvet, Y. (1972). La migration des Trichoptères cavernicoles. Mise en évidence par piégeage lumineux. *International Journal of Speleology*, **4**, 67–75.
- Bouvet, Y. (1974). Ecologie et reproduction chez les Trichoptères cavernicoles du groupe *Stenophylax* (Limnephilidae, Stenophylacini). In: Moretti, G.P. (Ed.), *Proceedings of the First International Symposium on Trichoptera*. Dr. W. Junk Publishers, The Hague, pp. 105–109.
- Bouvet, Y. (1994). Trichoptera. In: Juberthie, C. & Decu, V. (Eds.), *Encyclopedia Bioespeologica*. Société de Biospéologie, Moulis, pp. 327–331.
- Bouvet, Y. & Ginet, R. (1969). Données biologiques et biogéographiques sur le "groupe de *Stenophylax*" cavernicoles en France (Insectes Trichoptères). *Bulletin Mensuel de la Société Linnéenne de Lyon*, **10**, 334–349.
- Camargo, J.A. & García de Jalón, D. (1988). Principales características morfológicas de los géneros ibéricos de la familia Limnephilidae (Trichoptera), en sus últimos estadios larvarios. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **12**, 239–258.
- Danks, H. (2007). How aquatic insects live in cold climates. *The Canadian Entomologist*, **139**, 443–471.
- Décamps, H. & Magne, J. (1966). Contribution a l'étude de *Micropterna fissa* McL. et des trichoptères cavernicoles (*Stenophylax*, *Micropterna*, *Mesophylax*). *Annales de Limnologie*, **2**(3), 527–535.
- Denis, C. (1977). Larval and imaginal diapauses in Limnephilidae. In: Crichton, M.I. (Ed.), *Proceedings of the 2nd International Symposium on Trichoptera*. Dr. W. Junk Publishers, The Hague, pp. 109–115.
- Filbá, L. (1974). Contribución al conocimiento de los Tricópteros cavernícolas de Cataluña. In: Pedraforca, G.E. (Ed.), *Comunicacions IV Simposium*

- BioEspeleología. Escuela Catalana d'Espeleología*, Barcelona, pp. 21–35.
- Frochot, B. (1962). La larve de *Stenophylax permistus* McL. Travaux du Laboratoire de Zoologie et de la Station Agricole Grimaldi de la Faculté des Sciences de Dijon, 42.
- González, M.A. (2012). El Reino Animal en la Península Ibérica y las Islas Baleares. Orden Trichoptera. Familia Limnephilidae. www.fauna-iberica.mncn.csic.es/faunaib/arthropoda/insecta/trichoptera/limnephilidae.php. (accessed 16 April 2012).
- González, M.A., Terra, L.S.W., García de Jalón, D. & Cobo, F. (1992). *Lista faunística y bibliográfica de los Tricópteros (Trichoptera) de la Península Ibérica e Islas Baleares*. Asociación española de Limnología, Publicación n° 11, Madrid, 200 pp.
- Graf, W., Murphy, J., Dahl, J., Zamora-Muñoz, C. & López-Rodríguez, M.J. (2008) *Distribution and Ecological Preferences of European Freshwater Organisms. Volume 1. Trichoptera*. Pensoft, Sofia, 388 pp.
- International Barcode of Life Project. (2008). Trichoptera barcode of life. <http://trichopterabol.org/index.php>, (accessed 16 April 2012)
- Lechthaler, W. & Stockinger, W. (2005). *Trichoptera—Key to Larvae from Central Europe*. CD-Edition. (Eutaxa, Wien)
- Lencioni, V. (2004). Survival strategies of freshwater insects in cold environments. *Journal of Limnology*, **63**, 45–55.
- Lepneva, S.G. (1966). *Fauna SSSR, Rucheiniki, Lichinki i Kukolki Podotryada Tse'noshchupikovykh*. Zoologicheskii Institut Akademii Nauk SSSR, Moskva-Leningrad, 2(2), 560 pp. [Fauna of the U.S.S.R. Trichoptera, Larvae and Pupae of Integripalpia. Zoological Institute of the Academy of Science of the USSR, Moscow-St. Petersburg, volume 2, number 2. Translated by the Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem (1971), 638 pp.]
- Malicky, H. (1981). The phenology of dispersal of several caddisfly (Trichoptera) species in the Island of Crete. In: Moretti, G.P. (Ed.), *Proceedings of the 3rd International Symposium on Trichoptera*. Dr. W. Junk Publishers, The Hague, pp. 157–163.
- Malicky, H. (1987). Ecological and eidonomic trends in mediterranean Stenophylacini. In: Bournaud, M. & Tachet, H. (Eds.), *Proceedings of the 5th International Symposium on Trichoptera*. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, pp. 149–150.
- Malicky, H. (2004). *Atlas of European Trichoptera*, Second edition. Springer, 359 pp.
- Malicky, H. (2005). Ein kommentiertes Verzeichnis der Köcherfliegen (Trichoptera) Europas und des Mediterrangebietes. *Linzer biologische Beiträge*, **37**, 533–596.
- Malicky, H. (2011). Fauna Europaea version 2.4. <http://www.faunaeur.org>. (accessed 16 April 2012)
- Malicky, H. & Winkler, G. (1974). Untersuchungen über die Höhlenimmigration von *Micropterna nycterobia* (Trichoptera: Limnephilidae). *Oecologia*, **15**, 375–382.
- Masaki, S. (1980). Summer diapause. *Annual Review of Entomology*, **25**, 1–25.
- McLachlan, R. (1874-1884). *A Monographic Revision and Synopsis of the Trichoptera of the European fauna*. Napier Printers, London, 523 pp + 84 pp. (supplement) + 76 pp. (first additional supplement), 59 pls. + 7 pls. (first additional supplement).
- Moretti, G.P. (1983). Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. No 19. Tricotteri. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/196, Verona, 155 pp.
- Morse, J.C. (Ed.) (2012). Trichoptera World Checklist. <http://entweb.clemson.edu/database/trichopt/index.htm>. (accessed 16 April 2012).
- Ruiz-García, A. & Ferreras-Romero, M. (2007). The larva and life history of *Stenophylax*

- crossotus* McLachlan, 1884 (Trichoptera: Limnephilidae) in an intermittent stream from the southwest of the Iberian Peninsula. *Aquatic Insects*, **29**(1), 9–16.
- Ruiz-García, A., Salamanca-Ocaña, J.C. & Ferreras-Romero, M. (2004). The larvae of *Allogamus gibraltarius* González & Ruiz, 2001 and *Allogamus mortoni* (Navás, 1907) (Trichoptera, Limnephilidae), two endemic species of the Iberian Peninsula. *Annales de Limnologie—International Journal of Limnology*, **40**(4), 343–349.
- Salavert, V., Zamora-Muñoz, C. & Tinaut, A. (2011). Distribución de tricópteros troglófilos (Trichoptera, Limnephilidae) en cuevas andaluzas (Andalucía, España). *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **35**(3–4), 325–344.
- Salavert, V., Zamora-Muñoz, C., Ruiz-Rodríguez, M., Fernández-Cortés, A. & Soler, J.J. (2008). Climatic conditions, diapause and migration in a trogliphile caddisfly. *Freshwater Biology*, **53**(8), 1606–1617.
- Schmid, F. (1957). Les genres *Stenophylax* Kol., *Micropterna* St. et *Mesophylax* Mc.L. (Trichopt. Limnoph.). *Trabajos del Museo de Zoología*, **2**(2), 3–49.
- Vieira-Lanero, R. (2000). Las larvas de los Tricópteros de Galicia (Insecta:Trichoptera). Unpublished Ph.D. dissertation, University of Santiago de Comostela, 612 pp.
- Wallace, I.D., Wallace, B. & Philipson, G.N. (2003). *A Key to the Case-bearing Caddis Larvae of Britain and Ireland*. Freshwater Biological Association Scientific Publication 61, Liverpool, 259 pp.
- Waringer, J.A. (1993). The larva of *Halesus rubricollis* (Pictet, 1834) (Trichoptera: Limnephilidae) from an Austrian mountain brook. *Aquatic Insects*, **15**, 249–255.
- Waringer, J. & Graf, W. (1997). Atlas der Österreichischen Köcherfliegenlarven: Unter Einschluss der angrenzenden Gebiete. Facultas-Universitätsverlag, Vienna, 286 pp.
- Waringer, J. & Graf, W. (2011). Atlas der mitteleuropäischen Köcherfliegenlarven—Atlas of Central European Trichoptera Larvae. Erik Mauch Verlag, Dinkelscherben, Germany, 468 pp.
- Wiggins, G.B., Mackay, R.J. & Smith, I.M. (1980). Evolutionary and ecological strategies of animals in annual temporary pools. *Archives für Hydrobiologia Supplement* **58**, 1–2, 97–206.
- Williams, D. (2006). *The Biology of Temporary Waters*. Oxford University Press, New York, 337 pp.
- Williams, N. & Wiggins, G. (1981). A proposed setal nomenclature and homology for larval Trichoptera. In: Moretti, G.P. (Ed.), *Proceedings of the 3rd International Symposium on Trichoptera*. Dr. W. Junk publishers, The Hague, pp. 421–429.

Capítulo 3

Larval description of *Annitella esparraguera* (Schmid, 1952) and *Annitella iglesiasi* González & Malicky, 1988 (Trichoptera: Limnephilidae), two endemic species from Southern Europe



Adultos en cópula de *Annitella esparraguera* (Schmid, 1952), Borreguiles del río Monachil, otoño 2009

Abstract

The descriptions of the hitherto unknown larvae of *Annitella esparraguera* and *A. iglesiasi*, two European endemic species from the south of the Iberian Peninsula are presented. The most important diagnostic features are illustrated and some taxonomic, zoogeographical and ecological notes are given. In addition, a previous key is modified to include these two new Iberian Limnephilidae larvae.

Keywords: taxonomy; larva; key; distribution; Iberian Peninsula

Manuscrito:

Sáinz-Bariáin, M. & Zamora-Muñoz, C. (enviado). Larval description of *Annitella esparraguera* (Schmid, 1952) and *Annitella iglesiasi* González & Malicky, 1988 (Trichoptera: Limnephilidae), two endemic species from Southern Europe. *Zootaxa*

INTRODUCTION

Annitella Klapálek, 1907 is a Palearctic genus comprised of 14 species (Oláh & Kovács, 2012; Malicky, 2013). Only one species, *A. obscurata* McLachlan, 1876, is widely distributed, from Scandinavia to the Spanish Pyrenees (González *et al.*, 1992; González & Martínez-Menéndez, 2011). The rest of species are endemic to a single mountain or inhabit several nearby mountain ranges. Six species are endemics from mountain ranges of the Iberian Peninsula [*A. amelia* Sipahiler, 1998, *A. cabeza* Sipahiler, 1998, *A. esparraguera* (Schmid, 1952), *A. iglesiasi* González & Malicky, 1988, *A. lalomba* Sipahiler, 1998 and *A. sanabriensis* (González & Otero, 1985)]. One is endemic from the Pyrenees [*A. pyrenaea* (Navás, 1930)], two from the Carpathians [*A. chomiacensis* (Dziedzielewicz, 1908), and *A. lateroproducta* (Botosaneanu, 1952)], and other three species are endemic from the Balkans [*A. apfelbecki* (Klapálek, 1899), *A. ostronicensis* Oláh & Kovács, 2012 and *A. triloba* Marinkovic-Gospodnetic, 1957]. The last one, *A. thuringica* (Ulmer, 1909), is distributed in the Alps and the Carpathians. Although the available information about the biology of this genus is still very limited, it is known that those species dwell in high mountain streams and brooks in low flow speed microhabitats and are univoltine with autumnal flight period (Graf *et al.*, 2008).

In the Iberian Peninsula, five of those endemism are distributed in the northern half and two in the southern. *A. cabeza* and *A. lalomba* have been recorded only in their type locality, north western Spain and the Cantabrian mountains (Spain), respectively (Sipahiler, 1998). *A. amelia* has been found in the Serra da Estrêla (north of Portugal) and Cabeza de Manzaneda (north western Spain; Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz, 2012). *A. pyrenaea* occurs all along the Pyrenean Mountains, while *A. sanabriensis* is widely distributed in different mountains in the northern half of Spain (Sipahiler, 1998), as the Sierra de Ancares or the Sierra de la Demanda (González & Otero, 1985 en Sipahiler, 1998; González *et al.*, 1992). Regarding *A. esparraguera* and *A. iglesiasi* they occur only in southern Spain, being endemic of the Betic ranges. *A.*

esparraguera dwells in the Sierra Nevada, the Sierra de Baza and the Sierra de Cazorla, and *A. iglesiasi* is exclusive of the Sierra Nevada mountain range (Zamora-Muñoz *et al.*, 2012; Sáinz-Bariáin *et al.*, 2013). In accordance with Sipahiler (1998), the *Annitella* species of the Iberian Peninsula present two morphological groups, based on their male genitalia structure: *A. esparraguera* is linked with *A. amelia*, *A. cabeza*, *A. lalomba*, *A. pyrenaea* and *A. sanabriensis*; and *A. iglesiasi* is linked to the widely distributed species in Europe, *A. obscurata*. The first group of species are included in the subgenus *Annitella* while the second one to the subgenus *Praeannitella* (Morse, 2014).

Otherwise, *Annitella* genus belongs to the tribe Chaetopterygini Hagen, 1858. This tribe gathers several genera all with Palearctic distribution (Vieira-Lanero, 2000; Holzenthal *et al.*, 2007). Many species of Chaetopterygini caddisflies are endemic to single mountain ranges or small areas (Malicky, 1994), as *Annitella* species. In the Iberian Peninsula this tribe is only represented by the genera *Annitella* and *Chaetopteryx* Stephens, 1829 (Vieira-Lanero, 2000; González, 2013). Morphologically, the tribe Chaetopterygini shows similarities to the Stenophylacini Schmid, 1955. Although adults can be easily distinguished, larvae are quite similar and, in early stages, it is difficult to find diagnostic features to separate them. The fifth instar larvae of the genus *Halesus* Stephens, 1836 from the tribe Stenophylacini are easily distinguishable of *Annitella* and *Chaetopteryx*. But about one-third of *Halesus* third instar larvae cannot be safely separated from the rest of the species of the two previous genera (Wallace *et al.*, 2003). Moreover, to emphasize the larval taxonomic difficulty of these groups, it is noteworthy that *Chaetopteryx fusca* Brauer, 1857 and *C. villosa* (Fabricius, 1798) are not morphologically separable, just possible because its distribution (Waringer & Graf, 2011).

Due to these taxonomical difficulties and their narrow distribution, only few *Annitella* larvae have been described and included in keys until now. *A. obscurata* was described by Lepneva (1966) and has been keyed by Waringer & Graf (1997), Lechthaler & Stockinger (2005) and Waringer *et al.* (2011). *A.*

thuringica was described by Bolzhuber (1998) and recently included in the new Atlas of Central European caddisfly species by Waringer *et al.* (2011). Finally, *A. apfelbecki* was described by Waringer *et al.* (2009).

The aim of this article is to describe and illustrate the most important diagnostic features of the larvae of *A. esparraguera* and *A. iglesiasi*. Some relevant taxonomical aspects that are useful to identify the larvae and to distinguish them from other species of the same tribe are included. Moreover, a previous key of the Limnephilidae (Waringer & Graf, 2011) is modified to allow the identification of these two new described *Annitella* larvae. Information on the habitat and accompanying caddisfly species are also included.

MATERIAL AND METHODS

Both species were collected in more than 10 sites across the Betic ranges, specifically in the Sierra Nevada, the Sierra de Baza and the Sierra de Cazorla (Table 1) from June to September 2008 and from March to November 2009.

The larvae were collected by Hess-sampler with a sampling area of 0.0227 m² and a mesh size of 500 µm and “kick sampling” using a 30 cm wide hand net (mesh size of 500 µm). In addition, fifth instar larvae and pupae of both studied species were reared in the laboratory, thereby ensuring the association between larvae and adults. Moreover, adults were caught with light-traps in order to confirm the presence of these species in each locality. Furthermore, because of their morphological similarities and the presence of both species in some of the sampled sites, adults and larvae were genetically sequenced in the Natural History Museum of London to distinguish each species (Zamora-Muñoz *et al.*, 2012; Múrria *et al. in prep.*). This methodology enabled us to work out reliable diagnostic characters of *A. esparraguera* and *A. iglesiasi*.

A total of 20 fifth instar larvae of *A. esparraguera* and 20 fifth instar larvae of *A. iglesiasi* were measured to describe and characterize the larval morphology of both species. The larvae were studied and photographed using

a MOTIC SMZ-168 stereo zoom microscope with a Moticam® 2000 Digital Camera and the Motic® Images 2.0 software. The measurements, in millimetres, are given as a range. Mean value \pm SE and the number of individuals (N), when this differs from 20 because of some damage of the larvae, are shown in parentheses. Setal nomenclature and terminology follows Williams & Wiggins (1981) and Wallace *et al.* (2003).

Table 1. Stream, locality, altitude and geographical localization of the sites where inhabit *Annitella esparraguera* and *A. iglesiasii*,

STREAM	LOCALITY	ALTITUDE	X_UTM	Y_UTM	SPECIES
SIERRA NEVADA					
Tejos	Huéneja	1500	504076	4107093	<i>A. iglesiasii</i>
Pasillos	Los Pasillos	1646	493948	4107674	<i>A. esparraguera</i> / <i>A. iglesiasii</i>
Manuel Casas	Carril del Robledal.	1704	460987	4105369	<i>A. iglesiasii</i>
Laroles	Área Recreativa Laroles	1753	495909	4102162	<i>A. esparraguera</i> / <i>A. iglesiasii</i>
Alhama	Dehesa del Camarate	2150	477554	4112204	<i>A. esparraguera</i> / <i>A. iglesiasii</i>
Monachil	Borreguiles de Monachil	2679	465816	4103202	<i>A. esparraguera</i>
Dílar	Borreguiles de Dílar	2855	466148	4101564	<i>A. esparraguera</i>
SIERRA DE BAZA					
Gor	Nacimiento	1773	513147	4133118	<i>A. esparraguera</i>
SIERRA DE CAZORLA					
Guadalquivir	Nacimiento	1378	505475	4194974	<i>A. esparraguera</i>

RESULTS AND DISCUSSION

Description of the final (5th) instar larva and case of Annitella esparraguera and Annitella iglesiasii

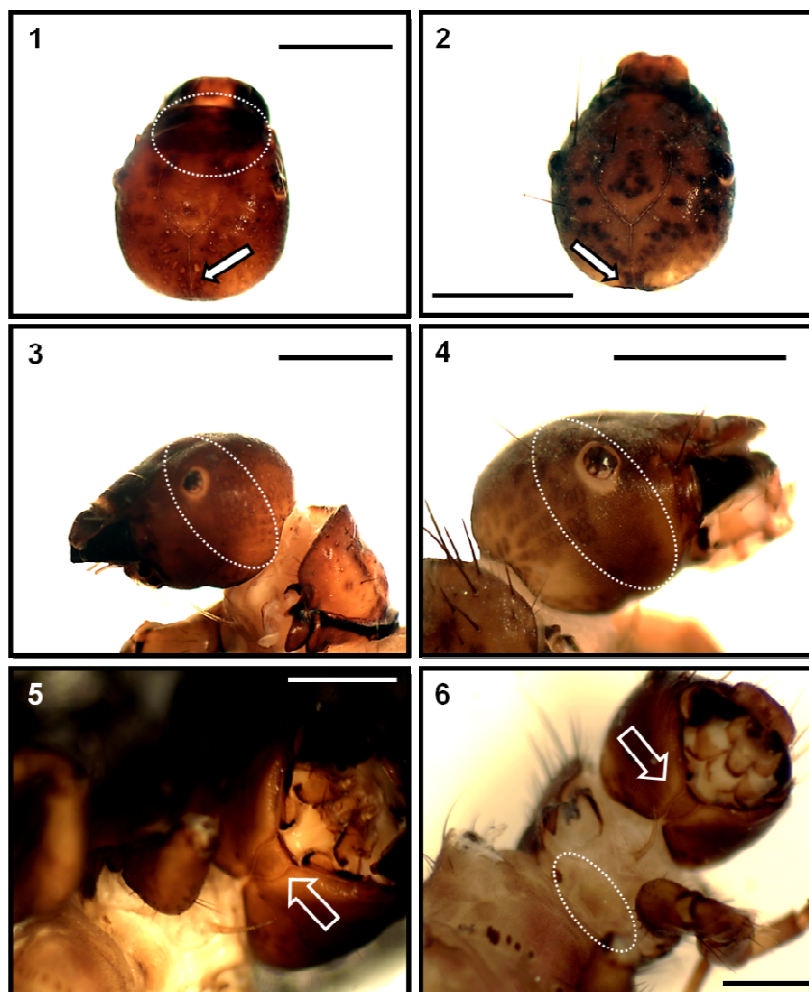
Because of the morphological similarities between the larvae of these two species and to avoid repetitions, both species descriptions are made simultaneously.

Body measurements

The body length of fifth instar larvae ranges from 10.38 to 14.00 mm (mean \pm SE = 12.20 \pm 0.39 mm, N = 12) in *A. esparraguera* and from 8.20 to 12.5 mm (mean \pm SE = 10.26 \pm 0.07 mm) in *A. iglesiasi*. The body width, in the same sequence of species, ranges from 2.20 to 3.00 mm (mean \pm SE = 2.64 \pm 0.08 mm, N = 14) and from 1.60 to 2.7 mm (mean \pm SE = 2.05 \pm 0.06 mm).

Head capsule

The head length ranges from 1.10 to 1.70 mm (mean \pm SE = 1.37 \pm 0.04 mm) in *A. esparraguera* and from 1.00 to 1.28 mm (mean \pm SE = 1.12 \pm 0.02 mm) in *A. iglesiasi*. The head width, in the same sequence of species, ranges from 1.24 to 1.60 mm (mean \pm SE = 1.41 \pm 0.03 mm) and from 1.06 to 1.25 mm (mean \pm SE = 1.15 \pm 0.01 mm). The head capsule and frontoclypeal apotome are brown in colour with darker anterior third in *A. esparraguera* (Figure 1, see area surrounded by a ring) and homogeneous medium brown to yellowish brown in *A. iglesiasi* (Figure 2). Numerous and conspicuous muscle attachment spots are clearly visible in both species; being surrounded by a darker shade in *A. iglesiasi* and especially evident on each side of the coronal suture (Figures 1, 2, arrows). Cephalic spinules cover large areas on genae and on the frontoclypeus in both species (Figures 3, 4, rings). Labrum presents similar shape and coloration in both species, with the anterior part lighter than the posterior part. Both species present black in colour mandibles (Figures 3, 4), with teeth along anterior edge as well as ridges in central concavity. They both present a yellow shadow ring around the eyes (Figures 3, 4). Ventral apotome is light brown in colour and amphora-shaped in *A. esparraguera* (Figure 5, arrow), with a length range of 0.30 – 0.44 mm (mean \pm SE = 0.36 \pm 0.01 mm) and a width range of 0.16 – 0.20 mm (mean \pm SE = 0.18 \pm 0.01 mm), while in *A. iglesiasi* is darker and narrow (Figure 6, arrow), with a length range of 0.26 – 0.44 mm (mean \pm SE = 0.32 \pm 0.01 mm) and a width range of 0.08 – 0.18 mm (mean \pm SE = 0.12 \pm 0.01 mm).



Figures 1–6. (1–2) Head capsule, dorsal view of (1) *Anitella esparraguera* (Schmid, 1952) and (2) *A. iglesiasi* González & Malicky, 1988; (3–4) head capsule, lateral view of (3) *A. esparraguera* and (4) *A. iglesiasi*; ring: dark anterior area, arrows: muscle attachment spots; (5–6) head capsule, ventral view of (5) *A. esparraguera* and (6) *A. iglesiasi*; arrows: ventral apotome. Scale bar: 1 mm.

Thorax

The pronotum length ranges from 0.66 to 1.05 mm (mean \pm SE = 0.91 ± 0.02 mm) in *A. esparraguera* and from 0.70 to 1.00 mm (mean \pm SE = 0.81 ± 0.02 mm) in *A. iglesiasi*. The pronotum width, in the same sequence of species, ranges from 1.18 to 1.61 mm (mean \pm SE = 1.38 ± 0.03 mm) and from 1.00 to 1.36 mm (mean \pm SE = 1.15 ± 0.01 mm). The pronotum is

composed of two yellowish brown sclerites in both species, although slightly darker in *A. iglesiasi*, with a transversal rim at the anterior third and a black continue band on posterior edges (Figures 7, 8; p). Both species present a darker area at the anterior third (Figures 7, 8; black arrows). They both wear numerous setae, darker in *A. iglesiasi*, and conspicuous muscle attachment spots; being surrounded by a darker shade in *A. iglesiasi*.

Pentagonal central prosternite width and length of equal size in *A. iglesiasi* (Figure 6; ring). In *A. esparraguera*, width of central prosternite is 1.5-2 times its length (Figure 9; arrow).

The mesonotum length ranges from 0.60 to 1.12 mm (mean \pm SE = 0.84 ± 0.04 mm) in *A. esparraguera* and from 0.50 to 1.02 mm (mean \pm SE = 0.79 ± 0.03 mm) in *A. iglesiasi*. The mesonotum width, in the same sequence of species, ranges from 1.24 to 1.80 mm (mean \pm SE = 1.47 ± 0.03 mm) and 1.06 to 1.40 mm (mean \pm SE = 1.23 ± 0.02 mm). The mesonotum colouration pattern is similar in both species, composed of two light brown subrectangular sclerites with yellowish spots at the bottom of each sclerite and a dark subtriangular spot in the posterolateral corner (Figures 7, 8, 10; *ms*). It continues with a thin band on the posterior edges, lighter when in contact with the yellowish spot. Counts for mesonotal setae area as follow: anterior setal group *sa1*: 2-7; posterior group *sa2*: 6-15; lateral group *sa3*: 6-14 in *A. esparraguera*, and *sa1*: 2-7; *sa2*: 5-11; *sa3*: 4-19 in *A. iglesiasi*.

The metanotum is membranous partially covered of small and yellowish brown sclerites in both species (Figures 8, 10; *mt*). Metanotal *sa1*, *sa2*, and *sa3* sclerites well developed; *sa1* sclerites each bearing 7-13 setae in *A. esparraguera* and 5-10 setae in *A. iglesiasi*. In both species, the anteromedian sclerites are small and narrow, almost rectangular (Figures 8, 10), situated in a shady area (Figures 8, 10; rings). Their median separation is larger than their dimension along the longitudinal body axis. Median distance ranges from 0.08 to 1.40 mm (mean \pm SE = 0.23 ± 0.06 mm) in *A. esparraguera* and from 0.08 to 0.38 mm (mean \pm SE = 0.17 ± 0.02 mm) in *A. iglesiasi*. Anteromedian sclerites

length, in the same sequence of species, ranges from 0.12 to 0.24 mm (mean \pm SE = 0.18 ± 0.01 mm) and from 0.10 to 0.18 mm (mean \pm SE = 0.13 ± 0.01 mm). The median margins of anteromedian metanotal sclerites not always divergent in posterior direction in both species (Figures 8, 10; dotted line). In both species, the posterior metanotal sclerites, *sa2* are triangular, bearing 5-13 setae in *A. esparraguera* and 5-11 setae in *A. iglesiasi* and with a row of tiny sclerites and setae between them, 4-10 setae in *A. esparraguera* and 3-8 setae in *A. iglesiasi* (Figures 8, 10; white arrows). In both species, the lateral metanotal sclerites, *sa3*, are narrow and elongates with 11-19 setae in *A. esparraguera* and 6-17 setae in *A. iglesiasi*, both in the anterior third of the sclerite. A small group of 1-7 setae in *A. esparraguera* and 0-2 setae in *A. iglesiasi* are present between each anteromedian (*sa1*) and lateral (*sa3*) sclerites.

Legs in both *Annitella* species are light brown with a darker dorsal area in the coxa and very dark muscle attachment spots (Figure 11). Meso- and metathoracic legs have no additional setae on anterior and posterior faces in both species (Figures 11-15).

Abdomen

Both *Annitella* species present the first abdominal segment shadier than the rest of the abdomen, with three fleshy protuberances (Figures 16, 17); one prominent triangular dorsal (Figure 16, red arrow) and two laterals protuberances, lacking of a row of setae along their anterior margin (Figures 16, 17, ring). Dorsal setal areas, *sa1*, *sa2* and *sa3*, are fused on a large group of setae on small sclerites placed anteriorly to the dorsal protuberance (Figures 10, 18): 28-69 setae in *A. esparraguera* (Figure 10) and 18-33 setae in *A. iglesiasi* (Figure 18). *A. esparraguera* may have a single seta posteriorly to the dorsal protuberance but none in *A. iglesiasi* (Figures 10, 18; red arrows). Both species present a large sclerite without setae and with 1-3 holes in the posterior region of each lateral hump (Figures 16, 17; black arrows). Setal counts of first abdominal sternum (Figures 19-20), are 30-58 in *A. esparraguera* (Figure 19) and 32-57 in *A. iglesiasi* (Figure 20). Both species present brown basal sclerites

widely separated from each other and occasionally two setal bases touch each other (Figures 19-20; black arrows). At the dorsum of the eighth abdominal segment, the number of posterodorsal setae (Figure 21; *pds*) is 8–16 in *A. esparraguera* and 4-11 setae in *A. iglesiasi*. In both species the ninth abdominal tergite usually with 8 long black and several short setae at the posterior edge (Figure 22; A-setae is longer than C-setae (A = innermost pair, C = next-innermost pair, occasionally two C-seta in *A. esparraguera*). Both species show only one posterolateral seta in ninth abdominal dorsum (Figure 23, arrow) and two pairs of setae ventrally, outer longer than inner (Figure 24, ring). Anal claws each with accessory hook on dorsal side in both species.

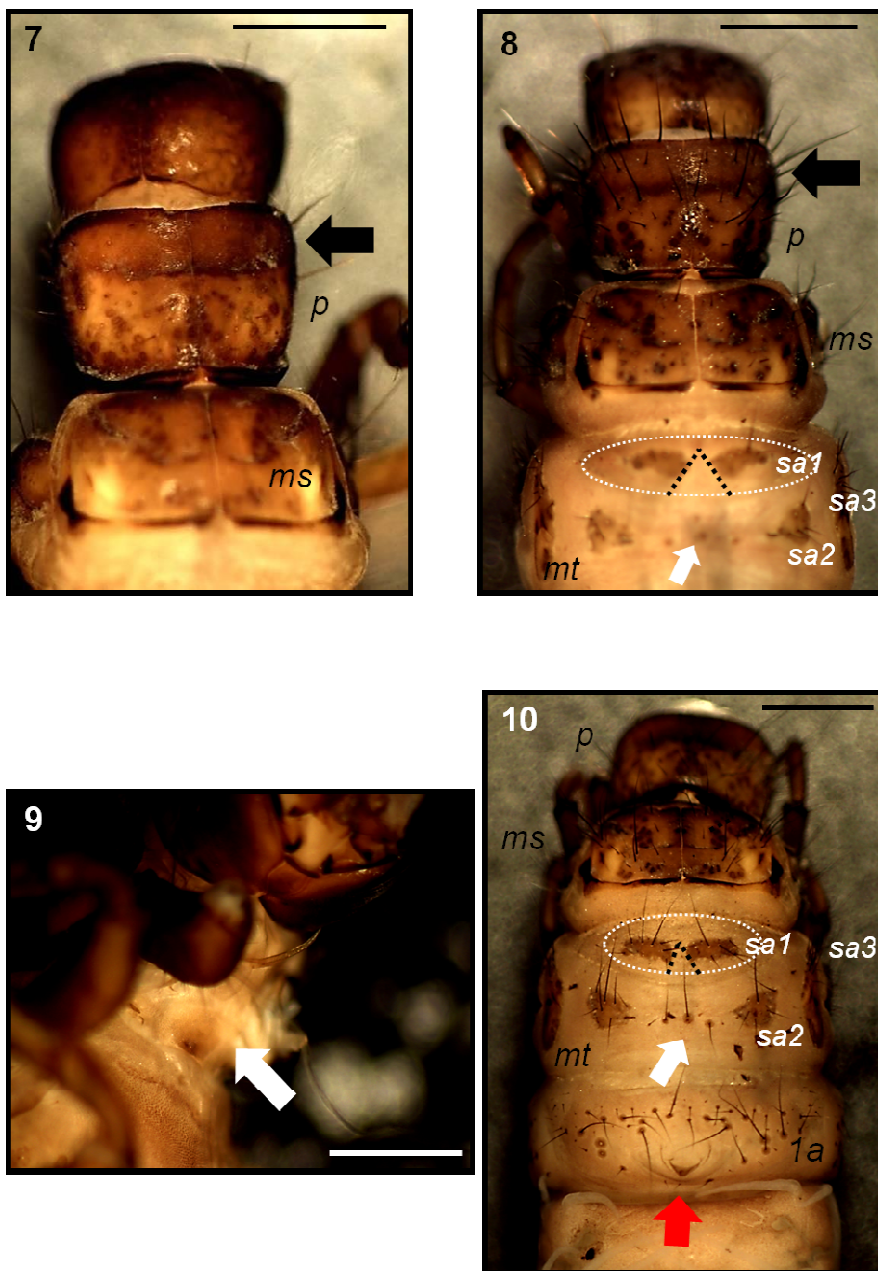
All gills are single filaments in both species. Dorsal gills are present from the second (presegmental position) to the fifth (presegmental position) and ventral gills from the second (presegmental) to the seventh segment (presegmental) in both species. Dorsolateral gills are present from the third (presegmental) to the fourth (presegmental position) in both species. Ventrolateral gills are present from the second segment (postsegmental) to the third (postsegmental) in both species.

Lateral fringe generally starts at the anterior third of the third abdominal segment (occasionally is present from the last third of the second segment) in both species (Figures 16, 17; white arrows) and extends to the end of the eighth abdominal segment in both species.

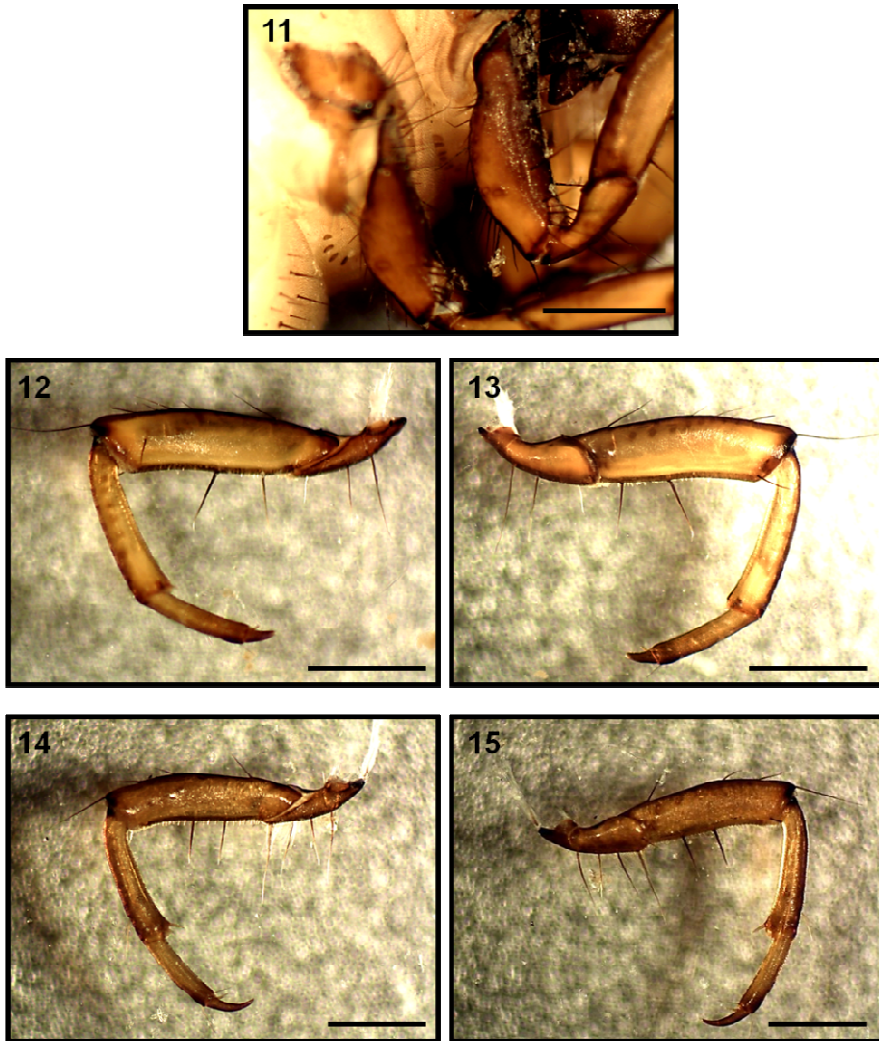
Larval case

The larval case length ranges from 9.00 to 14.38 mm (mean \pm SE = 12.04 ± 0.34 mm, N = 17) in *A. esparraguera* and from 9.00 to 13.5 mm (mean \pm SE = 10.72 ± 0.31 mm) in *A. iglesiasi*. The larval case width, in the same sequence of species, ranges from 2.60 to 3.88 (mean \pm SE = 3.18 ± 0.09 mm, N = 17) and from 1.80 to 3.00 mm (mean \pm SE = 2.61 ± 0.07 mm).

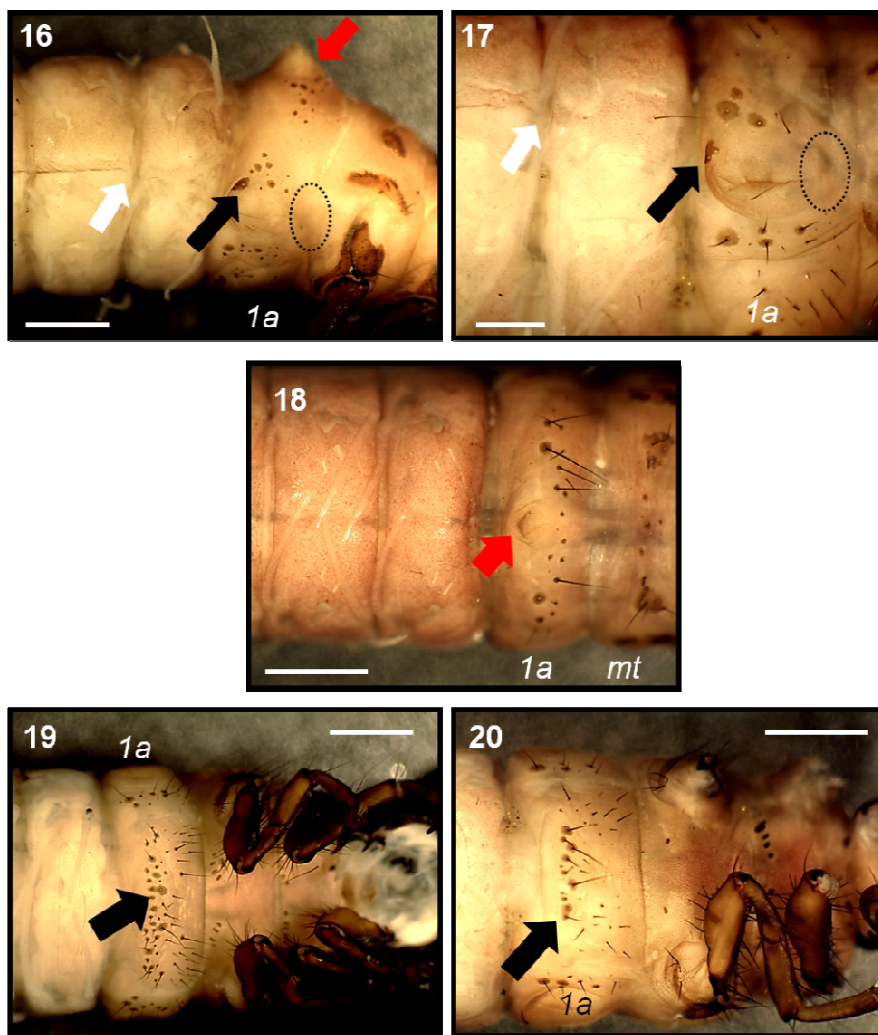
The cases of both species are straight (or quasi) and made of fragments of vegetal material mixed with mineral particles (Figures 25, 26).



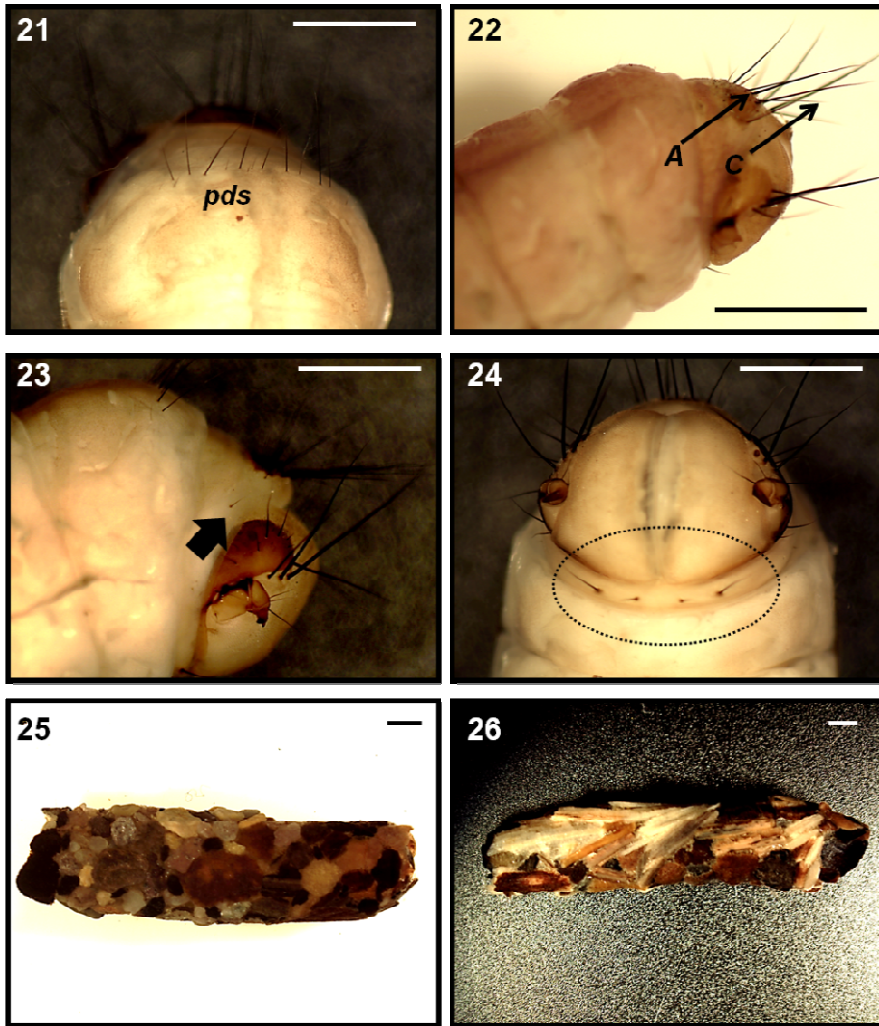
Figures 7–10. (7–8, 10) Head and thorax, dorsal view of (7, 10) *A. esparraguera* and (8) *A. iglesiasi*; *p* = pronotum; *ms* = mesonotum; *mt* = metanotum; *sa*1–3 = setal areas 1, 2, and 3, respectively; *1a*; first abdominal segment; black arrows: dark anterior area of pronotum; white ring: anteromedian sclerites area; dotted lines: median margins of anteromedian metanotal sclerites; white arrows: sclerites and setae between posterior metanotal sclerites; red arrow: seta posteriorly to the dorsal protuberance; (9) prosternite of *A. esparraguera*. Scale bar: 1 mm.



Figures 11–15. (11) Coxa of meso- and metathoracic legs of *A. esparraguera*; (12–13) Mesothoracic leg of *A. esparraguera*, (12) anterior face and (13) posterior face; (14–15) Metathoracic leg of *A. iglesiasi*, (14) anterior face and (15) posterior face. Scale bar: 1 mm.



Figures 16–20. (16–17) Abdomen, lateral view of (16) *A. esparraguera* and (17) *A. iglesiasi*; *1a*: first abdominal segment; red arrow: dorsal protuberance; ring: lack of setae along the anterior margin of the lateral protuberances; black arrows: posterior sclerite on lateral protuberances at first abdominal segment; white arrows: start of the lateral fringe; (18) metathorax and abdominal segments I-III, dorsal view of *A. iglesiasi*; *mt*: metanotum; *1a*: first abdominal segment; red arrow: lack of setae posteriorly to the dorsal protuberance; (19–20) first abdominal sternum, ventral view of (19) *A. esparraguera* and (20) *A. iglesiasi*; *1a*: first abdominal segment; black arrows: two setal bases touch each other. Scale bar: 1 mm.



Figures 21–26. (21) Tip of abdomen of *A. esparaguera*, dorsal view; *pds*: row of posterodorsal setae on segment VIII; (22) tip of abdomen of *A. iglesiasi*, lateral view; setal nomenclature of tergite IX; (23–24) tip of abdomen of *A. esparaguera*, (23) lateral view and (24) ventral view; arrow: one posterolateral setae on the abdominal segment IX; ring: two pairs of setae on ventral side; (25–26) cases of fifth instar larvae of (25) *A. esparaguera* and (26) *A. iglesiasi*. Scale bar: 1 mm.

Taxonomic remarks

Based on the standard morphological characters proposed by Waringer (1993), these larvae belong to the auricollis species group along with other species of the genus *Chaetopteryx*:

- In both species, abdominal gills consisting only of single filaments (Figures 16-18);
- metanotum with two anteromedian sclerites (Figures 8, 10);
- pronotum with transverse rim at the anterior third and without depressions, dorsal humps or ridges (Figures 7, 8);
- posterior region of first abdominal lateral protuberance with a large sclerite without setae but with 1-3 holes; without setae on faces of second and third femora (Figures 16, 17; black arrows);
- mandibles with teeth along edges (Figures 3, 4);
- one proximo-dorsal seta present on third femur (Figures 12-15);
- one postero-lateral seta present on ninth dorsum (Figure 23).

In the literature, the larvae of the *Annitella* species have been keyed out separately from other species by the shape of the anteromedian sclerites of the metanotum (Lechthaler & Stockinger, 2005; Waringer & Graf, 2011). However, in the *Annitella* species described here (*A. esparraguera* and *A. iglesiasi*) this character differs with that of the previously described species. In order to solve this controversy, the most important diagnostic features to distinguish these larvae between them and from other known *Annitella* species are listed:

- Ventral apotome light brown in colour in *A. esparraguera* (Figure 5, arrow), while in *A. iglesiasi* is darker and narrow (Figure 6, arrow).
- Unlike other *Annitella* species, anterior third of pronotum of *A. esparraguera* and *A. iglesiasi* darker than the posterior section (Figures 7, 8). At this point, *A. esparraguera* and *A. iglesiasi* are keyed out together to *Consortophylax styriacus* Botosaneanu, 1967 and *C. consors* (McLachlan,

1880) (Waringer & Graf, 2011).

- Pentagonal central prosternite width and length of equal size in *A. iglesiasi* (Figure 6; arrow) and *A. thuringica* (Waringer & Graf, 2011). In *A. esparraguera* (Figure 9; ring) and *A. obscurata* (Waringer & Graf, 2011), width of central prosternite is 1.5-2 times its length.
- Anteromedian metanotal sclerites small and narrow; their median separation is larger than their dimensions along the longitudinal body axis (Figures 8, 10). In the rest of described species, they are large and ovoid and their median separation is as small as or smaller than their dimensions along the longitudinal body axis (Lechthaler & Stockinger, 2005; Waringer & Graf, 2011).
- In contrast with the previously described *Annitella*, median margins of anteromedian metanotal sclerites not always strongly divergent in posterior direction (Figures 8, 10, dotted line).
- In *A. iglesiasi*, lack of a small row of seta posteriorly to the dorsal protuberance at the first abdominal segment as in the other described *Annitella* species (Figure 18; red arrows). *A. esparraguera* may present a single seta posteriorly to the dorsal protuberance (Figures 10, red arrows).

Identification key

In order to complete the information for this European genera, a key is presented for the identification of these two *Annitella* larvae, updating the previous key which include two other described species, *A. obscurata* and *A. thuringica* (Waringer & Graf, 2011; KEY TO DRUSINAE, CHAETOPTERYGINI & STENOPHYLACINI, page 150 to 187).

42. Anterior third of pronotum significantly darker in colour than the posterior section of the pronotum (Waringer & Graf, 2011, Pag. 181; Fig. 78a); with light areas in postero-dorsal position of the eyes (Waringer & Graf, 2011, Pag. 181; Fig. 78b)

(*Conсорophylax styriacus*, *C. consors*, *Annitella esparraguera*, *A. iglesiasii*)

42.1-Head capsule with a paler area near the posterior margin (Lechthaler & Stockinger, 2005; Waringer & Graf, 2011, Pag. 181; Fig. 78b); case built of mineral particles (Lechthaler & Stockinger, 2005)..... **42.2**

-Head capsule without a paler area near the posterior margin, in any case lighter coloration in the parietal area but not on the coronal suture (Figure 1-4); case built of mixed mineral and vegetal particles **42.3**

42.2.-Sclerites on the ventral side of the first abdominal segment differing in size (Lechthaler & Stockinger, 2005)....

..... ***C. consors***

-All sclerites on the ventral side of the first abdominal sternum small and of nearly equal size (Lechthaler & Stockinger, 2005)..... ***C. styriacus***

42.3.Ventral apotome light brown in colour and amphora-shaped (Figure 5, arrow); width of central prosternite is 1.5-2 times its length (Figure 9, arrow)..... ***A. esparraguera***

-Ventral apotome is darker and narrow; width and length of pentagonal central prosternite are equal (Figure 6, arrow and ring respectively) ***A. iglesiasii***

-Pronotum concolorous..... **43**

(Continue to *A. obscurata* & *A. thuringica*)

Habitat and ecological preferences

These species were collected in permanent and temporary running waters of Betic mountain ranges (the Sierra Nevada, the Sierra de Baza and the Sierra de Cazorla, Table 1). In the upper springs of the Sierra Nevada, riversides are covered by wet grasslands (“Borreguiles”) formed by the accumulation of meltwater and dominated by grasses. At lower altitudes, riparian species as *Ulmus minor*, *Salix alba*, *Mentha longifolia*, *Betula pendula* subsp. *fontquer* as well as shrubs such as *Acer opalus* subsp. *granatense*, *Paeonia coriacea* or *Salvia lavandulifolia*, are found in the shores of the rivers. The Sierra de Baza is characterized by a large area of pine of reforestation although there are still some areas with Mediterranean native species such as *Quercus ilex*, *Pinus sylvestris* and *P. nigra*, *Acer opalus* subsp. *granatense* and *Juniperus sabina*. Similar vegetation is found in the Sierra de Cazorla, mainly represented by different pines species such as *P. nigra* or *P. halepensis*, and some riparian species such as *Fraxinus excelsior*, *Salix alba* or *Populus alba* appear along the rivers.

Larvae of both species were collected in streams near shores at a water depth less than 50 cm or in the riverbed in places with low water flow, less than 2 m/s. Despite both species being classified as a rheophil species by (Graf *et al.*, 2008), we consider more appropriate a Limnol- to rheophil classification.

The altitudinal preference recorded for the different species of this genus in high mountain ecoregions from Europe is below 1000 m, from planar (> 300 m) to alpine zones (2400–2900 m) (Graf *et al.*, 2008). In the Sierra Nevada, *A. esparraguera* inhabits headwater streams located from 1646 to 2855 m, showing a montane (1000-1900 m) to an alpine (2400–2900 m) altitudinal preference. The locality of Gor (Sierra de Baza) is situated at 1773 m showing a montane preference. *A. iglesiasii* inhabits streams from 1509 m to 2855 m, showing a montane (1000-1900 m) to an alpine (2400–2900 m) altitudinal preference as well.

Accompanying caddisfly species were mostly shredders but there are also a large proportion of passive filter-feeders, grazers and scrapers, and

predators belonged to Rhyacophilidae, Glossosomatidae, Philopotamidae, Hydropsychidae, Policentropodidae, Brachycentridae, Lepidostomatidae, Limnephilidae, Leptoceridae and Sericostomatidae families (see Sáinz-Bariáin *et al.*, 2013; Sáinz-Bariáin *et al.*, *in prep.*).

ACKNOWLEDGEMENTS

We are very grateful to Alejandra Fernández and Modesto Berbel for their field assistance and all the people who helped us during the samplings. We want specially to thank Cesc Múrria and Alfried Vogler, from the Natural History Museum of London, for their help with the genetic differentiation of both species. This research was funded by the Organismo Autónomo de Parques Nacionales (O.A.P.N.) of the Spanish Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (project ref.: 039/2007) and the Andalucía Government/Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) to the research group RNM-102. Marta Sáinz-Bariáin was supported by a PhD grant from the Government of Navarre. Sierra Nevada National Park supplied logistic help and provided with sampling permissions, as well as Andalusian Government. This study was carried out during the development of the following projects: CGL2007–61856/BOS and CGL2007-60163/BOS (RICHABUN project) funded by the Spanish Ministry of Education and Science /FEDER, and RNM-02654 by the Andalucía Government respectively. We are also very grateful to Elena Sáinz for checking the English.

REFERENCES

- Bolzhuber, M. (1998). Larval taxonomie und Entwicklung von *Annitella thuringica* (Ulmer 1909) und *Limnephilus germanus* McLachlan 1875. *Lauterbornia*, **34**, 219–226.
- González, M.A. (2013). El Reino Animal en la Península Ibérica y las Islas Baleares. Orden Trichoptera. Familia Limnephilidae. www.fauna-iberica.mncn.csic.es/faunaib/arthropoda/insecta/trichoptera/limnephilidae.php. (accessed 1 April 2014).
- González, M.A. & Martínez-Menéndez, J. (2011). Checklist of the caddisflies of the Iberian Peninsula and Balearic Islands. *Zoosymposia*, **5**, 115–135.
- González, M.A., Terra, L.S.W., García de Jalón, D. & Cobo, F. (1992). *Lista faunística y bibliográfica de los Tricópteros (Trichoptera) de la Península Ibérica e Islas Baleares*.

- Asociación española de Limnología, Publicación n° 11, Madrid, 200 pp.
- Graf, W., Murphy, J., Dahl, J., Zamora-Muñoz, C. & López-Rodríguez, M.J. (2008). *Distribution and Ecological Preferences of European Freshwater Organisms*. Pensoft, Sofía, 388 pp.
- Holzenthal, R.W., Blahnik, R.J., Prather, A.L. & Kjer, K.M. (2007). Order Trichoptera Kirby, 1813 (Insecta), Caddisflies*. *Zootaxa*, **1668**, 639 – 698.
- Lechthaler, W. & Stockinger, W. (2005). *Trichoptera—Key to Larvae from Central Europe*. CD-Edition. (Eutaxa, Wien)
- Lepneva, S.G. (1966). *Fauna SSSR, Ručeiniki, Lichinki i Kukolki Podotryada Tse'noshchupikovykh*. Zoologicheskii Institut Akademii Nauk SSSR, Moskva-Leningrad, 2(2), 560 pp. [Fauna of the U.S.S.R. Trichoptera, Larvae and Pupae of Integripalpia. Zoological Institute of the Academy of Science of the USSR, Moscow-St. Petersburg, volume 2, number 2. Translated by the Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem (1971), 638 pp.]
- Malicky, H. (1994). Die Chaetopterygini (Insecta, Trichoptera, Limnephilidae) in Griechenland. *Annales Musei Gouandris*, **9**, 457–470.
- Malicky, H. (2013). *Trichoptera*. Fauna Europaea: Trichoptera, Limnephilidae. Fauna Europae version 2.5, <http://www.faunaeur.org>. (accessed 1 April 2014)
- Morse, J.C., (Ed.) (2014). *Trichoptera World Checklist*. <http://entweb.clemson.edu/database/trichopt/index.htm> (accessed 1 April 2014).
- Múrria, C., Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C., *et al.* Integrating evolutionary history, species distribution and population dynamics for predicting vulnerability to extinction of the two endemic species of *Annitella* (Trichoptera, Limnephilidae) in the Sierra Nevada (Iberian Peninsula). *In preparation*.
- Oláh, J. & Kovács, T. (2012). New species and records of autumnal Trichoptera from Albania. *Folia Historico Naturalia Musei Matraensis*, **36**, 89–104.
- Sáinz-Bariáin, M. & Zamora-Muñoz, C. (2012). New record of *Annitella amelia* Sipahiler, 1998 (Trichoptera, Limnephilidae) in the Iberian Peninsula. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **36**(1-2), 203-205.
- Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C. & González, M.A (2013). Los Tricópteros (Trichoptera). *In*: Ruano, F., Tierno de Figueroa, J.M. & Tinaut, A. (Eds.), *Los insectos de Sierra Nevada: 200 años de historia, Vol I*. Asociación Española de Entomología, León, pp. 202–231.
- Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C. & Brittain, J.E. Life-history strategies of two endemics and one widespread species of genus *Annitella* Klapálek, 1907 (Trichoptera; Limnephilidae). *In preparation*.
- Sipahiler, F. (1998). Studies on the genus *Annitella* Klapálek (Trichoptera: Limnephilidae: Chaetopterygini). *Aquatic Insects*, **20**(3), 149–164.
- Vieira-Lanero, R. (2000). *Las larvas de los Tricópteros de Galicia (Insecta: Trichoptera)*. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 612 pp.
- Wallace, I.D., Wallace, B. & Philipson, G.N. (2003). *A Key to the Case-bearing Caddis Larvae of Britain and Ireland*. Freshwater Biological Association Scientific Publication 61, Liverpool, 259 pp.
- Waringer, J.A. (1993). The larva of *Halesus rubricollis* (Pictet, 1834) (Trichoptera: Limnephilidae) from an Austrian mountain brook. *Aquatic Insects*, **15**, 249–255.
- Waringer, J. & Graf, W. (1997). Atlas der Österreichischen Köcherfliegenlarven: Unter Einschluss der angrenzenden Gebiete. Facultas-Universitätsverlag, Vienna,

286 pp.

- Waringer, J. & Graf, W. (2011). Atlas der mitteleuropäischen Köcherfliegenlarven— Atlas of Central European Trichoptera Larvae. Erik Mauch Verlag, Dinkelscherben, Germany, 468 pp.
- Waringer, J., Graf, W., Kučinić, M., Previšić, A. & Vučković, I. (2009). The larva and life cycle of *Annitella apfelbecki* (Klapálek, 1899), including a redescription of *Melampophylax nepos* (McLachlan, 1880) (Trichoptera: Limnephilidae). *Aquatic Insects*, **31**, 71–80.
- Williams, N. & Wiggins, G. (1981). A proposed setal nomenclature and homology for larval Trichoptera. In: Moretti, G.P. (Ed.), *Proceedings of the 3rd International Symposium on Trichoptera*. Dr. W. Junk publishers, The Hague, pp. 421–429.
- Zamora-Muñoz, C., Sáinz-Bariáin, M., Múrria, C., Bonada, N., Sáinz-Cantero, C.E., González, M., Alba-Tercedor, J. & Tierno de Figueroa, J.M. (2012). Diversidad, estrategias vitales y filogeografía de especies sensibles al cambio climático: Tricópteros en el Parque Nacional de Sierra Nevada. In: Ramírez, L. & Asensio, B. (Eds.), *Proyectos de investigación en parques nacionales: 2008-2011*. Organismo Autónomo de Parques Nacionales, Madrid, pp. 355–385.

BLOQUE 2: ESTRATEGIAS VITALES DE ESPECIES ENDÉMICAS



Río Gor, Sierra de Baza, primavera 2009

Capítulo 4

Life-history strategies of two endemics and one widespread species of genus *Annitella* Klapálek, 1907 (Trichoptera: Limnephilidae)



Lago Mjøsa, Noruega, verano 2010

Abstract

Life history strategies (growth patterns, voltinism, and developmental time) are essential to understand species adaptation to the environment. Despite they have a strong phylogenetic component some of them may be influenced by different biotic or abiotic factors. Thus the constraints imposed by the habitat characteristics influence the ecological traits of the species living on it. Annitella is a Palaearctic genus that comprises several endemic species from different mountain ranges, and only one, A. obscurata, widely distributed in different European mountain systems. The main objective of this paper is to describe and compare the unknown life cycle of the widespread species in Norway, and two endemic species from the southeast of the Iberian Peninsula, A. esparraguera and A. iglesiasi. Since related species or populations under the same environmental conditions present similar life history, it is expected similarities between high Spanish altitudinal sites (in the Sierra Nevada) and high latitudinal localities in Norway. However, life history differences should be found between populations at different altitude and climate conditions in Spanish sites. After analyzing the population structure of the three species, all had a univoltine life cycle. In Spanish sites located at an altitude below 1800 m, adults are autumn-emerging, as is general for all the species of the genus. However, in Norwegian sites and those located at higher altitude in the Sierra Nevada, emergence anticipates to late summer. In spite of its southern position, melting does not occur until June or July above 2000 m in this mountainous system.

Keywords: caddisfly; life cycle; life history; altitude; latitude; geographic variation; emergence; phenology.

Manuscrito:

Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C. & Brittain, J.E. **Life-history strategies of two endemics and one widespread species of genus *Annitella* Klapálek, 1907 (Trichoptera: Limnephilidae).** *En preparación.*

INTRODUCTION

Among orders of aquatic insects, life cycles vary in the way processes such as feeding, growth, development, dormancy, dispersal, and reproduction are distributed among the various life-cycle stages (Butler, 1984). The cycle components are essentially identical and consistent in sequence for all members of a species (Williams & Feltmate, 1992). However, the variable events associated with the life cycle can vary among individuals or populations of one species, making up their life history. The life history of an organism reflects a suite of interacting factors such as genetic information, inter-specific relationships, and environmental characteristics (Butler, 1984). Hence, life history strategies (growth patterns, voltinism, and developmental time) are essential to understand species adaptation to the environment (Becker, 2005). Most of them have a strong phylogenetic component (e.g., oviposition characteristics, respiratory strategies, and aquatic stages) (Resh & Rosenberg, 1984), but others may be influenced by different biotic or abiotic factors. For example, population density (Beckerman *et al.*, 2003), the presence of closely related taxa that share similar habitats (Beam & Wiggins, 1987), the temperature and photoperiod (Nylin & Gotthard, 1998), latitudinal clines (Roff, 1980), or resource limitation (Sweeney, 1984) may affect growth, development or shift the timing of life cycle events between species (Mendez & Resh, 2008).

Many caddisfly species are able to inhabit a wide range of climate and habitats because their flexible life cycles (Reiso & Brittain, 2000; Sand & Brittain, 2009). They can show high diversity in their life history patterns, including differences in reproductive and dispersal strategies, life cycle length, growth rate, developmental strategies, and phenology of the various life history stages (Hershey *et al.*, 2010). Thus, life history studies of a species in multiple habitat types over small spatial scales as well as of closely related species within multiple stream systems may offer insight into factors controlling life cycle timing and development, and ultimately, life history plasticity (Mendez & Resh,

2008).

Seasonal and daily variations of water temperatures are important determinants for the distribution of aquatic species (Vannote *et al.*, 1980). Hence, water temperature is one of the most relevant environmental factors influencing life history patterns of aquatic insects because affects the seasonality and development patterns of aquatic insects through growth, adult size, and fecundity (Sweeney, 1984; Ward, 1992; Vannote & Sweeney, 2007; Haidekker & Hering, 2008). Furthermore, the timing of emergence is under the dual control of temperature and the photoperiod (Hynes, 1970).

Aquatic and terrestrial ecosystems of regions at high altitude and latitude share similar harsh environmental conditions, such as daily and annual extremes in wind and low temperature, extended periods of snow cover, high risk of drought, low precipitation, reduced quantity and quality of food and poor quality of the soil (Füreder, 1999; Lencioni, 2004; Shama & Robinson, 2009). Life history strategies of aquatic insects in alpine climate streams have been studied in some detail (e.g., Brittain & Bildeng, 1995; Brittain & Milner, 2001; Aagaard *et al.*, 2004; Lencioni, 2004; Füreder *et al.*, 2005; Jannot, 2009; Nagy & Grabherr, 2009; Shama & Robinson, 2009). And it is shown that most species have evolved a combination of morphological, physiological, behavioural and environmental strategies that enable their survival in these “extreme” environments (Mani, 1962; Danks, 1999; Lencioni, 2004). Temporally constrained environments, such as habitats with short growth seasons or short hydroperiods, cause potentially strong selection on life histories (Shama & Robinson, 2009). Furthermore, incident solar radiation during the relatively short snow-free season can be intense in high areas of the temperate zone (Füreder, 1999). Consequently, longer photoperiod accelerates larval development and therefore emergence starts earlier than under normal light conditions (Sweeney, 1984; Ivković *et al.*, 2013).

The Sierra Nevada is the second highest mountain range in Europe and it is located in the southeast of the Iberian Peninsula, a region with

Mediterranean climate. Due to the existing altitudinal-temperature gradient in the Sierra Nevada, there is a vast variation in climate within this range, since snow covers the higher elevations for most of the year, while hot temperatures prevail at the lower elevations, particularly in summer. Thus, its status as high mountain also give aspects of a cold continental climate characterized by hard winters and summers, with winter snow cover and summer drought periods (Castillo-Martín, 2000). These environmental conditions confer habitat similarities between high Sierra Nevada locations and those of other European Alpine regions. Thereby, most of the biodiversity found in the Sierra Nevada belong to Palaearctic species widespread throughout Europe with a high representation of Iberian and North African species (e.g., Vargas *et al.*, 1998; Jiménez-Valverde *et al.*, 2007; Olivares *et al.*, 2011; Sáinz-Bariáin *et al.*, 2013).

Annitella is a widespread European mountain genus, which belongs to the tribe Chaetopterygini Hagen, 1858, including autumn-emerging species in which adults are poor fliers or flightless (Botosaneanu, 1975; Wagner, 1991; Malicky, 1994; Lehrian *et al.*, 2010). Many Chaetopterygini species are endemic to single mountain ranges or are distributed over small areas (Malicky, 1994). However, other species are widespread across Europe (Lehrian *et al.*, 2010). *Annitella* genus gathers 14 species (Oláh & Kovács, 2012; Malicky, 2013). Only one of them, *A. obscurata* McLachlan, 1876 is widely distributed, from Scandinavia to the Spanish Pyrenees. The remaining species are restricted to a single mountain or nearby mountain ranges. Six are endemics from the Iberian Peninsula [*A. amelia* Sipahiler, 1998, *A. cabeza* Sipahiler, 1998, *A. esparraguera* Schmid, 1952, *A. iglesiasi* González & Malicky, 1988, *A. lalomba* Sipahiler, 1998, and *A. sanabriensis* (González & Otero, 1985)], one from the Pyrenees, *A. pyrenaea* (Navás, 1930) and six are from other European mountain ranges, as the Alps, the Carpathians or the Balkans (*A. apfelbecki* (Klapálek, 1899), *A. chomiensis* (Dziedzielewicz, 1908), *A. lateroproduta* (Botosaneanu, 1952), *A. ostrovicensis* Oláh & Kovács, 2012, *A. thuringica* (Ulmer, 1909) and *A. triloba* Marinkovic-Gospodnetic, 1957) (González *et al.*, 1992; González & Martínez-

Menéndez, 2011; Oláh & Kovács, 2012; Malicky, 2013). Although the available information about the biology of this genus is still very limited, it is known that those species dwell in high mountain streams and brooks in low flow speed microhabitats and are univoltine with autumnal flight period (Graf *et al.*, 2008). The larvae are shredders and feed mainly on detritus (Graf *et al.*, 2008). Few of them, have been described and included in keys (Waringer & Graf, 1997, 2011; Lechthaler & Stockinger, 2005; Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz, *unpublished*). And only the life cycle of *A. apfelbecki* has been well described (Waringer *et al.*, 2009; Vučković *et al.*, 2011).

The aim of this paper is to study the life cycles of three species of the genus *Annitella*: two endemic species from the southeast of the Iberian Peninsula (*A. esparraguera* and *A. iglesiasi*) and the widespread species across Europe (*A. obscurata*). In species or species groups where certain features of the life cycle diverge from the phylogenetic norm for the group, environmental factors may be invoked (Butler, 1984). The theory of "river habitat templet" establishes a close relationship between environmental conditions of habitat and species biological traits (adaptations) that live in that habitat (Townsend & Hildrew, 1994). Thus, the constraints imposed by the habitat characteristics influence the ecological traits of the species living on it. Since species or populations under the same environmental conditions present similar life history strategies, it is expected a variation in life history traits between populations at different altitude in Spanish sites but similarities between those sites located at high altitude and those at high latitude.

MATERIAL AND METHODS

Study area

The study was carried out in six localities from the southeast Spain and two from the south of Norway. Five of the Spanish sites were located in the Sierra Nevada and one in the Sierra de Baza, two protected mountainous areas in the Granada province, between an altitudinal range of 2855-1646 m

a.s.l (Figure 1). Due to the altitudinal gradient and southern position of Spanish sites, there is a vast variation in climate within the Sierra Nevada. The upper sites of the Sierra Nevada (above 2500 m a.s.l.) are considered as alpine zone consisting chiefly of herbaceous perennials that can tolerate snow and ice cover that persist the majority of the year. Borders of streams are covered by wet grasslands formed by the accumulation of meltwater and dominated by mosses, grasses and herbaceous plants (“Borreguiles”). Lower sites in the Sierra Nevada (below 1800 m a.s.l.) and also the site located in the Sierra the Baza belonged to a typical Mediterranean mountainous area. The dominated riparian species are *Ulmus minor*, *Salix alba*, *Mentha longifolia*, *Rubus ulmifolius*, *Betula pendula* subsp. *fontquer* as well as shrubs such as *Acer opalus* subsp. *granatense*, *Paeonia coriacea* or *Salvia lavandulifolia* among many others. Also highlights the presence of Mediterranean forest with pine (*Pinus sylvestris*) in the Sierra de Baza and oak (*Quercus ilex*) forests at the east side of Laroles River (Figure 1).

Sampling sites in Norway were located between an altitudinal range of 718-125 m a.s.l. (Figure 1). The highest site, Vollen-Folldal, is situated in River Atna near the Rondane National Park. Is a boreal coniferous area covered by birch (*Betula vulgaris*) and pine (*Pinus sylvestris*), and lichen and heath vegetation constitutes the lower layers. The climate along this valley, below the treeless area where originates de river, is continental, with cold winters and relatively warm summer (Nordli & Grimenes, 2004). The other locality is situated in Bergsvika-Ulven in the north shore of Lake Mjøsa. This is a deep fjord lake and the largest from Norway. Substantial parts of its catchment consist of mountain regions. The main tributary drains mountainous regions, and during snow melt, this river feeds Lake Mjøsa with cool water into early summer. Water flow from the river causes reductions in transparency, temperature and algal growth in Lake Mjøsa during early summer, especially in the northern parts of the lake (Holtan, 1979) and also delays warming of surface waters during spring (Løvik & Kjellberg, 2003; Hobæk *et al.*, 2012).

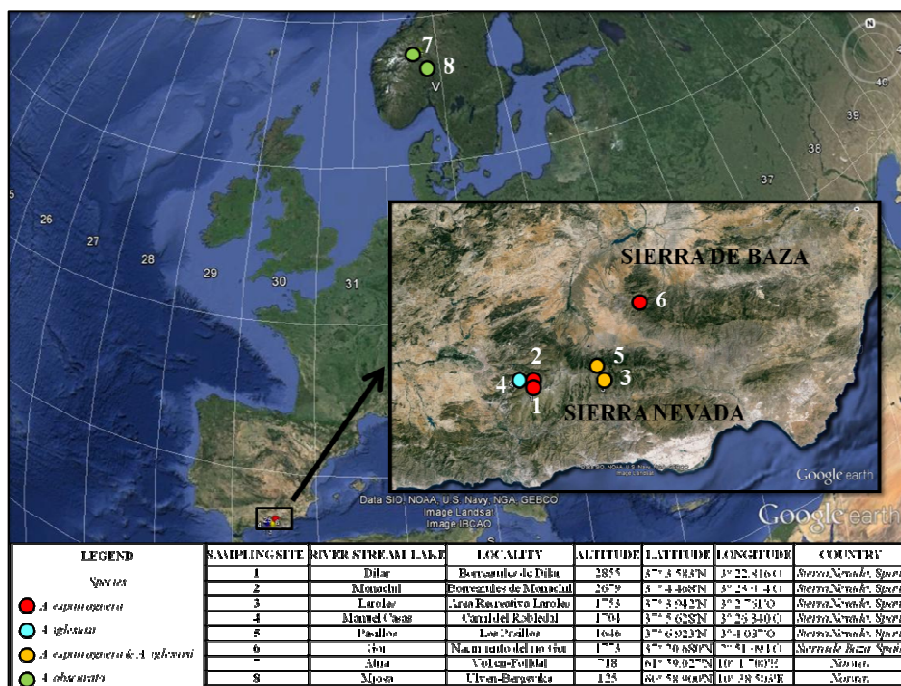


Figure 1. Map showing the 8 sampling sites and the species in each one. Geographical location and altitude of the sampling sites are shown in the table. The number of each site assigned in the map is also indicated.

Sampling methods

Spanish sites were monthly or fortnightly sampling from March to October 2009, depending on the altitude and the duration of the snow cover. Thus, sampling sites located above 2500 m a.s.l. could not be sampled until late June or beginning of July. In June, sampling could not be performed in the Sierra de Baza because of logistic problems. In Norway, samples were taken monthly from May, after thaw, to September 2010. Six samples by a Hess cylindrical sampler, with a sampling area of 0.0227 m² and 500 μm of mesh size, were taken on every field survey to estimate larval densities. Sampling places were selected on suitable habitats for target species according to the literature (e.g., Graf *et al.*, 2008) or to our own observation at previous sampling campaigns. In order to reduce the sampling impacts on Spanish species (endemics), specimens were sorted, counted and assigned to their corresponding instars in the field, and the individuals released alive. A

subsample on benthic macroinvertebrates was preserved in 96% ethanol in the field. In Norwegian sites, collected material was preserved in 70% ethanol and carried out to the laboratory. Light traps were placed on the shores of the sampling sites to record adult emergence. Some females and males were captured and carried alive to the laboratory where mating, egg-laying and hatching were observed.

In order to characterize the habitat preference of the three species, environmental characteristics were measured. Three random samples of benthic material were seasonally (spring, summer and autumn) taken with a methacrylate core of 20 cm, at each site. Macroinvertebrates were removed and coarse particulate organic matter (CPOM, > 1 mm) and fine particulate organic matter (FPOM, 0.05-1 mm) were separated using sieves and quantified as ash-free dry weight following the general methodology described in Pozo *et al.* (2009). After homogenizing the samples by grinding, carbon and nitrogen content of all fractions was measured by an organic elemental analysis CHNS. The quality of the organic matter was calculated as C/N ratio in all sampling sites, both Spanish and Norwegian. The C/N ratio has frequently been used as an indicator of the nutritive quality of plant matter for decomposers (Chauvet, 1997). Zero N values (below of the accuracy limit of the analysis) were replaced by 0.01 to avoid infinite values. In these sites, a data logger (iBTag - iBCod G1) was placed in the riverbed to record the temperature every hour to determine the range of thermal tolerance of endemic species. Other physicochemical parameters were seasonally (spring, summer and autumn) measured at each locality. In Spanish sites, river-bed composition, water depth, current velocity, discharge, pH, water temperature, conductivity, saturation and dissolved oxygen were measured *in situ*, and water samples were taken to measure the following nutrients and cations in the laboratory: ammonium, phosphates, nitrites, nitrates, sulfates, calcium, magnesium and chlorides. In the Norwegian sites the parameters measured were: river-bed composition, water depth, current velocity, water temperature, conductivity and quantity and

quality of particulate organic material.

Laboratory procedures

In the laboratory, *Annitella* specimens were sorted and head capsule and body length measured with an ocular micrometer to the nearest 0.01 mm under a binocular microscope (model SMZ MOTIC-168-BL). Density estimations (n° indiv. m^{-2}) and measurements of the *Annitella* specimens to study the life cycle were performed only in monospecific localities due to the difficulty of distinguishing both species each other (*A. esparraguera* and *A. iglesiasi*) at early stages (Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz, *unpublished*). A frequency distribution histogram of head capsule widths of the larvae of each species was performed to separate larval instars, and Dyar's Law was apply to predict the size of instars missing from samples.

Target species and accompanying caddisfly fauna were identified following specialized literature (Lepneva, 1966; Williams & Wiggins, 1981; Solem, 1983; Higler & Solem, 1986; Camargo & García de Jalón, 1988; Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1992; Zamora-Muñoz *et al.*, 1995, 1997; Waringer & Graf, 1997, 2011; Panzenbock & Waringer, 1997; Vieira-Lanero, 2000; Wallace *et al.*, 2003; Malicky, 2004; Ruiz-García *et al.*, 2004; Lechthaler & Stockinger, 2005; Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007; Múrria *et al.*, 2010; Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz, 2012; Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz, *unpublished*).

In order to test for differences in environmental characteristics between localities non-parametric tests, Kolmogorov-Smirnov (K-S test) and Kruskal-Wallis analyses (K-W tests, were used because of small sample sizes (Guisande-González *et al.*, 2006). For comparative purposes, sites were grouped in four groups as follow: Sierra Nevada sites above 2500 m a.s.l., Sierra Nevada sites below 1800 m a.s.l., Sierra de Baza site, and Norwegian sites. No significant differences were found for any environmental parameter between the Sierra Nevada sites located above 2500 m a.s.l (K-S tests, $p > 0.05$ for all variables). Otherwise, Sierra Nevada sites located at lower altitude

(Laroles, Manuel Casas and Pasillos) showed similar physicochemical conditions for most of the measured parameters, except for pH and conductivity (K-W tests, $H= 10.65$, $p < 0.01$; $H= 7.34$, $p < 0.05$, respectively). Norwegian sites only differed in conductivity values (K-S test, $p < 0.025$). Thus, grouping of the sites was useful to compare them in relation to those environmental data not showing intragroup significant differences (pH and conductivity).

Growth was estimated for each month as the differences between the mean length of the species in a given month and the mean size in the previous month. Daily mean growth was calculated dividing such growth by the days between two subsequent sampling dates. In order to compare species growth rates among Spanish sites, only dates after thaw were used.

Statistical analyses were performed using the program STATISTICA v.7.1© (StatSoft, 2005).

RESULTS

Annitella species distribution and characteristics of the habitat

Of *Annitella* endemic species, *A. esparraguera* showed the widest distribution. It was collected in most of the Sierra Nevada sampled sites and in the Sierra de Baza, between an altitudinal range of 2855-1646 m a.s.l. (Figure 1). Otherwise, *A. iglesiasi* was collected at lower altitudinal range, between 1753-1646 m a.s.l, in only three of the sampled sites in the Sierra Nevada (Figure 1). At these late sites, larvae of both species were collected near shores at less than 50 cm water depth or in the riverbed in places with low water flow, less than 1 m/s. Larvae were found on different types of substrate: muddy, cobbles, sand, gravel, moss, macrophytes, roots or gravel, and water physicochemical parameters measured showed the following range of values: water temperature: 6.30-15.10 °C, pH: 6.92-8.60, conductivity: 11.80-96.60 $\mu\text{S/cm}$, dissolved oxygen 4.42-9.90 mg/l and oxygen saturation 39-106% (see media \pm SE in Table 1). In upper sites, *A. esparraguera* was found in streams

with stony bottom consisting of cobbles, gravel, silt and mosses, water temperature between 3.70-11.10 °C, pH range of 6.83-8.46, conductivity between 13.74-22.80 $\mu\text{S}/\text{cm}$, and dissolved oxygen range of 4.60-11.40 mg/l with oxygen saturation between 59-105% (see media \pm SE in Table 1). In the Sierra de Baza, *A. esparraquera* was collected near the shores on banks of mud and stones and on macrophytes. Water temperature oscillates between 8.80-10.30 °C, pH of 8.18-8.31, conductivity of 218.00-264.00 $\mu\text{S}/\text{cm}$, dissolved oxygen of 4.50-10.20 mg/l, and oxygen saturation between 50-107% (see media \pm SE in Table 1).

On the other side, the species *A. obscurata* was collected in Norway between an altitudinal range of 718-125 m. a.s.l. (Figure 1), in a similar mesohabitat and physical conditions (water depth and current velocity) as in Spanish sites; near shores on different types of substrate, especially on macrophytes. Physicochemical parameters measured reflected the high tolerance of this species to a wide range of temperature and conductivity: 3.30-18.50 °C, and 4.90-159.90 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (see media \pm SE in Table 2).

Comparisons among physicochemical characteristics of the 4 groups of sites (Sierra Nevada sites above 2500 m a.s.l., Sierra Nevada sites below 1800 m a.s.l., Sierra de Baza site, and Norwegian sites) showed that water properties were similar for most of the measured parameters. However, differences in temperature were almost significant between the 4 groups (K-W tests, $H= 7.90$, $p = 0.05$) because of the higher temperature of Sierra Nevada sites below 1800 m. Furthermore, comparisons among quantity and quality of CPOM (K-W test, $H= 31.98$, $p < 0.01$; $H= 17.39$, $p < 0.01$, respectively) and FPOM (K-W test, $H= 35.36$, $p < 0.01$; $H= 23.19$, $p < 0.01$, respectively) showed significant differences between the grouping sites. Quantity of CPOM and FPOM were lower in Norwegian sites than in those of the Sierra Nevada but similar than in the Sierra de Baza (see media \pm SE in Table 3).

Table 1. Spanish sampling sites enviromental characteristics where *A. esparraguera* and *A. iglesiasi* were studied. CPOM: coarse particulate organic matter, FPOM: fine particulate organic matter, C/N: carbon and nitrogen content ratio. N, number of samples; Mean, mean value on each site; SE, standar error.

	DÍLAR			MONACHIL			LAROLES			MANUEL CASAS			PASILLOS			GOR		
	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE
Temperature °C	6	8.23	1.06	5	7.94	1.02	8	12.01	1.03	7	12.07	0.98	8	9.66	0.59	7	9.56	0.20
pH	6	7.35	0.24	5	7.48	0.14	8	7.42	0.18	7	8.00	0.07	8	7.51	0.08	7	8.24	0.02
Conductivity (µS cm ⁻¹)	6	18.35	1.23	5	21.50	0.51	8	33.13	1.19	7	60.84	10.46	8	32.20	1.27	7	248.71	6.78
O2 (ppm)	6	6.49	1.03	5	6.42	0.68	8	5.99	0.60	7	6.45	0.38	8	6.73	0.65	7	6.80	0.79
O2 (%)	6	74.50	6.38	5	79.20	6.74	8	68.96	6.44	7	71.20	4.46	8	67.13	7.78	7	77.86	6.53
Discharge (m3s ⁻¹)	6	0.00	0.00	5	0.02	0.01	8	0.02	0.01	7	0.32	0.14	8	0.17	0.04	7	0.08	0.04
Chlorophyll a (mg cm ⁻²)	6	0.01	0.00	6	0.01	0.01	9	0.00	0.00	6	0.00	0.00	9	0.00	0.00	9	0.01	0.00
Ammonium (mg l ⁻¹)	3	0.17	0.14	3	0.15	0.13	3	0.03	0.01	3	0.02	0.02	3	0.14	0.10	3	0.03	0.01
Phosphates (mg l ⁻¹)	3	0.00	0.00	3	0.02	0.01	3	0.01	0.01	3	0.00	0.00	3	0.01	0.00	3	12.00	12.00
Nitrites (mg l ⁻¹)	3	0.00	0.00	3	0.00	0.00	3	0.00	0.00	3	0.01	0.01	3	0.00	0.00	3	1.50	1.50
Nitrates (mg l ⁻¹)	3	0.02	0.02	3	0.04	0.03	3	0.00	0.00	3	0.03	0.02	3	0.01	0.01	3	0.00	0.00

Table 1 - *Continuation*

	DÍLAR			MONACHIL			LAROLES			MANUEL CASAS			PASILLOS			GOR		
	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE
Sulfates (mg l⁻¹)	3	5.99	0.86	3	2.85	0.12	3	2.70	0.05	3	5.55	0.13	3	5.91	1.79	3	1.77	0.42
Ca (mg l⁻¹)	3	34.80	17.26	3	14.70	7.28	3	19.38	9.46	3	85.60	15.20	3	14.85	7.58	3	273.60	10.40
Mg (mg l⁻¹)	3	16.71	7.50	3	5.16	2.15	3	12.23	5.81	3	43.50	4.62	3	15.35	7.52	3	70.71	6.07
Chlorides (mg l⁻¹)	3	15.38	1.18	3	16.57	1.18	3	21.30	0.00	3	15.98	1.78	3	18.93	1.18	3	17.75	0.00
CPOM (g m⁻²)	6	0.41	0.13	9	0.59	0.19	12	0.28	0.06	7	0.33	0.17	12	0.93	0.35	9	0.08	0.03
C/N CPOM	6	16.31	3.09	9	14.93	2.52	12	53.28	32.57	8	23.13	3.29	12	22.06	5.64	11	23.91	4.19
FPOM (g m⁻²)	5	0.44	0.19	7	0.56	0.18	4	0.37	0.18	11	1.01	0.20	13	0.61	0.11	6	0.27	0.19
C/N FPOM	5	48.24	37.05	7	10.19	1.43	6	19.50	3.31	11	21.33	8.63	13	31.60	15.50	7	12.80	1.87

Table 2. Spanish sampling sites environmental characteristics where *A. esparaguera* and *A. iglesiasi* were studied. CPOM: coarse particulate organic matter, FPOM: fine particulate organic matter, C/N: carbon and nitrogen content ratio. N, number of samples; Mean, mean value on each site; SE, standar error.

	ATNA			MJØSA		
	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE
Temperature °C	5	5.82	0.83	5	13.66	2.26
Conductivity ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	5	8.40	24.80	5	86.72	24.80
CPOM (g m^{-2})	8	0.03	0.01	8	0.05	0.02
C/N CPOM	8	15.11	10.53	7	7.98	4.75
FPOM (g m^{-2})	9	0.02	0.01	9	0.04	0.02
C/N FPOM	9	5.51	2.29	9	3.15	2.71

Table 3. Enviromental characteristics of the four groups of sites. CPOM: coarse particulate organic matter, FPOM: fine particulate organic matter, C/N: carbon and nitrogen content ratio. N, number of samples; Mean, mean value on each site; SE, standar error.

	Spain, S. Nevada > 2500m a.s.l.			Spain, S. Nevada < 1800m a.s.l.			Spain, S. de Baza			Norway		
	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE
Temperature °C	11	8.10	0.71	23	11.21	0.54	7	9.56	0.20	10	9.74	1.73
pH	11	7.41	0.14	23	7.63	0.09	7	8.24	0.02	–	–	–
Conductivity (µS cm ⁻¹)	11	19.78	0.84	23	41.24	4.13	7	248.71	6.78	10	47.56	17.55
O2 (ppm)	11	6.46	0.61	23	6.39	0.32	7	6.80	0.79	–	–	–
O2 (%)	11	76.64	4.46	23	69.00	3.61	7	77.86	6.53	–	–	–
Discharge (m3s ⁻¹)	11	0.01	0.01	23	0.16	0.05	7	0.08	0.04	–	–	–
Chlorophyll a (mg cm ⁻²)	12	0.01	0.00	24	0.00	0.00	9	0.01	0.00	–	–	–
Ammonium (mg l ⁻¹)	6	0.16	0.08	9	0.07	0.04	3	0.03	0.01	–	–	–
Phosphates (mg l ⁻¹)	6	0.01	0.01	9	0.00	0.00	3	12.00	12.00	–	–	–
Nitrites (mg l ⁻¹)	6	0.00	0.00	9	0.00	0.00	3	1.50	1.50	–	–	–
Nitrates (mg l ⁻¹)	6	0.03	0.02	9	0.01	0.01	3	0.00	0.00	–	–	–

Table 3 – *Continuation*

	Spain, S. Nevada > 2500m a.s.l.			Spain, S. Nevada < 1800m a.s.l.			Spain, S. de Baza			Norway		
	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE	N	MEAN	SE
Sulfates (mg l ⁻¹)	6	4.42	0.80	9	4.62	0.81	3	1.77	0.42	–	–	–
Ca (mg l ⁻¹)	6	24.75	9.51	9	34.24	12.25	3	273.60	10.40	–	–	–
Mg (mg l ⁻¹)	6	10.94	4.34	9	21.22	5.86	3	70.71	6.07	–	–	–
Chlorides (mg l ⁻¹)	6	15.98	0.79	9	19.08	0.93	3	17.75	0.00	–	–	–
CPOM (g m ⁻²)	15	0.52	0.13	31	0.55	0.15	9	0.08	0.03	16	0.04	0.01
C/N CPOM	15	15.48	1.89	32	34.04	12.38	11	23.91	4.19	15	11.78	5.91
FPOM (g m ⁻²)	12	0.51	0.13	28	0.73	0.10	6	0.27	0.19	18	0.03	0.01
C/N FPOM	12	26.04	15.51	30	24.41	7.34	7	12.80	1.87	18	4.33	1.75

Comparing hourly temperature record plots of Spanish sites during the sampling period, temperature in the Sierra de Baza was found to be very stable both annual and daily (Figure 2). However, in the Sierra Nevada, seasonal differences were remarkably higher. Moreover, daily temperature range was larger in localities above 2500 m, especially during the summer (Figure 2).

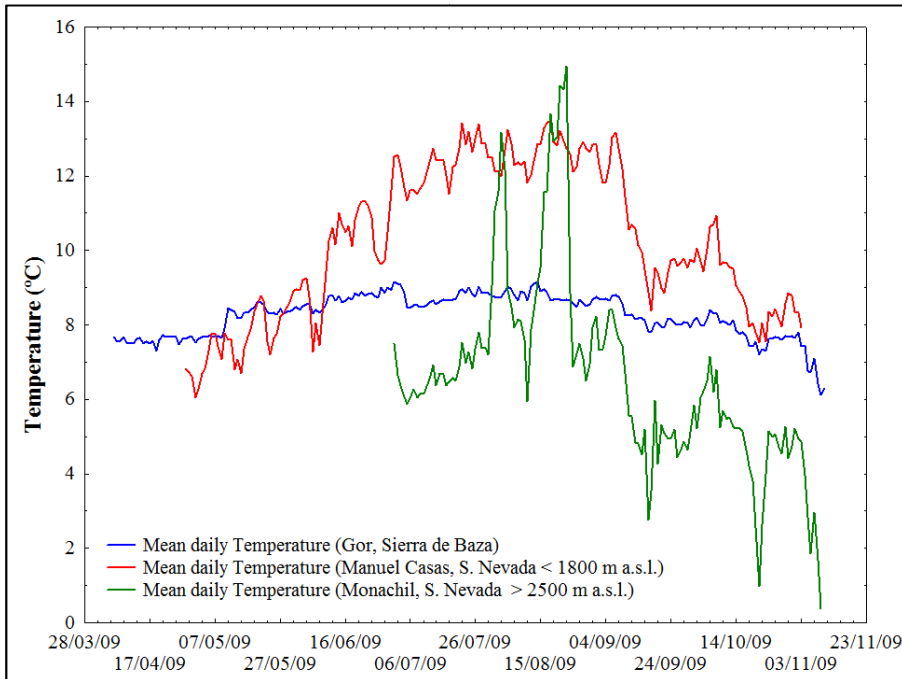


Figure 2. Mean daily temperature in Spanish monospecific localities.

Both endemic *Annitella* species constituted a small proportion of the trichopteran fauna in those localities of the Sierra Nevada where their life cycles were studied (Dílar, Monachil and Manuel Casas; 4.8-9.1%; Table 4). Moreover, density estimations were lower in higher altitude localities (Dílar and Monachil; Table 4). In these upper sites, accompanying caddisfly fauna were formed by 7 species from the families Rhyacophilidae (*Rhyacophila meridionalis* E. Pictet, 1865, and *Rhyacophila nevada* Schmid, 1952), Polycentropodidae [*Plectrocnemia conspersa* (Curtis, 1834)], and Limnephilidae

[*Anomalopterygella chauviniana* (Stein, 1874), *Potamophylax latipennis* (Curtis, 1834), *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875) and *Limnephilus obsoletus* Rambur, 1842)]. These species were mostly predators, shredders or grazers, and scrapers. In Sierra Nevada site located at medium altitude (Manuel Casas; below 1800 m), caddisfly richness was higher and 18 accompanying species were collected, those belonging to the families Rhyacophilidae (*Rhyacophila meridionalis*, *Rhyacophila nevada*, and *Rhyacophila occidentalis* McLachlan, 1879), Glossosomatidae (*Agapetus fuscipes* Curtis, 1834), Philopotamidae [*Philopotamus montanus* (Donovan, 1813)], Hydropsychidae (*Hydropsyche infernalis* Schmid, 1952, *Hydropsyche instabilis* (Curtis, 1834), and *Hydropsyche tibialis* McLachlan, 1884), Polycentropodidae (*Plectrocnemia conspersa*, *Polycentropus kingi* McLachlan, 1881), Brachycentridae [*Micrasema longulum* McLachlan, 1876, and *Micrasema moestum* (Hagen, 1868)], Lepidostomatidae [*Lepidostoma basale* (Kolenati, 1848)], Limnephilidae (*Anomalopterygella chauviniana*, *Potamophylax latipennis*, and *Halesus tessellatus* Rambur, 1842), Leptoceridae [*Athripsodes albifrons* (Linnaeus, 1758)], and Sericostomatidae (*Sericostoma vittatum* Rambur, 1842). Most of these species are shredders but there are also a large proportion of passive filter-feeders, grazers and scrapers, and predators. In the Sierra the Baza, *A. esparraquera* constituted the 10% of the trichopteran fauna (Table 4) and were found together with 7 species (*Rhyacophila nevada* Schmid, 1952, *Philopotamus montanus* (Donovan, 1813), *Plectrocnemia conspersa* (Curtis, 1834), *Polycentropus kingi* McLachlan, 1881, *Micrasema moestum* (Hagen, 1868), *Anomalopterygella chauviniana* (Stein, 1874) and *Sericostoma vittatum* Rambur, 1842) belonging to Brachycentridae, Limnephilidae, Philopotamidae, Polycentropodidae, Rhyacophilidae and Sericostomatidae families, respectively. These species are mostly shredders and predators, but also grazers and scrapers, and passive filter-feeders.

A. obscurata in Norwegian localities constituted almost the 15% of the trichopteran fauna in these sites, reaching higher density in the river site (Atna; Table 4). In Lake Mjøsa accompanying caddisfly species were formed by 11

species, most of them Limnephilidae (*Chaetopteryx villosa* (Fabricius, 1798), *Chaetopterygopsis maclachlani* Stein, 1874, *Potamophylax cingulatus* (Stephens, 1837), *Halesus digitatus* Schrank 1781, *Limnephilus nigriceps* (Zetterstedt, 1840), *Anabolia nervosa* (Curtis, 1834), and *Acrophylax ærberus* Brauer, 1867), but others belonged to Goeridae [*Silo pallipes* (Fabricius, 1781)], Leptoceridae [*Athripsodes cineris* (Curtis, 1834), and *Ceraclea annulicornis* (Stephens, 1836)] and Sericostomatidae (*Sericostoma* sp). Most of the species are shredders. In the River Atna, located at higher altitude, 9 more caddisfly species were found. Most of them were also Limnephilidae (*Chaetopteryx villosa*, *Chaetopterygopsis maclachlani*, *Potamophylax latipennis*, *Halesus digitatus*, *Ecclisopteryx guttulata* (Pictet, 1834), *Ecclisopteryx dalecarlica* Kolenati, 1848), but others families were also represented, as Rhyacophilidae [*Rhyacophila nubila* (Zetterstedt, 1840)], Glossosomatidae [*Glossosoma intermedia* (Klapalek, 1892)] or Apataniidae (*Apatania* sp.). Most of the species in both sites are shredders, but also grazers and scrapers, and predators.

Table 4. Number of individuals and frequency of *A. esparraguera*, *A. iglesiasi* and *A. obscurata*, and caddisfly density in monospecific localities

	Dílar	Monachil	Manuel Casas	Gor	Atna	Mjøsa
<i>Annitella esparraguera</i>	10 (4.8%)	38 (9.1%)	-	69 (10.0%)	-	-
<i>Annitella iglesiasi</i>	-	-	100 (6.8%)	-	-	-
<i>Annitella obscurata</i>	-	-	-	-	31 (14.4%)	18 (12.8%)
Density (n° indiv. m ⁻²)	12.24	46.50	104.89	72.37	45.52	26.43

Life cycle of Annitella species

For each species, a frequency distribution histogram of head capsule widths clearly separates the larvae of *A. esparraguera* and *A. iglesiasi* into I to V instars (Appendix 1). Dyar's Law was well applicable for head capsule widths of the three species (Table 5), enabling the extrapolation of head widths for I

instar of *A. esparraguera* in the locality of the Sierra Nevada above 2500 m and of *A. obscurata* in both Norwegian sites. From these data mean head width per instar were calculated (Table 5). Comparing the larval size in those localities where the same species was studied (Monachil and Gor), predicted head capsule size of I instar larva of *A. esparraguera* in the upper locality of the Sierra Nevada, was slightly higher than that of the Sierra de Baza (located below 1800 m; Table 5). However, mean head capsule size of V instar larvae of *A. esparraguera* in the Sierra de Baza was larger (Table 5). Otherwise, in Norwegian sites, *A. obscurata* showed similar size along the different instars in both localities.

An analysis of the population structure of the three species throughout the year showed a clear univoltine life cycle in all sites (Appendix 1). In sites below 1800 m (of the Sierra Nevada and in the Sierra de Baza), I to III instars of *A. esparraguera* and *A. iglesiasi* were present in April. Although V instars of both species were found already in June or July, adults of *A. iglesiasi* were not in flight until October and those of *A. esparraguera* until November. However, in the upper sites of the Sierra Nevada (Monachil, above 2500 m a.s.l.) larval development of *A. esparraguera* was faster but larvae showed smaller length (Table 6). As in lower localities, V instar was also collected in July but adults emerged already in late summer. Otherwise, V instar larvae of *A. obscurata* in the Norwegian sites were found in August and pupation and emerging occurs in September.

In all sampling sites, mating occurred immediately after emergence. Couples in copula were caught near shores early in the morning or at nights with light traps. In the laboratory, females lay eggs immediately after the copula. After submerging in water, hatching occurs five weeks after the egg-laying. Although these species constituted a low proportion of caddisfly species in the studied sites, a large number of *A. esparraguera* adults (more than 100 individuals) were observed emerging synchronously in river Gor (Sierra de Baza).

Table 5. Mean head capsule width of *A. esparraguera*, *A. iglesiasi* and *A. obscurata*, in monospecific localities. I-V indicate the five instars of the larvae. Relationship between the natural logarithm of head width (mm) and instar number is indicated as Dyar's law equation.

	MONACHIL (S. Nevada > 2500m a.s.l.)			MANUEL CASAS (S. Nevada < 1800m a.s.l.)			GOR (S. Baza)			ATNA			MJØSA		
	<i>A. esparraguera</i>			<i>A. iglesiasi</i>			<i>A. esparraguera</i>			<i>A. obscurata</i>			<i>A. obscurata</i>		
INSTAR	N	MEAN	SD	N	MEAN	SD	N	MEAN	SD	N	MEAN	SD	N	MEAN	SD
I	0	0.54*		1	0.24		2	0.43	0.03	0	0.25*		0	0.26*	
II	1	0.67		4	0.36	0.03	11	0.61	0.07	13	0.38	0.04	3	0.40	0.01
III	8	0.82	0.04	13	0.54	0.10	11	0.87	0.07	13	0.55	0.03	5	0.60	0.04
IV	3	1.01	0.03	23	0.82	0.11	13	1.23	0.06	1	0.80		4	0.90	0.08
V	25	1.25	0.05	29	1.25	0.06	6	1.75	0.05	15	1.17	0.11	9	1.35	0.06
Dyar's law equation	y = 0.2095x - 0.8262			y = 0.417x - 1.8627			y = 0.3505x - 1.1957			y = 0.3828x - 1.7544			y = 0.4078x - 1.7363		
Regression coefficient (all p < 0.05)	R ² = 0.9366			R ² = 0.9449			R ² = 0.9341			R ² = 0.9645			R ² = 0.961		

* extrapolated from the regression equation.

Table 6. Growth pattern of *A. esparraguera* and *A. iglesiasi* in an altitudinal gradient. N, number of measured larvae; Mean, mean length value in a given month; SE, standar error; Growth, differences between the mean size of the species in a given month and the mean size in the previous month; Mean daily growth, relation between growht and number of days between two sampling dates.

	Date	Period	Period (days)	N	Mean	SE	Growth (mm)	Mean daily growth (mm/day)
<i>A. esparraguera</i> S. Nevada (>2500)	JUN			7	7.74	1.01		
	JUL	1 jul- 19 jul	18	3	12.20	0.17	4.46	0.25
	AGO	19 jul- 4 ago	16	4	10.13	1.23	-2.08	-0.13
	AGO	4 ago- 25 ago	21	9	13.06	0.28	1.93	0.09
	SEP	25 ago- 18 sep	24	3	11.67	0.28	-0.39	-0.02
<i>A. esparraguera</i> S. Baza	APR			15	5.13	0.50		
	MAY	6 apr- 10 may	34	6	6.63	0.86	1.51	0.04
	JUL	10 may- 4 jul	55	9	10.78	0.43	4.14	0.08
	AGO	4 jul- 17 ago	44	4	11.46	0.54	0.68	0.02
	SEP	17 ago- 4 sep	18	3	12.30	0.75	0.84	0.05
<i>A. iglesiasi</i> S. Nevada (<1800)	APR			10	3.45	0.23		
	MAY	28 apr- 28 may	30	8	6.66	0.46	3.21	0.11
	JUN	28 may-29 jun	32	15	8.23	0.53	1.56	0.05
	JUL	29 jun- 30 jul	31	11	9.91	0.37	1.68	0.05
	AGO	30 jul- 29 ago	30	7	10.96	0.40	1.05	0.03

DISCUSSION

Aquatic insects show high diversity in their life history patterns, including differences in reproductive and dispersal strategies, life cycle length, growth rate, developmental strategies, and phenology at various stages of development (Hershey *et al.*, 2010). In cool climates, many aquatic insects have life cycles with synchronized development (Hershey *et al.*, 2010) which mainly depends on environmental factors as temperature and photoperiod (Butler, 1984). Although the three studied species showed a univoltine life cycle, phenological differences were found between populations and species depending on differences in climate conditions. The main differences found were the timing of emergence and the development rate of the larvae during the growth period in relation with the altitudinal gradient in the Sierra Nevada. Furthermore, similarities were found between the upper sites in the Sierra Nevada and the Norwegian sites, located at high latitude. Thus, analogous environmental conditions between high altitude and latitude ecosystems (Lencioni, 2004; Shama & Robinson, 2009) select for similar life history in close species. In upper sites in the Sierra Nevada, water temperature decrease sharply in late August, reaching to freeze the water surface. Furthermore, snowfall starts in early autumn, thus mature females should emerge ready to lay in order to larvae overwinter in juvenile stages. Larvae of *A. obscurata* and *A. esparraguera* showed similar emergence strategies. These findings would fit with the assumption that emergence times are under the dual control of temperature and day-length, and presumably their relative importance varies from place to place (Hynes, 1970; Ward & Stanford, 1982).

Caddisfly should show slower development in cool water of upper streams than in lower reaches with warmer waters (e.g., Mackay, 1984; Lavandier & Cereghino, 1995; Tsuruishi, 2006). However, the life strategies of *Annitella* defer of this assumption. According to the classification of life cycles given by Hynes (1970), populations of *A. esparraguera* and *A. iglesiasi*, inhabiting localities at lower altitude in the study area, showed a slow seasonal life cycle in

comparison with sites of higher altitude and latitude. First instars larvae of these species were caught in spring and the larvae grew progressively until late September or October when pupation occurred, and adults emerged in mid-late autumn. In contrast, *A. esparraguera* populations inhabiting higher sites of the Sierra Nevada, and those of *A. obscurata* in Norwegian sites, showed similar growth rates during the summer, when water temperature is higher and solar radiation is more intense. Thus, larvae matured in a few months after melting.

Several studies have demonstrated that populations facing short growing seasons exhibit faster development, but buffer body size changes through (genetically) higher growth rates, resulting in similar or even larger body sizes than populations with longer growing seasons (Conover & Schultz, 1995; Sears & Angilletta, 2003). Comparing growth rate of *A. esparraguera* in upper sites of the Sierra Nevada and site of Sierra de Baza, larvae grew faster after melting during early summer in the Sierra Nevada. The negative growth could be due to the presence of larvae in different instars in early July. In contrast, in the Sierra de Baza, larvae grew faster in spring showing a decrease of growth rate in summer and at the end of the life cycle.

Although female reproductive inversion (i.e. number and egg sizes) was not measured in the different localities, the predicted mean head size of I instar larvae of *A. esparraguera* in higher localities could be interpreted as a different reproductive strategy of this species in relation to the harsh conditions in higher altitude. The size of newly hatched larvae should generally be correlated with egg size (Reavey, 1992), and thus evolutionary shifts in egg size may, if adult size is kept constant, modify larval development time (in (García-Barros, 2000).

Otherwise, larval size of *A. obscurata* along the life cycle was similar in both Norwegian localities, and even to those of *A. iglesiasi*. Both species are closely related, belonging to the same subgenus (*Praeannitella*) (Morse, 2014).

Despite all sampled sites showed similarities in physicochemical conditions, differences in temperature were almost significant between the 4

groups of sites grouped by altitude. Temperature and photoperiod regulate growth and life cycle of freshwater insects (Sweeney, 1984; Brittain, 1990; Ward, 1992) and the life history of the studied species are clearly influenced by these factor. The high values of temperature registered in summer in upper sites would favor the rapid development of larvae in few months.

Furthermore, differences in quantity and quality of organic matter among studied sites were found. In uppers sites of the Sierra Nevada and those of Norway lower C/N ratios in the CPOM was obtained. Small streams, as those of upper sites of the Sierra Nevada, can be envisioned as boundaries between terrestrial and aquatic ecosystems and are extremely efficient in retaining and processing organic input (Naiman & Sedell, 1979). Moreover, faster breakdown occurs in nutrient-rich systems, apparently due to the greater availability of N (Allan & Castillo, 2007), favouring the rapid development of a shredder caddisfly, as *Annitella*, in those environments.

Spatially varying selection pressures can give rise to genetic differentiation among populations (local specialization; Levins, 1968; Laurila *et al.*, 2002; Laugen *et al.*, 2003), or spatial and temporal heterogeneity in environmental conditions can favour phenotypic plasticity (Via & Lande, 1985; Stearns, 1989; Nylin & Gotthard, 1998). The observed phenological plasticity in relation with altitude, latitude and environmental conditions may favor to these species which belong to a high mountain genus, to inhabit in this peculiar habitat in the southeast of the Iberian Peninsula. Insect phenology may be particularly sensitive to climate change (Gutiérrez-Illán *et al.*, 2012), but the phenological plasticity observed in the species of this genus could allow them to cope with the expected new climatic conditions in the South Iberian mountains in a previsible climate change scenario. changing their life strategies in the upper sites of these mountain range (Múrria *et al.*, *in prep.*) Population genetic analysis for both endemic species (*A. iglesiasi* and *A. esparraguera*) predicts that species and genetic diversity of *Annitella* in the Sierra Nevada is likely to become lost because these species may not be able to shifts their range

to track suitable conditions, and therefore their survival depend only on phenotypic plasticity and in situ adaptive capacity (Múrría *et al.*, *in prep.*).

ACKNOWLEDGEMENTS

This research received support from the project ref. 039/2007 financed by the Organismo Autónomo de Parques Nacionales (O.A.P.N.) of the Spanish Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente and a fellowship given to M. S.-B. by the 'Research Council of Norway (Program: Yggdrasil) for the study "Life history strategies of *Annitella obscurata* (Trichoptera: Limnephilidae) in Norway". Funds were also provided by a pre-doctoral grant to Marta S.-B. by the Gobierno de Navarra and the Andalusian Government through the Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) to research group RNM-102. Sierra Nevada National Park supplied logistic help and sampling permissions, as well as Andalusian Government. We are very grateful to Alejandra Fernández, Modesto Berbel and all the people who helped us during the field work.

REFERENCES

- Aagaard, K., Solem, J.O., Bongard, T. Hanssen, O. (2004). Studies of aquatic insects in the Atna River 1987-2002. *Hydrobiologia*, **521**, 87–105.
- Beam, B.D. & Wiggins, G. (1987). A comparative study of the biology of five species of *Neophylax* (Trichoptera: Limnephilidae) in southern Ontario. *Canadian Journal of Zoology*, **65**, 1741–1754.
- Becker, G. (2005). Life cycle of *Agapetus fuscipes* (Trichoptera, Glossosomatidae) in a first-order upland stream in central Germany. *Limnologica*, **35**, 52–60.
- Beckerman, A., Benton, T., Lapsley, C., Koesters, N. (2003). Talkin' 'bout my generation: environmental variability and cohort effects. *The American naturalist*, **162**, 754–67.
- Botosaneanu, L. (1975). Die endemischen Trichopteren der Karpaten. *Verhandlungen des Sechsten International Symposiums über Entomofaunistik in Mitteleuropa*, 91–103.
- Brittain, J.E. & Bildeng, R. (1995). Life cycle of *Arctopsyche ladogensis* (Trichoptera) in a regulated Norwegian river. *Regulated Rivers: Research & Management*, **10**, 71–79.
- Brittain, J.E. & Milner, A.M. (2001). Ecology of glacier-fed rivers: current status and concepts. *Freshwater Biology*, **46**, 1571–1578.
- Butler, M. (1984). Life histories of aquatic insects. *In: Resh, V. & Rosenberg, D. (Eds.), The Ecology of Aquatic Insects*. Praeger, New York, pp. 24–55.
- Camargo, J.A. & García de Jalón, D. (1988). Principales características morfológicas de los géneros ibéricos de la familia Limnephilidae (Trichoptera), en sus últimos estadios larvarios. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **12**, 239–258.

- Castillo-Martín, A. (2000). Parque Nacional de Sierra Nevada. Clima e Hidrología. *En: Canseco eds., Parque Nacional de Sierra Nevada.*
- Conover, D., & E. Schultz, 1995. Phenotypic similarity and the evolutionary significance of countergradient variation. *Trends in Ecology & Evolution*, **10**, 258–252.
- Danks, H., 1999. Life cycles in polar arthropods - flexible or programmed? *European Journal of Entomology*, **96**, 83–102.
- Füreder, L., 1999. High alpine streams: cold habitats for insects larvae. *In: Margesin, R., & Schinner, F. (Eds.), Cold-Adapted Organisms: Ecology, Physiology, Enzymology and Molecular Biology.* Springer-Verlag, Berlin, pp. 181–196.
- Füreder, L., Wallinger, M. & Burger, R. (2005). Longitudinal and seasonal pattern of insect emergence in alpine streams. *Aquatic Ecology*, **39**, 67–78.
- García-Barros, E. (2000). Body size, egg size, and their interspecific relationships with ecological and life history traits in butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea, Hesperioidea). *Biological Journal of the Linnean Society*, **70**, 251–284.
- González, M.A. & Martínez-Menéndez, J. (2011). Checklist of the caddisflies of the Iberian Peninsula and Balearic Islands. *Zoosymposia*, **5**, 115–135.
- González, M.A., Terra, L.S.W., García de Jalón, D. & Cobo, F. (1992). *Lista faunística y bibliográfica de los Tricópteros (Trichoptera) de la Península Ibérica e Islas Baleares.* Asociación española de Limnología, Publicación n° 11, Madrid, 200 pp.
- Graf, W., Murphy, J., Dahl, J., Zamora-Muñoz, C. & López-Rodríguez, M.J. (2008). *Distribution and Ecological Preferences of European Freshwater Organisms.* Pensoft, Sofía, 388 pp.
- Guisande-González, C., Barreiro-Felpeto, A., Maneiro-Estraviz, I., Riveiro-Alarcon, I., Vergara-Castaño, A. & Vaamonde-Liste, A. (2006). Tratamiento de datos. Ediciones Díaz de Santos, Madrid, 996 pp.
- Gutierrez-Illán, J., Gutiérrez, D., Díez, S.B. & Wilson, R.J. (2012). Elevational trends in butterfly phenology: implications for species responses to climate change. *Ecological Entomology*, **37**, 134–144.
- Haidekker, A. & Hering, D. (2008). Relationship between benthic insects (Ephemeroptera, Plecoptera, Coleoptera, Trichoptera) and temperature in small and medium-sized streams in Germany: A multivariate study. *Aquatic Ecology*, **42**, 463–481.
- Hershey, A.E., Lamberti, G., Dominic, T.C., Northington, R.M. (2010). Aquatic Insect Ecology. *In: Thorp, J. & Covich, A.P. (Eds.), Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates,* Elsevier Ltd, pp. 659–694.
- Higler, L.W.G. & Solem, J.O. (1986). Key to the larvae of north-west European *Potamophylax* species (Trichoptera, Limnephilidae) with notes on their biology. *Aquatic Insects*, **8**, 159–169.
- Hobaek, A., Løvik, J.E., Rohrlack, T., Moe, S.J., Grung, M., Bennion, H., Clarke, G. & Piliposyan, G.T. (2012). Eutrophication, recovery and temperature in Lake Mjøsa: detecting trends with monitoring data and sediment records. *Freshwater Biology*, **57**, 1998–2014.
- Holtan, H. (1979). The Lake Mjøsa story. *Archiv für hydrobiologie beiheft ergebnisse der limnologie*, **13**, 242–258.
- Hynes, H. (1970). The ecology of stream insects. *Annual Review of Entomology*, **15**, 25–42.
- Ivković, M., Miliša, M., Previšić, A., Popijač, A. & Mihaljević Z., (2013). Environmental control of emergence patterns: Case study of changes in hourly and daily emergence of aquatic insects at constant and variable water temperatures. *International Review of Hydrobiology* **98**, 104–115.

- Jannot, J.E. (2009). Life history plasticity and fitness in a caddisfly in response to proximate cues of pond-drying. *Oecologia*, **161**, 267–277.
- Jiménez-Valverde, A. & Hortal, J. (2003). Las curvas de acumulación de especies y la necesidad de evaluar la calidad de los inventarios biológicos. *Revista Ibérica de Aracnología*, **8**, 151–161.
- Lavandier, P. & Céréghino, R. (1995). Use and partition of space by two coexisting *Rhyacophila* species (Trichoptera) in a high mountain stream. *Hydrobiologia* (300/301), 157–162.
- Laugen A.T., Laurila A., Räsänen, K. & Merilä, J. (2003). Latitudinal countergradient variation in the common frog (*Rana temporaria*) development rates – evidence for local adaptation. *Journal of Evolutionary Biology*, **16**, 996–1005.
- Laurila, A., Karttunen, S. & Merilä, J. (2002). Adaptive phenotypic plasticity and genetics of larval life histories in two *Rana temporaria* populations. *Evolution*, **56**(3), 617–627.
- Lechthaler, W. & Stockinger, W. (2005). *Trichoptera—Key to Larvae from Central Europe*. CD-Edition. (Eutaxa, Wien).
- Lehrian, S., Bálint, M., Peter, H. & Pauls, S.U. (2010). Genetic population structure of an autumn-emerging caddisfly with inherently low dispersal capacity and insights into its phylogeography. *Journal of the North American Benthological Society*, **29**, 1100–1118.
- Lencioni, V. (2004). Survival strategies of freshwater insects in cold environments. *Journal of Limnology*, **63**, 45–55.
- Lepneva, S.G. (1966). *Fauna SSSR, Ručeiniki, Lichinki i Kukolki Podotryada Tse'noshchupikovykh*. Zoologicheskii Institut Akademii Nauk SSSR, Moskva-Leningrad, 2(2), 560 pp. [Fauna of the U.S.S.R. Trichoptera, Larvae and Pupae of Integripalpia. Zoological Institute of the Academy of Science of the USSR, Moscow-St. Petersburg, volume 2, number 2. Translated by the Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem (1971), 638 pp.]
- Levins, R. (1968). *Evolution in Changing Environments: Some Theoretical Explorations*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Løvik, J.E., & Kjellberg, G. (2003). Long-term changes of the crustacean zooplankton community in Lake Mjøsa, the largest lake in Norway. *Journal of Limnology*, **62**, 143–150.
- Mackay, R.J. (1984). Life history patterns of *Hydropsyche bronta* and *H. morosa* (Trichoptera: Hydropsychidae) in summer-warm rivers of southern Ontario. *Canadian Journal of Zoology*, **62**, 271–275.
- Malicky, H. (1994). Die Chaetopterygini (Insecta, Trichoptera, Limnephilidae) in Griechenland. *Annales Musei Gonandris*, **9**, 457–470.
- Malicky, H. (2004). *Atlas of European Trichoptera*, Second edition. Springer, 359 pp.
- Malicky, H. (Ed.) (2013). *Trichoptera*. Fauna Europae version 2.5, <http://www.fauaeur.org>. (acceso 10 mayo de 2014).
- Mani, M.S. (1962). *Introduction to high altitude entomology-Insect life above the timber-line in the North-West Himalaya*. Methuen & Co., Ltd., London, 302 pp.
- Mendez, P.K. & RESH, V.H. (2008). Life history of *Neophylax rickeri* (Trichoptera: Uenoidae) in Two Northern California Streams. *Annals of the Entomological Society of America*, **101**, 573–584
- Morse, J.C., (Ed.) (2014). Trichoptera World Checklist. <http://entweb.clemson.edu/database/trichopt/index.htm> (acceso 10 mayo de 2014).
- Múrria, C., Zamora-Muñoz, C., Bonada, N., Ribera, C. & Prat, N. (2010). Genetic and

- morphological approaches to the problematic presence of three *Hydropsyche* species of the *pellucidula* group (Trichoptera: Hydropsychidae) in the westernmost Mediterranean Basin. *Aquatic Insects*, **32**(2), 85–98.
- Múrria, C., Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C., *et al.* Integrating evolutionary history, species distribution and population dynamics for predicting vulnerability to extinction of the two endemic species of *Annitella* (Trichoptera, Limnephilidae) in the Sierra Nevada (Iberian Peninsula). *In preparation*.
- Nagy, L. & Grabherr, G. (2009). *The Biology of Alpine Habitats*. Oxford University Press, 376 pp.
- Naiman, R.J. & Sedell, J.R. (1979). Benthic organic matter as a function of stream order in Oregon. *Archiv für Hydrobiologie*, **87**, 404–422.
- Nordli, P.Ø. & Grimenes, A.A. (2004). The climate of Atndalen. *Hydrobiologia*, **521**, 7–20.
- Nylin, S. & Gotthard, K. (1998). Plasticity in life-history traits. *Annual Review of Entomology*, **43**, 63–83.
- Oláh, J. & Kovács, T. (2012). New species and records of autumnal Trichoptera from Albania. *Folia Historico Naturalia Musei Matraensis*, **36**, 89–104.
- Olivares, F.J., Barea-Azcón, J.M., Pérez-López, F.J., Tinaut, A. & Henares, I. (2011). *Las mariposas diurnas de Sierra Nevada*. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía, 512 pp.
- Panzenbock, M. & Waringer, J. (1997). A key to fifth instar larvae of *Halesus radiatus* Curtis 1834, *Halesus digitatus* Schrank 1781 and *Halesus tessellatus* Rambur 1842 (Trichoptera: Limnephilidae), based on Austrian material. *Aquatic Insects*, **19**, 65–73.
- Reavey, D. (1992). Egg size, first instar behaviour and the ecology of Lepidoptera. *Journal of Zoology*, **227**, 277–297.
- Reiso, S. & Brittain, J.E. (2000). Life cycle, diet and habitat of *Polycentropus flavomaculatus*, *Plectrocnemia conspersa* and *Rhyacophila nubila* (Trichoptera) in Øvre Heimdalen, Jotunheimen Mountains, Norway. *Norwegian Journal of Entomology*, **47**, 113–124.
- Resh, V. H. & Rosenberg, D.M. (1984). *The Ecology of Aquatic Insects*. Praeger, New York, 625 pp.
- Roff, D. (1980). Optimizing development time in a seasonal environment: The ups and downs of clinal variation. *Oecologia*, **45**, 202–208.
- Ruiz-García, A. & Ferreras-Romero, M. (2007). The larva and life history of *Stenophylax crossotus* McLachlan, 1884 (Trichoptera: Limnephilidae) in an intermittent stream from the southwest of the Iberian Peninsula. *Aquatic Insects*, **29**(1), 9–16.
- Ruiz-García, A., Salamanca-Ocaña, J.C. & Ferreras-Romero, M. (2004). The larvae of *Allogamus gibraltarius* González & Ruiz, 2001 and *Allogamus mortoni* (Navás, 1907) (Trichoptera, Limnephilidae), two endemic species of the Iberian Peninsula. *Annales de Limnologie—International Journal of Limnology*, **40**(4), 343–349.
- Sáinz-Bariáin, M. & Zamora-Muñoz, C. Larval description of *Annitella esparraguera* (Schmid, 1952) and *Annitella iglesiasi* González & Malicky, 1988 (Trichoptera: Limnephilidae), two endemic species from Southern Europe. *Unpublished*.
- Sáinz-Bariáin, M. & Zamora-Muñoz, C. (2012). The larva and life history of *Stenophylax nycterobius* (McLachlan, 1875) (Trichoptera: Limnephilidae) in high mountain streams (Sierra Nevada, Spain) and key to the Iberian larvae of the genus. *Zootaxa*, **81**(3483), 71–81.

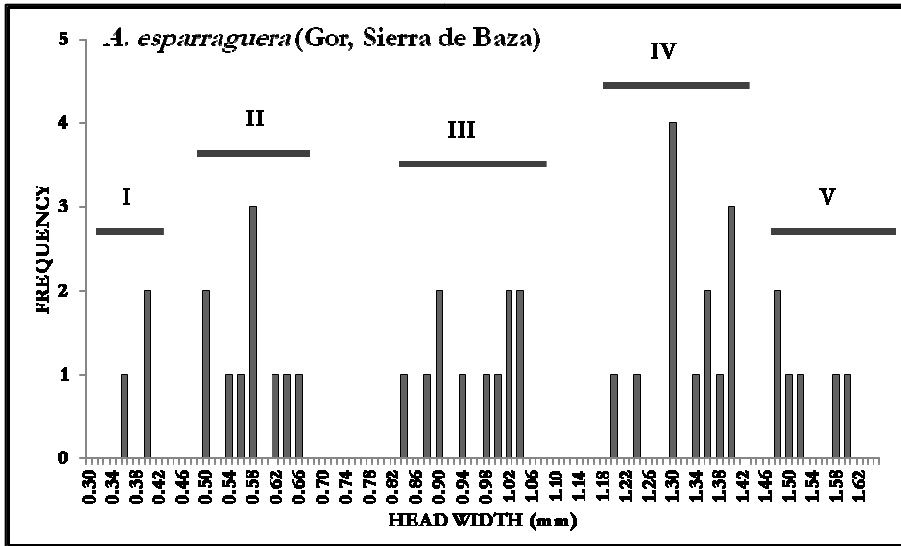
- Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C. & González, M.A. (2013). Los Tricópteros (Trichoptera). *En*: Ruano, F., Tierno de Figueroa, J.M. & Tinaut, A. (Eds.), *Los insectos de Sierra Nevada: 200 años de historia, Vol I*. Asociación Española de Entomología, León, pp. 202–231.
- Sand, K. & Brittain, J.E. (2009). Life cycle shifts in *Baetis rhodani* (Ephemeroptera) in the Norwegian mountains. *Aquatic Insects*, **31**, 283–291.
- Sears, M.W. & Angilletta, M.J. (2003). Life-history variation in the sagebrush lizard: Phenotypic plasticity or local adaptation? *Ecology* **84**, 1624–1634.
- Shama, L.N.S. & Robinson, C.T. (2009). Microgeographic life history variation in an alpine caddisfly: plasticity in response to seasonal time constraints. *Freshwater Biology*, **54**, 150–164.
- Solem, J.O. (1983). Identification of Norwegian genera of limnephilid larvae with single-filament gills (Trichoptera: Limnephilidae). *Entomologica scandinavica*, **14**, 457–461.
- StatSoft, I. (2005). STATISTICA (data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com.
- Stearns, S. (1989). The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience*, **39**, 436–445.
- Sweeney, B.W. (1984). Factors influencing life-history patterns of aquatic insects. *In*: Resh, V.H. & Rosenberg, D.M. (Eds.), *The ecology of aquatic insects*. Praeger Publishers, New York, pp. 56–100.
- Townsend, C.R. & Hildrew, A.G. (1994). Species traits in relation to a habitat templet for river systems. *Freshwater Biology*, **31**, 265–275.
- Tsuruishi, T. (2006). Life cycle of *Himalopsyche japonica* (Morton) (Trichoptera: Rhyacophilidae) in two high mountain streams in Nagano, central Japan. *Hydrobiologia*, **563**, 493–499.
- Vannote, R.L., Minshall, G.W., Cummins, K.W., Sedell, J.R. & Cushing, C.E. (1980). The River Continuum Concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **37**, 130–137.
- Vannote, R.L. & Sweeney, B.W. (2007). Geographic Analysis of Thermal Equilibria: A Conceptual Model for Evaluating the Effect of Natural and Modified Thermal Regimes on Aquatic Insect Communities. *The American Naturalist*, **115**, 667–695.
- Vargas, J.M., Real, R. & Guerrero, J.C. (1998). Biogeographical regions of the Iberian peninsula based on freshwater fish and amphibian distributions. *Ecography*, **21**, 371–382.
- Via, S. & Lande, R. (1985). Genotype-Environment interactions and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution*, **39**(3), 505–522.
- Vieira-Lanero, R. (2000). *Las larvas de los Tricópteros de Galicia (Insecta: Trichoptera)*. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 612 pp.
- Vučković, I., Previšić, A., Graf, W. & Kučinić, M. (2011). Description of the female and new data on the distribution of *Annitella apfelbecki* Klapálek, 1899 (Insecta: Trichoptera). *Aquatic Insects*, **33**, 381–388.
- Wagner, R. (1991). Life cycles of some autumn emerging caddisflies. *In*: Tomszewski, C. (Ed.), *Proceedings of the 6th International Symposium on Trichoptera*. Adam Mickiewicz University Press, Poznan, pp. 171–175.
- Wallace, I.D., Wallace, B. & Philipson, G.N. (2003). *A Key to the Case-bearing Caddis Larvae of Britain and Ireland*. Freshwater Biological Association Scientific Publication 61, Liverpool, 259 pp.

- Ward, J.V. (1992). *Aquatic Insect Ecology 1. Biology and habitat*. Wiley-Blackwell, New York, 456 pp.
- Ward, J.V. & Stanford, J.A. (1982). Thermal responses in the evolutionary ecology of aquatic insects. *Annual Review of Entomology*, **27**, 97–117.
- Waringer, J. & Graf, W. (1997). *Atlas der Österreichischen Köcherfliegenlarven: Unter Einschluss der angrenzenden Gebiete*. Facultas-Universitätsverlag, Vienna, 286 pp.
- Waringer, J. & Graf, W. (2011). *Atlas der mitteleuropäischen Köcherfliegenlarven—Atlas of Central European Trichoptera Larvae*. Erik Mauch Verlag, Dinkelscherben, Germany, 468 pp.
- Waringer, J., Graf, W., Kućinić, M., Previšić, A. & Vučković, I. (2009). The larva and life cycle of *Annitella apfelbecki* (Klapálek, 1899), including a redescription of *Melampophylax nepos* (McLachlan, 1880) (Trichoptera: Limnephilidae). *Aquatic Insects*, **31**, 71–80.
- Williams, D.D. & Feltmate, B.W. (1992). *Aquatic insects*. C.A.B. International, Wallingford, U.K., 358 pp.
- Williams, N. & Wiggins, G. (1981). A proposed setal nomenclature and homology for larval Trichoptera. In: Moretti, G.P. (Ed.), *Proceedings of the 3rd International Symposium on Trichoptera*. Dr. W. Junk publishers, The Hague, pp. 421–429.
- Zamora-Muñoz, C. & Alba-Tercedor, J. (1992). Description of the larva of *Rhyacophila* (*Rhyacophila*) *nevada* Schmid, 1952 and key to the species of *Rhyacophila* of the Iberian Peninsula (Trichoptera: Rhyacophilidae). *Aquatic Insects*, **14**, 65–71.
- Zamora-Muñoz, C., Alba-Tercedor, J. & García de Jalón, D. (1995). The larvae of the genus *Hydropsyche* (Hydropsychidae; Trichoptera) and keys for the identification of species of the Iberian Peninsula. *Mitteilungen Der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, **68**, 189–219.
- Zamora-Muñoz, C., Picazo, J., Alba-Tercedor, J. (1997). New findings on the larval pattern variability in *Rhyacophila meridionalis* Pictet, 1865 (Trichoptera: Rhyacophilidae). *Aquatic Insects*, **19**, 1–8.

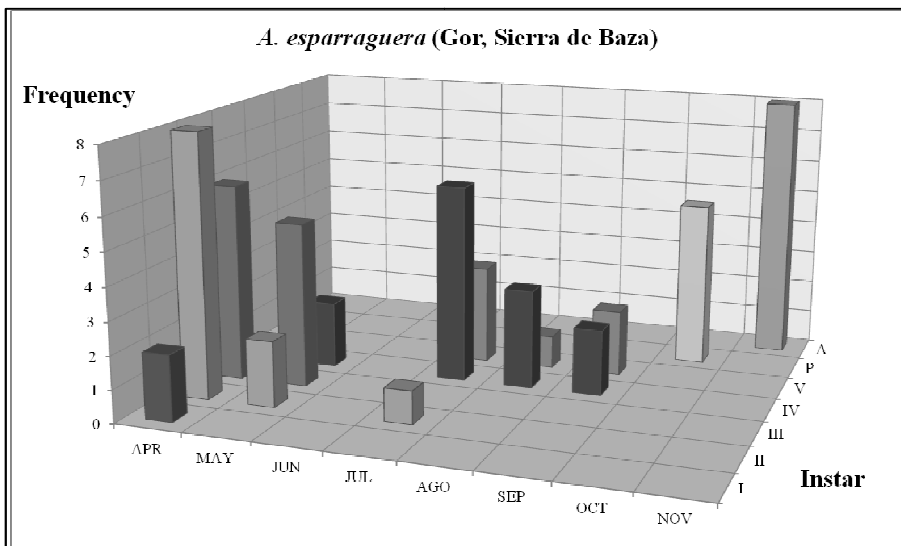
Appendix 1. 1. Frequency distribution histogram of head width measurements and 2. Life history diagram of A. *Annitella esparraguera* (Gor); B. *Annitella esparraguera* (Monachil); C. *Annitella iglesiasi* (Manuel Casas); D. *Annitella obscurata* (Atna); E. *Annitella obscurata* (Mjosa)

A

1



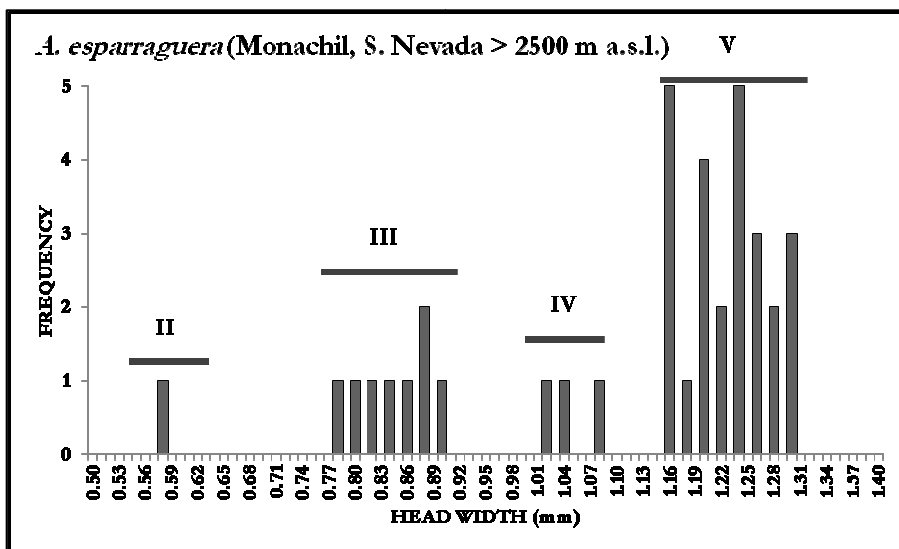
2



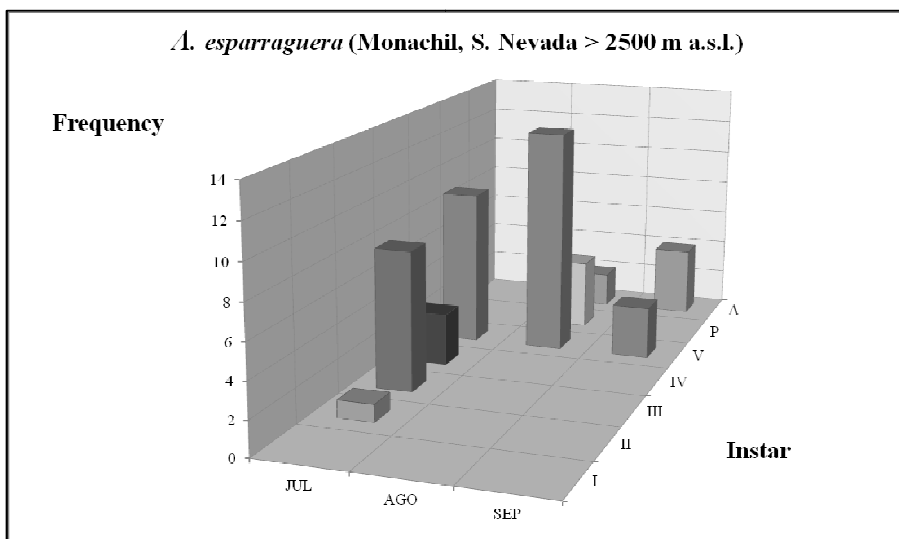
Appendix 1 – Continuation

B

1



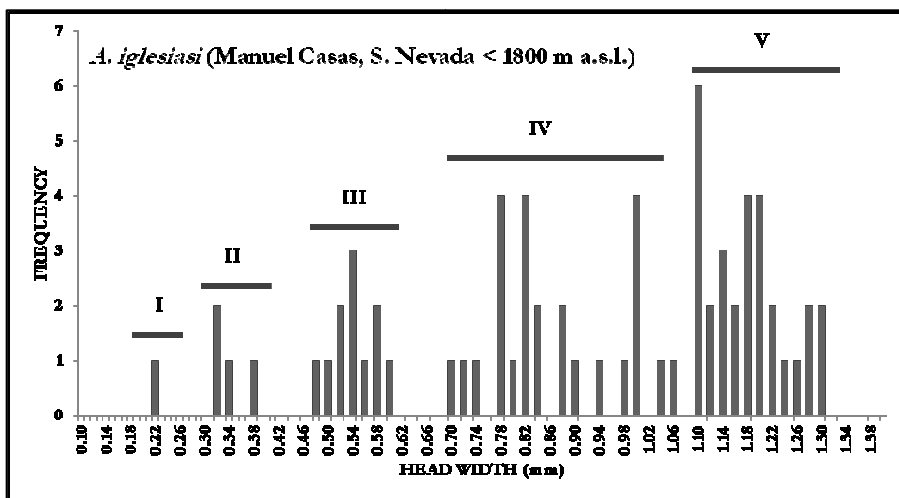
2



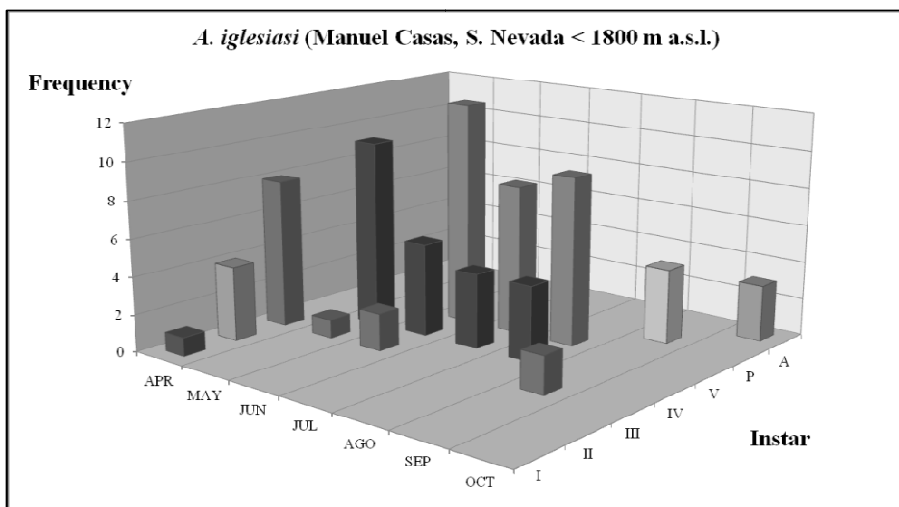
Appendix 1 - Continuation

C

1



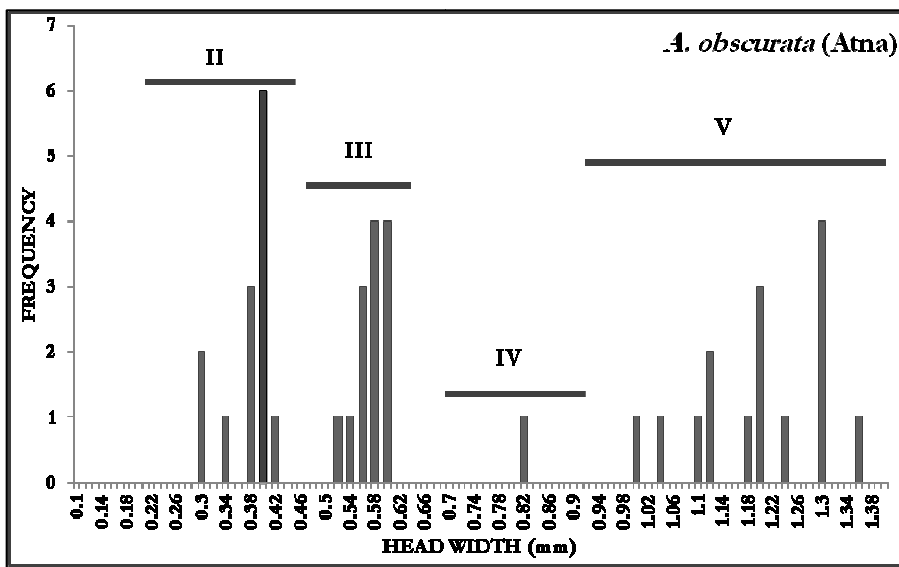
2



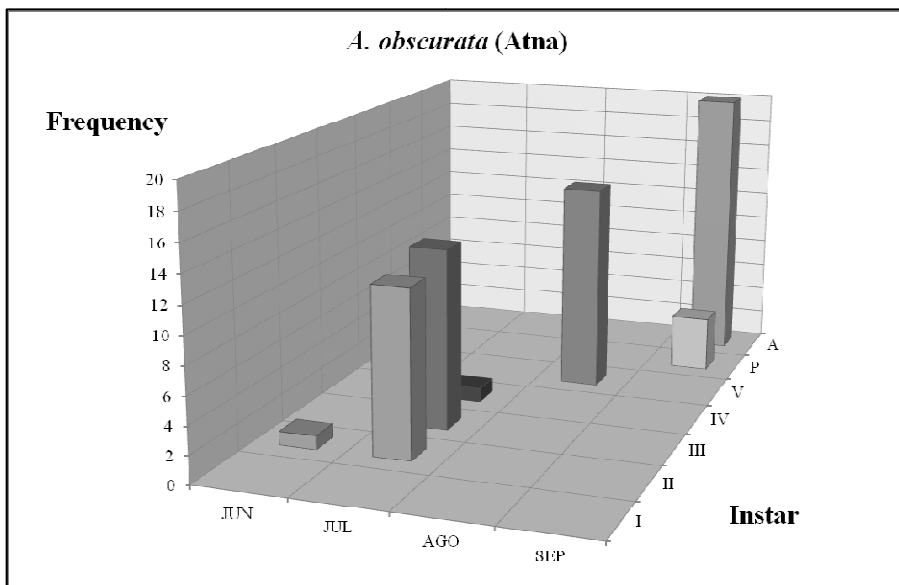
Appendix 1 - Continuation

D

1



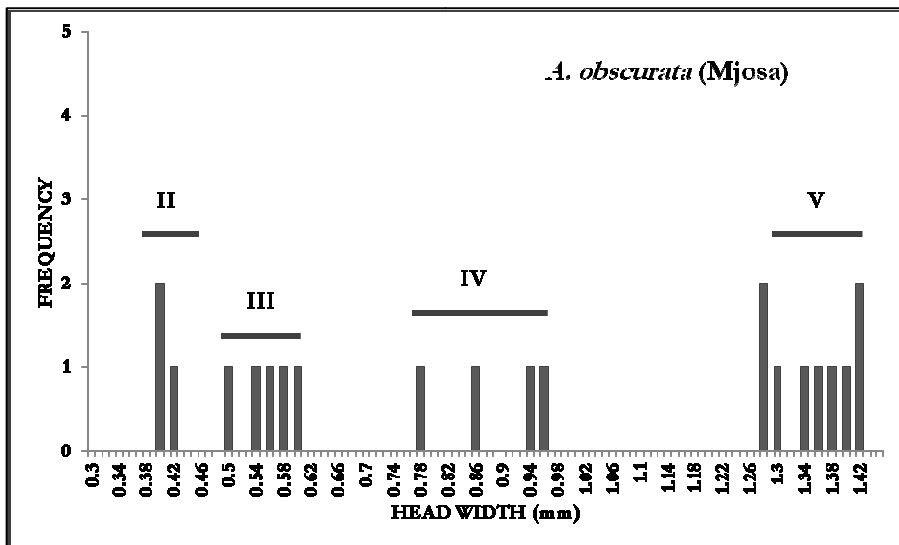
2



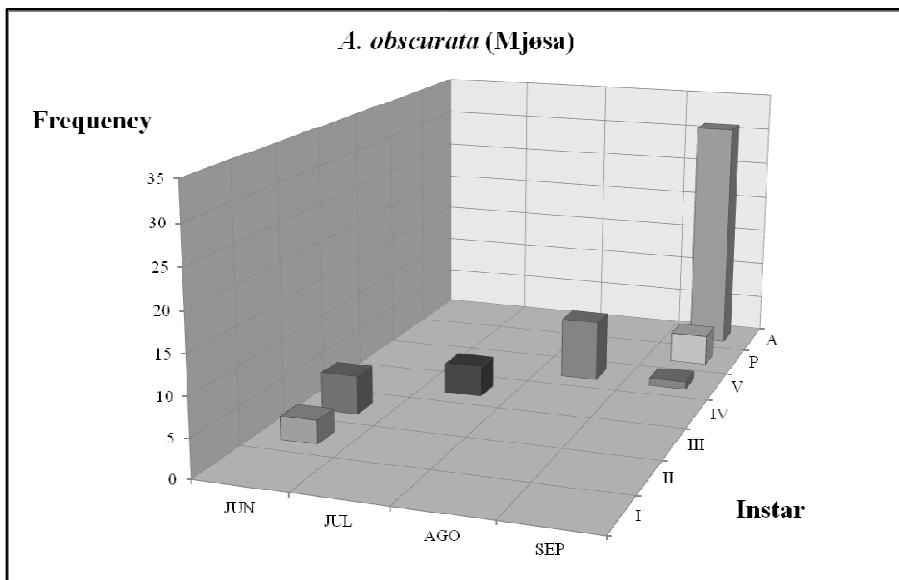
Appendix 1 - Continuation

E

1



2



**BLOQUE 3: FILOGENIA DE LA
SUBFAMILIA LIMNEPHILINAE Y
ANÁLISIS GENÉTICOS
POBLACIONALES DE DOS
ESPECIES EUROPEAS DEL
GÉNERO *ANNITELLA***



Río Atna, Noruega, verano 2010

Capítulo 5

Integrating evolutionary history, species distribution and population dynamics for predicting vulnerability to extinction of the two endemic species of *Annitella* (Trichoptera: Limnephillidae) in the Sierra Nevada (Iberian Peninsula)



Abstract

*Integrating evolutionary processes operating at large spatio-temporal scale together with ecological processes acting at small spatio-temporal scale provides fundamental insights into the processes that create and maintain biodiversity. This integrative approach in turn may be relevant for predicting how communities respond to human-induced alterations as climate change. Headwater cold-tolerant genus *Annitella* (Trichoptera) has a Palaearctic distribution with high endemism. Their species range are commonly restricted to high-altitude isolated streams because the poor dispersal abilities of flying adults. The Sierra Nevada (South-East Iberian Peninsula) is the southern mountain range in the distribution of *Annitella* and harbours two species: *A. iglesiasi* and *A. esparraguera*. Here, we determined and compared geographical range, environmental preferences, evolutionary history and genetic patterns for these two species for predicting their vulnerability to extinction under warming climate change. Population genetic analysis for both species evidenced high number of local and unique *cox1* haplotypes, low genetic diversity within all populations and limited gene flow among populations, which indicate extreme isolation. Whole genus *Annitella* phylogeny suggests that these species are glacial relicts that expanded during Pleistocene glacial periods and survived postglacial periods by elevation shifts. In the Sierra Nevada the two endemic species belongs to two different lineages, which explain their co-occurrence. Overall, predictions of climate change on Mediterranean regions increase both habitat instability and loss, under this scenario our study predicts that species and genetic diversity of *Annitella* in the Sierra Nevada is likely to become lost because these species may not be able to shift their range to track suitable conditions, and therefore their survival depend only on phenotypic plasticity and in situ adaptive capacity.*

Keywords: *caddisfly; endemic species; phylogeography; global change; population genetics; *cox1*.*

Manuscrito:

Múrria, C., Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C. *et al.* **Integrating evolutionary history, species distribution and population dynamics for predicting vulnerability to extinction of the two endemic species of *Annitella* (Trichoptera: Limnephillidae) in the Sierra Nevada (Iberian Peninsula).** *En preparación.*

INTRODUCTION

Species distribution depends on dispersal limitation, environmental filtering and species interactions, thus geographical range of species and turnover among communities are therefore strongly associated to ecological and neutral processes (Chase & Myers, 2011). Current patterns and structure of biodiversity resulting for these factors acting over extended time scales have been driving the biogeographic and evolutionary history of each species (Avisé, 2009). Understanding the partition of all these factors is still challenging for ecologists and new approaches integrating evolutionary processes operating at large spatio-temporal scale together with ecological processes acting at small spatio-temporal scale are still needed (Lessard *et al.*, 2013). New fundamental insights into the processes that create and maintain biodiversity may be in turn especially relevant for predicting how communities respond to human-induced alterations as climate change, and environmental gradients.

Ongoing climate change will increase the frequency and magnitude of ecosystem disturbance, which will reduce habitat stability resulting in short-term local population extinction. Moreover, the anticipated acceleration of the trend to higher temperatures globally will cause long-term, permanent shifts in habitat availability and therefore range of species (IPCC, 2007a; EEA, 2008). Freshwaters have the most accentuated biodiversity decline since 1970 according with the Living Planet Index (United Nations Environment Programme, 2012) and currently the highest threatened biota with extinction (Cuttelod *et al.*, 2008). This is relevant for Mediterranean streams, because in this climate region is expected an increased annual average air temperatures and decreased annual average precipitation and hydrologic alterations, which together will result in increased frequency, intensity and duration of extreme events, such as floods, droughts and fires (Ulbrich *et al.*, 2006; IPCC, 2007b). However the vulnerability to extinction should depend on the severity of habitat changes, population dynamics and dispersion abilities, and species traits (Bonada *et al.*, 2007; Filipe *et al.*, 2013).

A key parameter determining the persistence of a lineage is the stability of its habitats. All habitats are prone to change, but some habitats are more changeable than others, hence the persistence of resident populations is affected to various degrees. Also habitats differ in their spatial distribution within a heterogeneous landscape, affecting connectivity (Manel *et al.*, 2003; Hodgson *et al.*, 2009). Persistence of populations therefore is greatly dependent on the combined effect of habitat stability and the propensity for dispersal (passive or active) among habitat patches where stability is low. Species that evolved in instable habitat are expected to have less vulnerability to extinction risk because traits related to dispersion have been positively selected (Ribera & Vogler, 2000; Ribera, 2008), in contrast species in more stable or isolated habitats may have high vulnerability to extinction (Brown *et al.*, 2007). Hence, extinction risk will be variable among species because species have different functional traits and evolutionary histories.

Connectivity among rivers is highly fragmented by terrestrial ecosystems and diversity patterns of aquatic insects are expected highly structured (Bilton *et al.*, 2001; Bohonak & Jenkins, 2003; Hughes, 2007). Along river zonation headwaters and lowlands differ in connectivity by an increase of topographic barriers from river mouth to headwaters. Because habitat type influences population dynamics by dispersal limitation over long temporal scale, headwater specialists have higher genetic structuring and speciation rates than more dispersive lineages that inhabit mid-order and lowland reaches (Múrria *et al.*, 2013). This variable connectivity along river zonation resulted in higher β - and γ -diversity at species and population levels for aquatic macroinvertebrates species that inhabit headwaters than lowland reaches (Finn *et al.*, 2011; Múrria *et al.*, 2013). Hence headwater species have high endemism and diversity at regional scale associated to high isolation and long-term habitat stability (Bonada *et al.*, 2009; Múrria *et al.*, 2013), which may result in high extinction risk at both genetic or species levels linked to global climate changes (Bálint *et al.*, 2011; Finn *et al.*, 2013, 2014).

Genus *Annitella* Klapálek (Trichoptera, Limnephilidae, Chaetopterygini) has a Palaearctic distribution restricted to cold waters in high altitude streams and usually species are endemics to single mountain ranges or small cold areas (Malicky, 1994). The *Annitella* genus contains 14 autumn-emerging species of short, rounded wings, being common the appearance of brachypterous adults, and are considered poor fliers (Schmid, 1952; Malicky, 1994; Oláh & Kovács, 2012). Only one of these species, *A. obscurata* McLachlan, 1876, is widely distributed from Scandinavia to the Spanish Pyrenees (González & Martínez-Menéndez, 2011; Malicky, 2013), which indicates very limited potential for long-distance dispersal for this group. Their insular distribution across Europe is evident for six endemics at Alps, Carpathians or Balkans [*A. apfelbecki* (Klapálek, 1899), *A. chomiacensis* (Dziedzielewicz, 1908), *A. lateroproducta* (Botosaneanu, 1952), *A. thuringica* (Ulmer, 1909), *A. triloba* Marinkovic-Gospodnetic, 1957, and *A. ostroviensis* Oláh & Kovács, 2012] (Figure 1). In the Iberian Peninsula has been described six endemic species [*A. amelia* Sipahiler, 1998, *A. cabeza* Sipahiler, 1998, *A. esparraguera* (Schmid, 1952), *A. iglesiasi* González & Malicky, 1988, *A. lalomba* Sipahiler, 1998, and *A. sanabriensis* (González & Otero, 1985)] (Sipahiler, 1998; Sáinz-Bariáin & Zamora-Muñoz, 2012; Malicky, 2013), Figure 1) and another one from both sides of the Pyrenees, *A. pyrenaea* (Navás, 1930). The Sierra Nevada (South-East Iberian Peninsula) is the southern mountain range in the distribution of *Annitella* and harbours two species: *A. iglesiasi* and *A. esparraguera*, which are from different lineages. *Annitella iglesiasi* belongs to the subgenus *Praeannitella* Schmid, 1952 together with the widely distributed *A. obscurata*. *Annitella esparraguera* is phylogenetically close related to the other 11 species belonging to subgenus *Annitella* Klapálek, 1907 (Morse, 2014, Figure 1). Because these two *Annitella* species are cold-adapted patchily distributed endemics in the Sierra Nevada (Sáinz-Bariáin *et al.*, 2013), their present-day genetic diversity is especially threatened through global warming. As consequence of predicted habitat loss, *Annitella* species in Sierra Nevada may

lose a large part of their range, also endemic species are characterised by a restricted ecological niche and limited dispersal for coping predicted environmental changes (Brown *et al.*, 2007; Hering *et al.*, 2009). Moreover whole-range distribution of Trichoptera shifts in altitude in the last two decades probably due also to the effect of climate change in the Sierra Nevada (Sáinz-Bariáin *et al.*, unpublished.) However vulnerability of *Annitella* may depend on their particular evolutionary history, acquired functional traits, geographical range and population dynamics.

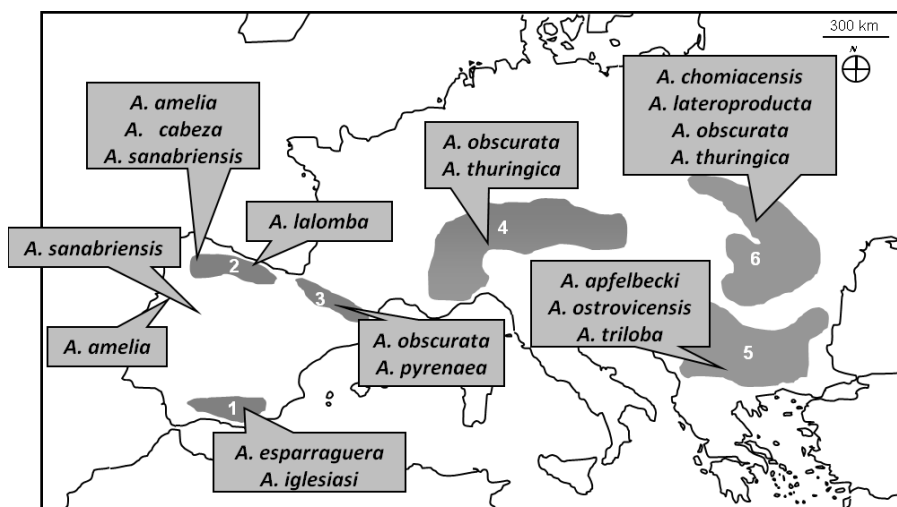


Figure 1. Locations of *Annitella* species across Europe. 1. Sierra Nevada; 2. Picos de Europa; 3. Pyrenees; 4. Alps; 5. Balkans; 6. Carpathians.

This study aims to determine and compare geographical range, environmental preferences, evolutionary history and genetic patterns for these two species for predicting their vulnerability to extinction. Integrating all these approaches may offer complementary information for better predictions of species vulnerability under future scenarios of climate change. Short-winged, autumn-emerging caddisfly species showed strong genetic population structure (Lehrian *et al.*, 2010), being highly threatened to extinction. We hypothesized that species within lineages phylogenetically highly structured by isolation among stable habitats (i.e., dispersion not required), such as *A. esparaguera*,

should have narrow geographical distribution and high vulnerability to massive losses of genetic diversity. In contrast, species evolved in lineages weakly genetically structured, such as *A. iglesiasi*, may show wide geographical range and high gene flow among populations. Therefore we predict that *A. esparraquera* should have higher vulnerability to extinction linked to global climate change than *A. iglesiasi*. Overall, this study may provide new insights for using together evolutionary history, ecological variables and functional traits for predicting species vulnerability associated to expected changes in habitat stability.

MATERIAL AND METHODS

Study sites and habitat preferences of A. esparraquera and A. iglesiasi

Sierra Nevada, the second highest range in Europe after the Alps is located in South Iberian Peninsula. In its high altitudes, 47 streams were sampled for assessing the geographical range of *A. esparraquera* and *A. iglesiasi*. Moreover *Annitella* was also surveyed in two sites of two proximal ranges that belonged to the same mountain system, The Baetic Mountain: the Sierra de Baza and the Sierra de Cazorla (Table 1, Figure 2). At all these localities in the Sierra Nevada, in 2008 larvae were sampled seasonally (spring, summer and autumn) by “Kick sampling” using a 30 cm wide hand net (mesh size = 500 μm) in distinct habitats at each locality. Larvae were collected near shores at a water depth less than 50 cm of slow running creeks on different types of substrate; muddy, moss, macrophytes or gravel. Adults were captured by sweeping the riparian vegetation with an entomological net or with light-traps. Larval material was conserved in absolute ethanol for molecular analysis. Specimens in the Sierra de Baza were collected in 2009 following the same methodology as above. In the Sierra de Cazorla, larvae of *Annitella* were sampled in autumn 2009 and 2010 by “Kick sampling”, and adults were caught using light traps.

Table 1. Diversity and composition of *cox1* haplotypes for the two species *Annitella esparraguera* and *A. iglesiasi*. For each species, Sites (Code); Catchments; geographical locations and Altitude (Alt.); mountain range; number of specimens sequenced (N); total haplotypes (h) and genetic diversity as measures average nucleotide diversity (π); number of segregated sites (S); and index of gene flow Snn with p-value are indicated.

Species	Sites (Code)	Catchment	X_UTM	Y_UTM	Alt.	Mountain Range	N	h (Id)	S	π	Snn (p-value)
<i>A. esparraguera</i>	Río Alhama (AL)	Guadalquivir	477554	4112204	2150	Sierra Nevada	2	2 (5,11)	2	0.0037	
	Borreguiles Monachil (MO)	Genil	465816	4103202	2679	Sierra Nevada	14	3 (2,3,4)	4	0.00247	
	Borreguiles Dilar (DI)	Genil	466148	4104564	2855	Sierra Nevada	2	2 (7,8)	1	0.00185	
	Río Gor (GO)	Guadalquivir	513147	4133118	1773	Sierra de Baza	16	5 (1,6,10,12,13)	5	0.0037	
	Nacimiento Guadalquivir (GA)	Guadalquivir	505475	4194974	1378	Sierra de Cazorla	8	2 (9,10)	1	0.00185	
TOTAL							42	13	10	0.00481	0.38 (>0.05)
<i>A. iglesiasi</i>	Río Alhama (AL)	Guadalquivir	477554	4112204	2150	Sierra Nevada	4	4 (1,2,6,8)	5	0.00555	
	Río Laroles (LA) *	Adra	495909	4102162	1753	Sierra Nevada	6	4 (5,6,7,10)	5	0.0037	
	Manuel Casas (MA)	Genil	460987	4105369	1704	Sierra Nevada	19	5 (2,3,4,6,9)	5	0.00481	
	Barranco de los Tejos (TE)	Andarax	504076	4107093	1500	Sierra Nevada	1	1 (7)	-	-	
	Barranco Pasillos* (PA)	Guadalquivir	493948	4107674	1646	Sierra Nevada	2	2 (6,7)	1	0.00185	
TOTAL							32	10	8	0.00444	0.13 (>0.05)

* Sites where *A. esparraguera* was found, but DNA amplification failed.

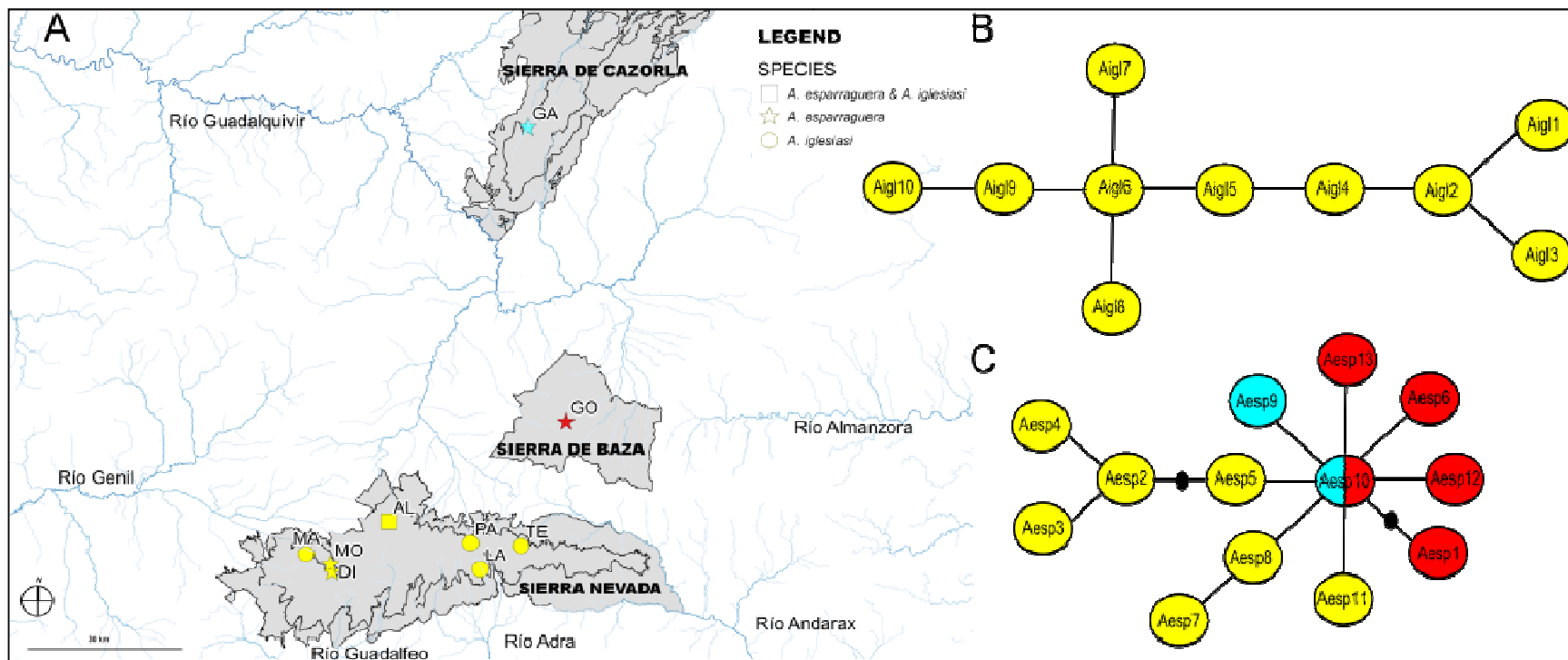


Figure 2. Maps showing localities and geographical distribution of studied specimens in the Baetic Mountain range (A), and *cox1* haplotype networks for *Annitella iglesiasi* (B) and *A. esparraguera* (C). TCS v.121 with a 95% connection limit was used to reconstruct the haplotype networks. In the maps, colours indicate populations from Sierra Nevada, yellow; Sierra de Baza, red; Sierra de Cazorla, blue.

In order to determine environmental preferences of each species, several physicochemical parameters were seasonally (spring, summer and autumn) measured *in situ* for each of the 47 sampling sites in the Sierra Nevada and Sierra de Baza: water temperature and pH (Waterproof pHTestr 10, 20 y 30, Eutech Instruments, Oakton), and conductivity (Eutech Conductivímetro Eco-Scan Con6 Agua). Water samples were also taken to measure the following nutrients and cations according to the methodology described in Rodier (1998): ammonium (mg / l); phosphate (mg / l); nitrites (mg / l); nitrates (mg / l); sulfates (mg / l), calcium (mg / l), magnesium (mg / l) and chloride (mg / l). A Principal Components Analysis (PCA) on the environmental descriptors mentioned above was performed to infer habitat preferences of each species using ade4 in R (Dray & Dufour, 2007).

Intraspecific genetic structure of A. esparraguera and A. iglesiasi

Population genetic analysis performed on individual species-level entities is a common approach to test dispersion and biogeography (Avice, 2009; Knowles, 2009), and recently used also for inferring responses to climatic shifts (Pauls *et al.*, 2013). For the population genetic analysis, DNA of 65 individuals was extracted from the abdominal segments I–V using WizardSV 96 extraction plates (Promega, Southampton, UK). A total of 614 bp of mtDNA Cytochrome Oxidase I (*cox1*) gene using primer sets C1-J-2183 (Simon *et al.*, 1994) and S20 (Pauls *et al.*, 2003) and PCR thermocycle programs described in Pauls *et al.* (2003). Amplification products were purified using Millipore Multiscreen 96-well plates (Millipore, Billerica, MA, USA) and sequenced in both directions using the BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Sequencing reactions were purified by ethanol precipitation and run on an ABI PRISM3700 DNA Analyzer (Applied Biosystems). Sequence chromatograms were assembled and edited using the Sequencher 4.6 software (Gene Codes Corp, Ann Arbor, MI USA).

In order to describe genetic diversity for each *Annitella* species,

polymorphic sites and nucleotide diversity π (i.e., the average number of nucleotide differences per site between two sequences) (Nei, 1987) were calculated. In order to infer the level gene flow by estimating genetic structure among populations, Snn statistics (Hudson, 2000) were used. All these analyses were performed using DnaSP v5 (Librado & Rozas, 2009). To visualize relationships among haplotypes, a statistical parsimony haplotype network was constructed with a 95% connection limit using TCS v.1.21 (Clement *et al.*, 2000).

Phylogenetic analysis

The phylogenetic analysis used 44 specimens belonging to 27 morphological species of two tribes within subfamily Limnephilinae Kolenati, 1848 (Limnephilidae, Trichoptera) and the out-group *Drusus bosniacus* Klapálek, 1899 (Trichoptera, Limnephilidae, Drusinae). The tribe Chaetopterygini Hagen, 1858 included among others, two subgenera of genus *Annitella* (*Annitella* and *Praeanitella*) and the genera *Chaetopteryx* Stephens, 1829 and *Chaetopterygopsis* Stein, 1874. The tribe Stenophylacini Schmid, 1955 included among others the genera *Allogamus* Schmid, 1955, *Halesus* Stephens, 1836, *Potamophylax* Wallengren, 1891 and *Stenophylax* Kolenati, 1848. *Annitella* specimens were collected in several mountain ranges across Europe (Figure 1): *Annitella amelia* Sipahiler 1998 and *A. sanabriensis* (González & Otero, 1985) from the Cordillera Cantábrica; *A. apfelbecki* (Klapálek, 1899) and *A. triloba* (Marinković & Gospodnetić, 1957) from the Balkans; *A. chomiacensis* (Dziedzielewicz, 1908), *A. lateroproducta* (Botosaneanu, 1952), *A. thuringica* (Ulmer, 1909) and *A. obscurata* (McLachlan, 1876) from the Carpathians, the last one was also captured in two sites in Norway; and *A. pyrenaea* (Navás, 1930) from the Pyrenees. The species *A. cabeza* Sipahiler, 1998 and *A. lalomba* Sipahiler, 1998 were not found and the new species *A. ostrovicensis* was described after these analyses. All these specimens were collected for us, generously provided by several European colleagues or few *cox1* gene sequences were obtained from GenBank (Table 2).

Table 2. Description of species used in the phylogenetic analysis. For each species is indicated the country where it was collected and the name of collector. For some specimens, the number at the “Collector” column indicated accession number for *cox1* sequences downloaded from GeneBank.

TRIBE	GENUS (Subgenus)	SPECIES	COUNTRY	COLLECTORS
	<i>Drusus</i>	<i>D. bosnicus</i>		GQ470609
Chaetopterygini	<i>Annitella</i> (<i>Annitella</i>)	<i>A. chomiacensis</i>	Poland	B. Szczesny
		<i>A. triloba</i>	Bulgaria	Á. Ecsedi, T. Kovács & G. Puskás
		<i>A. lateroprodacta</i>	Romania	M. Bálint
		<i>A. lateroprodacta</i>	Ukraine	B. Szczesny
		<i>A. esparraguera</i>	Spain	M. Sáinz-Bariáin & M. Fernández, C. Zamora-Muñoz
		<i>A. amelia</i>	Spain	M. Sáinz-Bariáin
		<i>A. sanabriensis</i>	Spain	J. Martínez & M. González
		<i>A. thuringica</i>	Ukraine	B. Szczesny
		<i>A. pyrenaea</i>	Spain	N. Bonada
		<i>A. apfelbecki</i>	Croatia	I. Vukovic A. Previsi
	(<i>Praeannitella</i>)	<i>A. obscurata</i>	Norway	M. Sáinz-Bariáin, J. E. Brittain & C. Zamora-Muñoz
		<i>A. iglesiasii</i>	Spain	M. Sáinz-Bariáin
	<i>Chaetopterygopsis</i>	<i>C. maclachlani</i>		HM005185
	<i>Chaetopteryx</i>	<i>C. lusitanica</i>	Spain	M. Sáinz-Bariáin & M. Berbel
		<i>C. villosa</i>	Norway	M. Sáinz-Bariáin, J. E. Brittain & C. Zamora-Muñoz
		<i>C. fusca</i>		FJ002688
Stenophylacini	<i>Allogamus</i>	<i>A. mortoni</i>	Spain Morocco	M. Sáinz-Bariáin C. Múrria
		<i>A. gibraltarcus</i>	Spain	M. Ruiz
		<i>A. laureatus</i>	Spain	M. Sáinz-Bariáin & M. Berbel
		<i>A. laureatus</i>	Portugal	M. Sáinz-Bariáin & M. Berbel

Table 2 – Continuation

TRIBE	GENUS (Subgenus)	SPECIES	COUNTRY	COLLECTORS
		<i>A. sp1</i>	Spain	C. Zamora-Muñoz
		<i>A. uncatius</i>		FJ799804
		<i>A. ligonifer</i>	Portugal	M. Sáinz-Bariáin & M. Berbel
		<i>A. auricolis</i>	Spain	N. Bonada
	<i>Halesus</i>	<i>H. tessellatus</i>	Spain	M. Sáinz-Bariáin
	<i>Potamophylax</i>	<i>P. sp1</i>	Norway	M. Sáinz-Bariáin, J. E. Brittain & C. Zamora-Muñoz
		<i>P. latipennis</i>	Spain	M. Sáinz-Bariáin
	<i>Stenophylax</i>	<i>S. sequax</i>	Spain	M. Sáinz-Bariáin & M. Berbel

After amplifying *cox1* gene as described above, the two nuclear genes elongation factor 1-alpha (*ef1 α* ; 484 bp) and 28S ribosomal subunit domains D3 (28S; 703 bp) were amplified using the primer sets described in Múrria (2012). Forward and reverse strands were sequenced using BigDye v.3.1 and an ABI 3730 automated sequencer (Applied biosystems). Sequences were assembled and edited using Sequencher v.4.6 (Genecodes Corp., Ann Arbor, MI, USA) and aligned using the online version of MAFFT 5.8 (Katoh *et al.*, 2005). Gene partitions were combined in a single data matrix. Maximum likelihood searches were conducted with RAxML 7.0.3 (Stamatakis, 2006). Individual models of nucleotide substitution (GTR + C + I, with default number of C-categories) were specified for each gene partition. The best trees were selected from 1000 multiple inferences, and clade support was assessed by means of 1000 nonparametric bootstrap resampling replicates of the original matrix.

RESULTS

Range distribution differs among the two species, *A. esparraquera* showed wider geographical distribution in the region than *A. iglesiasi* because

A. esparraguera was located in the Sierra Nevada but also in the two nearby mountain ranges, the Sierra de Baza and the Sierra de Cazorla. In the Sierra Nevada, these two species were located only at 7 of 47 sampling sites and co-occurred in only three sites, Río Alhama, Río Laroles and Río Pasillos (Table 1, Figure 2). Although both species inhabited high altitude streams, *A. esparraguera* was located in two adjacent sites at higher altitude than *A. iglesiasi*, which was recorded in several sites distributed across Sierra Nevada (Table 1). These two species were never located at low altitudes where sites were characterized by high conductivity and concentration of sulphates, calcium, magnesium and chloride (Figure 3).

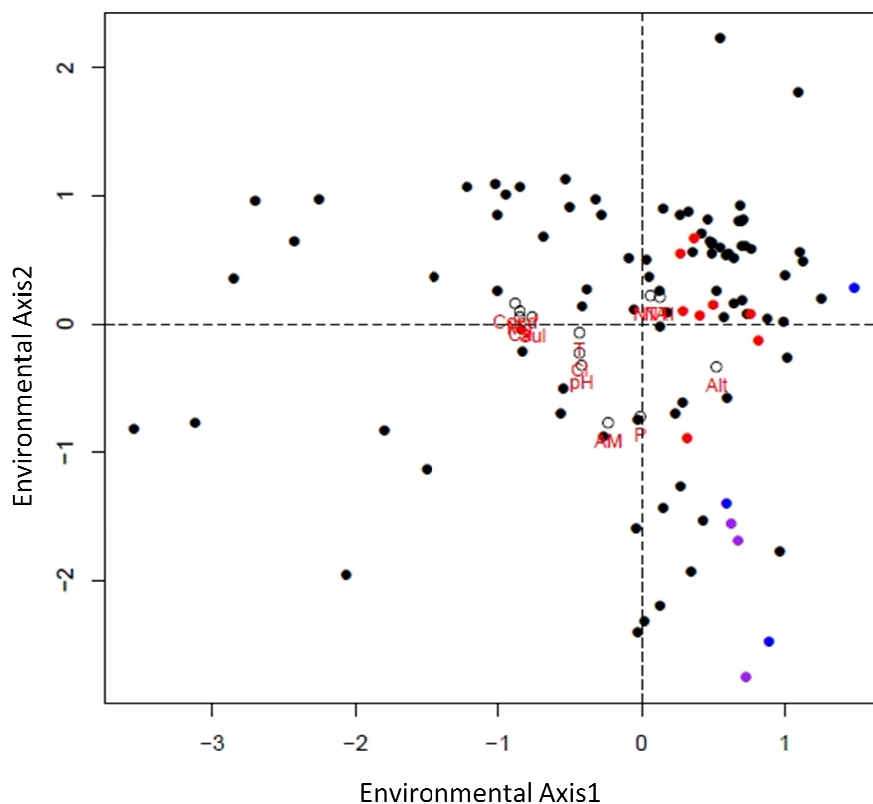


Figure 3. Results of the principal components analysis on environmental variables per 47 sites data in the Sierra Nevada using all available data from different seasons. In red are the sites where *Anitella iglesiasi* alone was located, in purple the sites where both *A. iglesiasi* and *A. esparraguera* were located, and in blue the sites for only *A. esparraguera*. In black the sites where *Anitella* was not present. In red environmental variables as follow: Alt, Altitude; T, temperature; pH, pH; Cond, conductivity; AM, ammonium; P, phosphorus; NIT, nitrites; NTA, nitrates; Sul, sulphates; Ca, calcium; Mg, magnesium; Cl, chloride.

The 13 unique *cox1* haplotypes of *A. esparraguera* included 10 polymorphic sites (1.62%) with 10 singleton variable sites and nucleotide diversity (π) of 0.00481, whereas the 10 unique *cox1* haplotypes for *A. iglesiassi* contained 8 polymorphic sites (1.3%) with 10 singleton variable sites and a nucleotide diversity (π) of 0.00444 (Table 1). Haplotypes composition indicates higher genetic homogenization for *A. iglesiassi* than *A. esparraguera* because for *A. esparraguera* only one haplotype was found in two populations, which were located in different mountain ranges, whereas several haplotypes for *A. iglesiassi* were found at least in two populations and up to 4 populations. For both species the parsimony haplotype network was compacted and only two missing haplotypes were detected for *A. esparraguera* (Figure 2), which indicate low genetic differentiation among sites. Snn tests of genetic structure did not showed genetic structure among populations for both *A. esparraguera* ($S_{nn} = 0.38$, $p > 0.05$) and *A. iglesiassi* ($S_{nn} = 0.13$, $p > 0.05$; Table 1). The absence of genetic structure for both species in Sierra Nevada and the surrounding area seems to be more related to the low genetic intraspecific genetic diversity and high similarity among sites (Figure 2) than high gene flow among streams because few haplotypes were collected in several sites.

The maximum likelihood searches provided high support for three clades for the two tribes analysed, Stenophylacini and Chaetopterygini (Figure 4). The genera *Annitella* within Chaetopterygini was displayed in two main clades, one formed exclusively of the subgenera *Annitella*, which includes 9 endemic species from high mountain ranges across Europe, whereas subgenera *Praeanitella* was clustered together with genus *Chaetopteryx* and *Chaetopterygopsis*. *Annitella obscurata* and *A. iglesiassi* were supported. In contrast, *A. chomiacensis*, *A. triloba* and *A. lateroproducta* species within the subgenera *Annitella* were not supported. *Annitella esparraguera* was also supported and their close related species were located in the Balkans (*A. apfelbecki*), Alps and Carpathians (*A. thuringinca*) and other mountain ranges in the Iberian Peninsula (*A. amelia*, *A. sanabriensis* and *A. pyrenaea*). The genera *Halesus*, *Potamophylax* and *Stenophylax*

within the tribe Stenophylacini were supported in the phylogenetic tree, whereas genus *Allogamus* was paraphyletic.

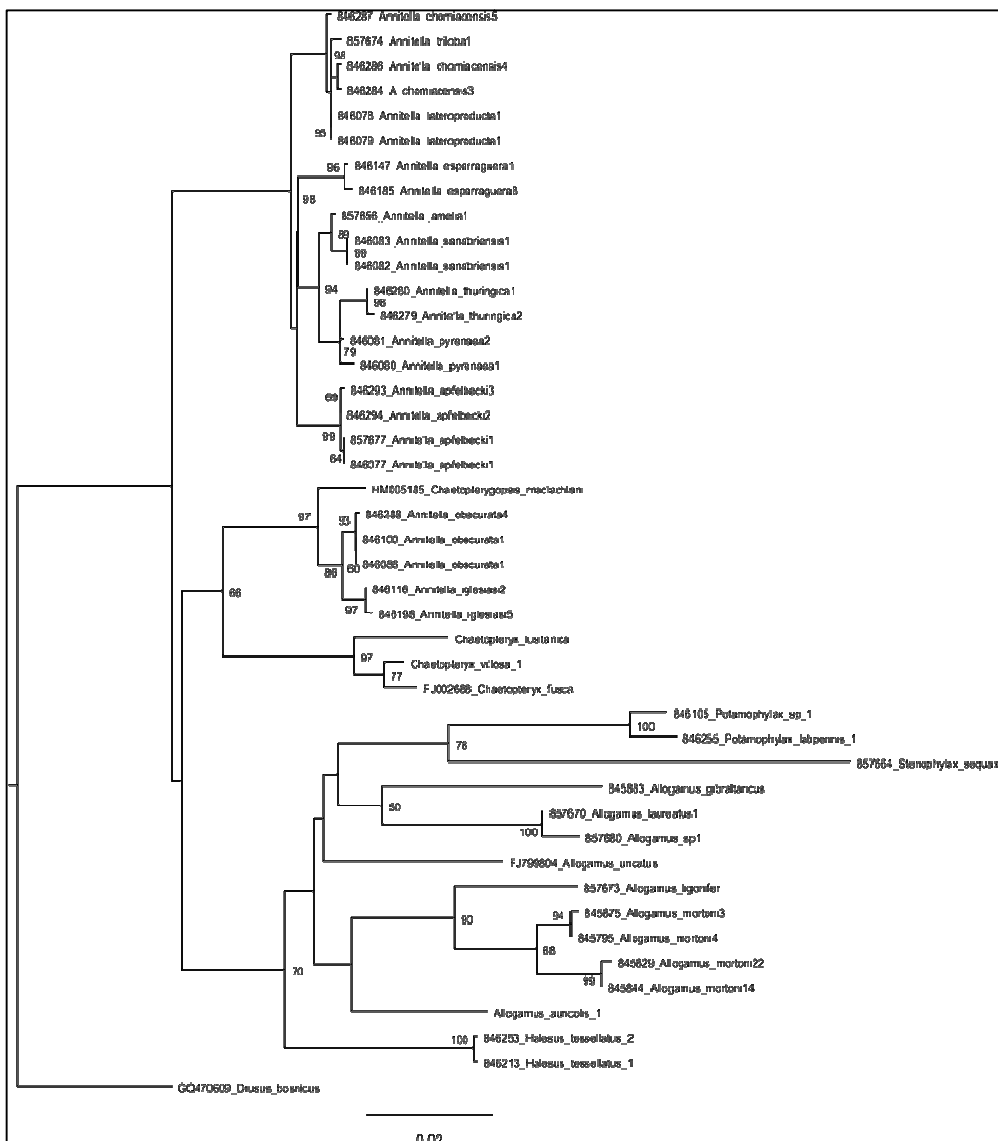


Figure 4. Phylogenetic relationship among species of tribus Chaetopterygini and Stenophylacini included in this study and the outgroup *Drusus bosnicus* (Trichoptera: Limnephilidae) based on combined Maximum Likelihood inference analysis of three genes. Branch support indicated maximum likelihood bootstrap (> 60).

DISCUSSION

Predictions of climate change on Mediterranean regions increase both habitat instability and loss (IPCC, 2007a), under this scenario our study predicts that species and genetic diversity of *Annitella* in the Sierra Nevada is likely to become lost. Global climate change promotes general latitudinal and altitudinal species movements searching favourable environmental conditions (Parmesan & Yohe, 2003; Hickling *et al.*, 2006; Parmesan, 2006), however headwater cold-tolerant species, such as *Annitella*, are extremely isolated and shifts in their distribution are restricted because cannot move further upstream (Lehrian *et al.*, 2010; Taubmann *et al.*, 2011). In addition these headwater cold-tolerant species may be progressively replaced by species from lower river sections and temperature-generalist species (Daufresne *et al.*, 2007; Domisch *et al.*, 2011), as it was evidenced in the Sierra Nevada with upstream movements of whole caddisflies communities (Sáinz-Bariáin *et al.*, *unpublished*). Vulnerability of both *Annitella* species is particularly alarming in the Sierra Nevada because our results evidenced high number of local and unique *cox1* haplotypes, low genetic diversity within all populations and limited gene flow among populations. Dispersal of larvae in *Annitella* is very restricted to short-distance movement among adjacent slow running creeks, which implies that long distance dispersion among streams or catchments is restricted to winged adult life stages. However, adults should disperse short distances because of the shape of their wings, the brachyptery found for some individuals (Schmid, 1952; González & Malicky, 1988) and the fact that adult emergence occurs during cold periods, when dispersal generally is assumed to be poor (Lehrian *et al.*, 2010). Therefore the causing mechanisms for current genetic distribution of *Annitella* predicts their high threatens and are associated to long-term habitat stability in running waters (Ribera *et al.*, 2003), poor dispersal abilities of larvae and adults, and intrinsic genetic barriers at highlands that limit adult dispersion among catchments (Finn *et al.*, 2011; Múrria *et al.*, 2013). High genetic structured patterns are common in montane insects due to low gene flow rates

between populations even in species capable of active flight (Finn *et al.*, 2006; Pauls *et al.*, 2006; Lehrian *et al.*, 2009). Overall, our integrative approach predicts that *Annitella* in the Sierra Nevada may not be able to shift their range to track suitable conditions, and their survival may depend on phenotypic plasticity and adaptive capacity. Despite genetic diversity provides the basis for phenotypic plasticity and adaptability (Forsman, 2014), *A. esparraguera* showed high phenotypic plasticity because timing of aquatic larvae stages and phenology differed along an altitudinal gradient (Sáinz-Bariáin *et al.*, *in prep.*). On one hand genetic differentiation and structure warn on threatened of these two species, however phenotypic plasticity indicates potential adaptability if all habitats that currently harboured *Annitella* in Sierra Nevada are preserved.

Pleistocene glacial cycles have deeply affected the patterns of biodiversity in the Palaearctic Region (Hewitt, 2000). Mediterranean peninsulas have been interpreted as major Pleistocene glacial refuges areas and “hotspots” of endemism because populations isolated in these refuges underwent genetic differentiation and eventually speciation (Bilton *et al.*, 1998; Hewitt, 2004; Ribera & Vogler, 2004). In addition, Bilton *et al.* (1998) suggested that diversity survived also in non-Mediterranean refuges, such as the southern slopes of the Carpathian Mountains, the hills of Crimea, the southwestern Ural Mountains, and the northern slopes of the Altai Mountains. Based on the high genetic structure by low dispersion of *A. iglesiasi* and *A. esparraguera* detected in the Sierra Nevada, the phylogeny of *Annitella* clearly supports this model because contains six Iberian and three Balkan endemic species in Mediterranean refuges and three endemic species located in non-Mediterranean refuges. The phylogeny suggests that headwater cold-tolerant *Annitella* is a glacial relict genus that expanded during Pleistocene glacial periods and survived postglacial periods by elevation shifts. It diversified by genetic accumulation in isolated and stable populations at high-medium altitude because their restricted postglacial recolonization abilities. Evidence of high isolation and local endemism is the morphology-based gradient of the genitalia for *Annitella*

species along the main axis of the Carpathians that may suggest incipient speciation (Botosaneanu, 1975). Thus, the biogeographical pattern of *Annitella* could be the common for arctic-alpine fauna characterized by large range distribution in the periglacial areas and postglacial retreats through latitudinal movements to North and altitudinal movements within European mountain systems in the South (Schmitt, 2007). Hence, two different evolutionary processes drive subgenera diversification within *Annitella*. On one side, local endemics at central and southern European mountain systems within subgenera *Annitella*, which have been accumulating genetic differentiation by isolation-by-distance. On the other side the widespread species in the *Praennitella* group, *A. obscurata*, which is the only species recorded in high latitude mountain chains at the north of Pyrenees, Alps and Carpathians.

In the Sierra Nevada the two endemic species belongs to two different lineages that have different evolutionary history. All 9 phylogenetically close related species within subgenus *Annitella* included in the phylogeny have accumulated few genetic divergences, suggesting a recent split that may be associated to cyclic glacial fluctuations during the Quaternary. This cluster of species forms a morphological series, characterized in the male genitalia (Sipahiler, 1998). All of them show tergite 8 with a membranous area posteriorly but, despite low molecular divergence within subgenus *Annitella*, male genitalia show clear differences within this lineage. Species could be morphologically grouped in relation to the presence and shape of the sclerotized posterior projection, and shape of the aedeagus and the intermediate appendages (Sipahiler, 1998), which agrees with molecular distances in the current phylogeny. However, several hybrids between species have been described, for instance *A. dziedzielenwiczji*, *A. kosciuszki* and *A. transylvanica* as result of crossing of *A. chomiacensis* and *A. lateroproducta* (Szczytny, 1979). In contrast the two species within subgenus *Praennitella* are clearly genetically differentiated, which suggest that lineage diversification was earlier than species within subgenus *Annitella*, however both species show

similar male genitalia (González & Malicky, 1988; Sipahiler, 1998). Despite wide distribution of *A. obscurata* in Central-North Europe indicates dispersal abilities for this species, genetic divergence within *Praennitella* and genitalia similarities suggest long-term isolation of ancient *A. obscurata* in the Sierra Nevada, and associated genetic drift in allopatry that may explain its speciation to *A. iglesiasi*. This evolutionary process indicates that connectivity between Pyrenees, which harbours *A. obscurata*, and the Sierra Nevada, which harbours *A. iglesiasi*, is restricted during overextended time scales. Hence, *Annitella* species in the Iberian Peninsula are located in few high-altitude, isolated mountain ranges that suggest a progressive decline of their distribution and increased isolation since last glacial period to local streams where species survived. It is expected accumulation of high genetic differentiation in Mediterranean areas in Pleistocene refuges (Schmitt, 2007), but *A. iglesiasi* and *A. esparraguera* accumulated low genetic diversity among populations. This may be explained by isolation and decreases in population size that frequently have signals of reduced genetic diversity through bottlenecks until they reach equilibrium (Knowles, 2009).

Overall, our study warns of the potential effects of future climate change because reduced geographical distribution, narrow ecological niche and limited dispersal for two *Annitella* species in the Sierra Nevada. Southernmost endemic species are specially endangered as a result of their low dispersal for colonising northern Europe afterwards, which suggests low potential for buffering against climate change impacts by dispersión (Hering *et al.*, 2009). Detected low genetic diversity for *A. iglesiasi* and *A. esparraguera* seems to be more related to extinction than low divergence rate, which indicate a decrease of species range and population sizes, and therefore low intraspecific genetic diversity may be associated to an incipient bottle neck. Moreover, cold-adapted insects are limited to short-distance compensatory altitudinal shifts that extremely reduce their response to climate warming (Bálint *et al.*, 2011), which is especially dramatic for the *Annitella* species in the Sierra Nevada. Until now

studies on species vulnerability to extinction under human induced climate change commonly used bioclimatic modelling to identify environmental limits and predict future species distribution considering different climatic models (Araújo & New, 2006). These studies ignore evolutionary history, causing mechanism of current distribution ranges and species assemblage, and current dynamics of populations. Our DNA approach integrating geographical range distribution, environmental preferences, evolutionary history and genetic patterns offers complementary information for better predictions of species vulnerability under the threat of the climate change. Thorough DNA analyses are needed to assess finer details of temporal dynamics and evolutionary origins of present-day communities for predicting more precisely their future distribution range and associated vulnerability to extinction risk.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was funded by the Organismo Autónomo de Parques Nacionales (O.A.P.N.) of the Spanish Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (project ref.: 039/2007) and the Andalusian Government/Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) to the research group RNM-102. Marta Sáinz-Bariáin was supported by a PhD grant from the Government of Navarre and a grant from the Research Council of Norway (YGGDRASIL program). Sierra Nevada National Park supplied logistic help and provided with sampling permissions, as well as Andalusian Government. This study was also carried out during the development of the following projects: CGL2007–61856/BOS and CGL2007-60163/BOS (RICHABUN project) funded by the Spanish Ministry of Education and Science /FEDER, and RNM-02654 by the Andalusian Government respectively. We are also very grateful to Alejandra Fernández and Modesto Berbel for their field assistance and all the people who helped us during the samplings, especially John Brittain for his help in Norway. We want to thank Anna Papadopoulou for her help in phylogenetic analysis and all the researchers who provided us specimens: Alain Dohet, Ana Previšić, Bronislaw

Szczesny, Ivan Vukovic, János Oláh, Jesús Martínez, Marta Fernández, Antonio Ruiz and Miklós Bálint.

REFERENCES

- Araújo, M.B. & New, M. (2006). Ensemble forecasting of species distribution. *Trends in Ecology and Evolution*, **22**, 42-47.
- Avise, J.C. (2009). Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, **36**, 3-15.
- Bálint, M., Domisch, S., Engelhardt, C.H.M., Haase, P., Lehrian, S., Sauer, J., Theissinger, K., Pauls, S.U. & Nowak, C. (2011). Cryptic biodiversity loss linked to global climate change. *Nature Climate Change*, **1**, 313-318.
- Bilton, D.T., Mirol, P.M., Mascheretti, S., Fredga, K., Zima, J. & Searle, J.B. (1998). Mediterranean Europe as an area of endemism for small mammals rather than a source for northwards postglacial colonization. *Proceedings of the Royal Society B*, **265**, 1219-1226.
- Bilton, D.T., Freeland, J.R. & Okamura, B. (2001). Dispersal in freshwater invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **32**, 159-181.
- Bohonak, A.J. & Jenkins, D.G. (2003). Ecological and evolutionary significance of dispersal by freshwater invertebrates. *Ecology letters*, **6**, 783-796.
- Bonada, N., Dolédec, S. & Statzner, B. (2007). Taxonomic and biological traits differences of stream macroinvertebrate communities between mediterranean and temperate regions: implications for future climatic scenarios. *Global Change Biology*, **13**, 1658-1671.
- Bonada, N., Múrria, C., Zamora-Muñoz, C., El Alami, M., Poquet, J.M., Puntí, T., Moreno, J.L., Bennis, N., Alba-Tercedor, J., Ribera, C. & Prat, N. (2009). Using community and population approaches to understand how contemporary and historical factors have shaped species distribution in river ecosystems. *Global Ecology and Biogeography*, **18**, 202-213.
- Botosaneanu, L. (1975). Die endemischen Trichopteren der Karpaten. *Verhandlungen des Sechsten International Symposiums über Entomofaunistik in Mitteleuropa*, 91-103.
- Brown, L.E., Hannah, D.M. & Milner, A.M. (2007). Vulnerability of alpine stream biodiversity to shrinking glaciers and snowpacks. *Global Change Biology*, **13**, 958-966.
- Clement, M., Posada, D. & Crandall, K. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, **9**, 1657-1660.
- Chase, J.M. & Myers, J.A. (2011). Disentangling the importance of ecological niches from stochastic processes across scales. *Philosophical transactions of the royal society B*, **366**, 2351-2363.
- Cuttelod, A., García, N., Abdul-Malak, D., Temple, H. & Katariya, V. (2008). The Mediterranean: a biodiversity hotspot under threat. In: Vié, J., Hilton-Taylor, C. & Stuart, S. (Eds.), *The 2008 Review of The IUCN Red List of Threatened Species*, Gland, Switzerland, pp. 1-13.
- Daufresne, M., Bady, P. & Frugé, J.F. (2007). Impacts of global changes and extreme hydroclimatic events on macroinvertebrate community structures in the French Rhône River. *Oecologia*, **151**, 544-559.
- Domisch, S., Jähnig, S.C. & Haase, P. (2011). Climate-change winners and losers: stream macroinvertebrates of a submontane region in Central Europe. *Freshwater Biology*, **56**, 2009-2020.

- Dray, S. & Dufour, A.B. (2007). The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software*, **22**, 1-20.
- European Environment Agency, EEA (2008). Impacts of Europe's changing climate. 2008 indicator based assessment. Joint EEA-JRC-WHO report, Copenhagen.
- Filipe, A.F., Lawrence, J.E. & Bonada, N. (2013). Vulnerability of stream biota to climate change in mediterranean climate regions: a synthesis of ecological responses and conservation challenges. *Hydrobiologia*, **719**, 331-351.
- Finn, D.S., Bonada, N., Múrria, C. & Hughes, J.M. (2011). Small but mighty: headwaters are vital to stream network biodiversity at two levels of organization *Journal of North American Benthological Society*, **30**, 963-980.
- Finn, D.S., Khamis, K. & Milner, A.M. (2013). Loss of small glaciers will diminish beta diversity in Pyrenean streams at two levels of biological organization. *Global Ecology and Biogeography*, **22**, 40-51.
- Finn, D.S., Theobald, D.M., Black, W. & Poff, N.L. (2006). Spatial populations genetic structure and limited dispersal in a Rocky Mountain alpine insect. *Molecular Ecology*, **15**, 3553-3566.
- Finn, D.S., Zamora-Muñoz, C., Múrria, C., Sáinz-Bariáin, M. & Alba-Tercedor, J. (2014). Evidence from recently deglaciated mountain ranges that *Baetis alpinus* (Ephemeroptera) could lose significant genetic diversity as alpine glaciers disappear. *Freshwater Science*, **33**, 1-11.
- Forsman, A. (2014). Effects of genotypic and phenotypic variation on establishment are important for conservation, invasion, and infection biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **111**, 302-307.
- González, M.A., Malicky, H. (1988). Description de quatre nouvelles espèces de Trichoptères de l'Espagne et du Maroc (Trichoptera). *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, **38**, 66-71.
- González, M.A., & Martínez-Menéndez, J. (2011). Checklist of the caddisflies of the Iberian Peninsula and Balearic Islands. *Zoosymposia*, **5**, 115-135.
- Hering, D., Schmidt-Kloiber, A., Murphy, J., Lücke, S., Zamora-Muñoz, C., López-Rodríguez, M.J., Huber, T. & Graf, W. (2009). Potential impact of climate change on aquatic insects: A sensitivity analysis for European caddisflies (Trichoptera) based on distribution patterns and ecological preferences. *Aquatic science*, **71**, 3-14.
- Hewitt, G.M. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, **405**, 907-913.
- Hewitt, G.M. (2004). Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical transactions of the royal society B*, **359**, 183-195.
- Hickling, R., Roy, D.B., Hill J.K, Fox, R. & Thomas, C.D. (2006). The distributions of a wide range of taxonomic groups are expanding polewards. *Global Change Biology*, **12**, 450-455.
- Hogdson, J.A., Moilanen, A. & Thomas, C.D. (2009). Metapopulation responses to patch connectivity and quality are masked by successional habitat dynamics. *Ecology*, **90**, 1608-1619.
- Hudson, R. (2000). A new statistic for detecting genetic differentiation. *Genetics*, **155**, 2011-2014.
- Hughes, J.M. (2007). Constraints on recovery: using molecular methods to study connectivity of aquatic biota in rivers and streams. *Freshwater Biology*, **52**, 616-631.
- IPCC (2007a). Climate change 2007: the physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment. Report of the IPCC. Cambridge

- University Press, Cambridge [available on internet at <http://www.ipcc.ch>].
- IPCC (2007b). Climate change 2007: impacts, adaptation, and vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the IPCC. Cambridge University Press, Cambridge. [available on internet at <http://www.ipcc.ch>].
- Katoh, K., Kuma, K., Toh, H. & Miyata, T. (2005). MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment. *Nucleic Acids Research*, **33**, 511-518.
- Knowles, L. L. (2009) Statistical phylogeography. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **40**, 593-612.
- Lehrian, S., Bálint, M., Peter, H. & Pauls, S.U. (2010). Genetic population structure of an autumn-emerging caddisfly with inherently low dispersal capacity and insights into its phylogeography. *Journal of the North American Benthological Society*, **29**, 1100-1118.
- Lehrian, S., Pauls, S.U. & Haase, P. (2009). Contrasting patterns of population structure in the montane caddisflies *Hydropsyche tenuis* and *Drusus discolor* in the Central European highlands. *Freshwater Biology*, **54**, 283-295.
- Lessard, J.-P., Belmaker, J., Myers, J.A., Chase, J.M. & Rahbek, C. (2013). Inferring local ecological processes amid species pool influences. *Trends in Ecology and Evolution*, **27**, 600-607.
- Librado, P. & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, **25**, 1451-1452.
- Malicky, H. (1994). Die Chaetopterygini (Insecta, Trichoptera, Limnephilidae) in Griechenland. *Annales Musei Goulandris*, **9**, 457-470.
- Malicky, H. (2013). *Trichoptera*. Fauna Europaea version 2.6. <http://www.faunaeur.org>.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G. & Taberlet, P. (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution*, **18**, 189-197.
- Múrria, C., Bonada, N., Arnedo, M.A., Prat, N. & Vogler, A.P. (2013). Higher β - and γ -diversity at species and genetic levels in headwaters than in mid-order streams in *Hydropsyche* (Trichoptera). *Freshwater Biology*, **58**, 2226-2236.
- Múrria, C., Bonada, N., Arnedo, M.A., Zamora-Muñoz, C., Prat, N. & Vogler, A. P. (2012). Phylogenetic and ecological structure of Mediterranean caddisfly communities at various spatio-temporal scales. *Journal of Biogeography*, **39**, 1621-1632.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*, edn. Columbia University Press, New York.
- Oláh, J., Kovács, T. (2012). New species and records of autumnal Trichoptera from Albania. *Folia Historico Naturalia Musei Matraensis*, **36**, 89-104.
- Parmesan, C. (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **37**, 637-669.
- Parmesan, C. & Yohe, G. (2003). A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, **421**, 37-42.
- Pauls, S., Lumbsch, H.T. & Haase, P. (2003). Genetische Isolation von *Drusus discolor* Rambur 1842 (Trichoptera: Limnephilidae) in montanen Mittelgebirgen Mitteleuropas - Erste Ergebnisse. *Deutsche Gesellschaft für Limnologie-Tagungsbericht*, **2002**, 378-379.
- Pauls, S.U., Lumbsch, H. T. & Haase, P. (2006). Phylogeography of the montane caddisfly *Drusus discolor*: evidence for multiple refugia and periglacial survival. *Molecular Ecology*, **15**, 2153-2169.
- Pauls, S.U., Nowak, C., Bálint, M. & Pfenninger, M. (2013). The impact of global

- climate change on genetic diversity within populations and species. *Molecular Ecology*, **22**, 925-946.
- Ribera, I. (2008). Habitat constraints and the generation of diversity in freshwater macroinvertebrates. *Aquatic insects: challenges to populations* (ed. by J. Lancaster & R.A. Briers), pp 289-311. CAB International Publishing, Wallingford.
- Ribera, I., Foster, G.N. & Vogler, A.P. (2003). Does habitat use explain large scale species richness patterns of aquatic beetles in Europe? *Ecography*, **26**, 145-152.
- Ribera, I. & Vogler, A. P. (2000). Habitat types as a determinant of species ranges sizes: the example of lotic-lentic differences in aquatic Coleptera. *Biological Journal of the Linnean Society*, **71**, 33-52.
- Ribera, I. & Vogler, A. P. (2004). Speciation of Iberian diving beetles in Pleistocene refugia (Coleoptera, Dystiscidae). *Molecular Ecology*, **13**, 179-193.
- Rodier, J. (1998). Análisis de las aguas. Ed. Omega. 1058 pp.
- Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C. (2012). New record of *Annitella amelia* Sipahiler, 1998 (Trichoptera, Limnephilidae) in the Iberian Peninsula. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **36**, 203-205.
- Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C. & González, M.A (2013). Los Tricópteros (Trichoptera). In: Ruano, F., Tierno de Figueroa, J.M. & Tinaut, A. (Eds.), *Los insectos de Sierra Nevada: 200 años de historia, Vol I*. Asociación Española de Entomología, León, pp. 202-231.
- Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C. & Brittain, J.E. Life-history strategies of two endemics and one widespread species of genus *Annitella* Klapálek, 1907 (Trichoptera; Limnephilidae). *In preparation*.
- Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C., Soler, J.J., Bonada, N., Sáinz-Cantero, C.E. & Alba-Tercedor, J. Effects of climate change in Mediterranean high mountain Trichoptera over a 20-year period. *Unpublished*.
- Schmid, F. (1952). Contribution a l'étude des Trichoptères d'Espagne. *Pirineos*, **26**, 627-695.
- Schmitt, T. (2007). Molecular biogeography of Europe: Pleistocene cycles and postglacial trends. *Frontiers in Zoology*, **4**, 11.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. & Flook, P. (1994). Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and compilation of conserved polymerase chain reactions primers. *Annals of the entomological Society of America*, **87**, 651-701.
- Sipahiler, F. (1998). Studies on the Genus *Annitella* Klapálek (Trichoptera: Limnephilidae: Chaetopterygini). *Aquatic Insects*, **20**, 149-164.
- Stamatakis, A. (2006). RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, **22**, 2688-2690.
- Szczesny, B. (1979). On the taxons of the genus *Annitella* Klapálek, 1907 (Trichoptera, Chaetopterygini) of the *chomiacensis-lateroproducta* group. *Bulletin de l'académie polonaise des sciences. Série des sciences biologiques II*, **27**, 251-261.
- Taubmann, J., Theissing, K., Feldheim, K.A., Laube, I., Graf, W., Haase, P., Johannesen, J. & Pauls, S.U. (2011). Modelling range shifts and assessing genetic diversity distribution of the montane aquatic mayfly *Ameletus inopinatus* in Europe under climate change scenarios. *Conservation Genetics*, **12**, 503-515.
- United Nations Environment Programme, UNEP (2012). Chapter 5 Biodiversity, Part 1: State and Trends of the Environment. GEO-5: Global environment outlook assessment report.
- Ulbrich, U., May, W., Li, L., Lionello, P., Pinto, J. & Somot, S. (2006) *The Mediterranean*

Climate Change under Global Warming, edn. Elsevier Science, Amsterdam.

BLOQUE 4: LOS TRICÓPTEROS COMO INDICADORES DEL CAMBIO GLOBAL



Río Genil, primavera 2008

Capítulo 6

Effects of climate change in Mediterranean high mountain Trichoptera over a 20-year period



Río Nechite, primavera 2008

Abstract

Climate change in southern Europe is affecting the hydrological regime of aquatic ecosystems. Rivers in Mediterranean high mountains are especially vulnerable because these areas are characterized by extreme climatic conditions of snowed winters and relatively frequent summer droughts. These alterations in the magnitude of high and low river flows are expected to have significant effects on aquatic fauna. Here, we tested this hypothesis by exploring the effect of climatic change (i.e. water temperature rising) and environmental conditions (i.e. altitude) on the caddisfly communities of the Sierra Nevada, during a 20 year-period. On average, water temperature increased almost 2 °C and flows reduced between 8 and 28 % along these years. Caddisfly species richness overall increased but patterns varied depending on water temperature changes and altitude in a non-linear shape. Richness increased in altitude with maximum values at sites of intermediate-high altitude that did experience the largest water temperature changes throughout the study period. Moreover, the lowest richness variations were detected at localities that experienced the lowest water temperature change, with a tendency to increase at sites where water temperature did increase or decrease during the last 20 years. The detected effects of the observed climate change might be due to the colonization of headwaters and middle reaches from lowland species or by those from streams and rivers in nearby mountain chains at lower altitude. The observed richness increase and its association with environmental conditions suggest that mountains with a considerable altitudinal gradient may function as refuges for species and populations during periods of climatic change, which strength the importance of the conservation of mountainous habitat.

Keywords: *altitude, aquatic ecosystems, caddisflies, endemic species, Sierra Nevada National Park, south Iberian Peninsula, species distribution, temperature*

Manuscrito:

Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C., Soler, J.J., Bonada, N., Sáinz-Cantero, C.E. & Alba-Tercedor, J. (enviado). **Effects of climate change in Mediterranean high mountain Trichoptera over a 20-year period.** *Freshwater Biology.*

INTRODUCTION

Climate change is having serious effects on terrestrial and aquatic ecosystems. Over the past 150 years, air temperature has globally increased about 0.8 °C, rainfall patterns are shifting, glaciers are quickly melting, and the sea level is rising (IPCC, 2007; EEA, 2008). Records of temperature in Europe during the last decade were the warmest never recorded (EEA, 2012), being 1.3 °C higher than those of old preindustrial ages. This global warming is changing species phenology, their distribution ranges, and the composition and dynamics of communities (Walther *et al.*, 2002; Menéndez *et al.*, 2006). Future projections of climate change are not very optimistic either and these effects will ultimately trigger biodiversity loss worldwide in the next 50 years (Jenkins, 2003; Thomas *et al.*, 2004).

Mountain ecosystems are expected to react highly sensitively to climate change (IPCC, 2007), mainly in locations where loss of glacier mass, reduced snow cover, thawing of permafrost, and changing precipitation patterns have been observed and are expected to continue increasing (EEA, 2012). Forecasted changes in temperature for each mountain region in Europe show a dramatic reduction in the extent of today's alpine climate zone (Nagy & Grabherr, 2009). In addition, these unfavourable conditions will become more extreme towards the south of Europe, where Mediterranean climate conditions prevail. Mediterranean climate regions (with wet winters and summer droughts; Blondel & Aronson, 1999; Blondel *et al.*, 2010; Bonada & Resh, 2013) are expected to be very sensitive to potential climatic changes (Ulbrich *et al.*, 2006), resulting in one of the most vulnerable ecosystems due to global change (IPCC, 2007). Hence, high mountain ecosystems in climate regions are expected to be twofold sensitive to climate change (Schröter *et al.*, 2005).

These changes on climatic conditions obviously affect biological communities (Parmesan, 2006). Its impact on biodiversity has been studied in a large number of terrestrial animal and plant species (e.g., Parmesan, 2006; González-Megías *et al.*, 2008; Bálint *et al.*, 2011; Wilson & Maclean, 2011).

Aquatic insects will be particularly affected by rising temperature due to their short life cycles depend mainly on temperature variation and most have very narrow tolerance ranges (Wilson & Maclean, 2011; Finn *et al.*, 2014). Sensitivity of aquatic insects to climate change impacts mainly depends on: endemism, preference for springs and cold water temperatures, emergence period, and feeding requirements (Hering *et al.*, 2009). For instance, cold-adapted headwater aquatic insects are likely to experience a loss of habitat because of warming temperatures (Mulholland *et al.*, 1997; Domisch *et al.*, 2011) and these species would be progressively replaced by species of mid and lower reaches, and by temperature-generalist species (Daufresne *et al.*, 2007; Domisch *et al.*, 2011). In addition, development and maturation of aquatic insects depend on annual thermal conditions (Sweeney *et al.*, 1990) and some species have a limited distribution, mainly because of low thermal tolerance, short emergence period, niche specialization, and/or limited dispersal ability; (Hering *et al.*, 2009; Poff *et al.*, 2012). Species living close to the summits face the additional risk of becoming extinct due to their inability of migration to higher areas (EEA, 2012), or to other peaks with similar environmental conditions. Due to the existing altitudinal-temperature gradient in mountains, those species with enough dispersive ability may counteract the effect of climate change by shifting their distribution in space and time to track thermally suitable habitats (Hoffmann & Parsons, 1997; Isaak & Rieman, 2013). In this sense, mountains are also seen as refuge of species and populations during events of climatic changes (Peterson *et al.*, 1997; Hewitt, 2000; Coope, 2004; Quinteiro *et al.*, 2005). Besides these effects of rising temperature, changes in precipitation will translate into altered hydrologic regimes in streams and rivers. Temporal variation in the magnitude, timing, duration, and frequency of hydrologic extremes (floods, low flows) will be altered and act as ecological bottlenecks (Poff *et al.*, 1997; Lytle & Poff, 2004).

Few studies have assessed impacts of climate change on freshwater organisms (Elliott *et al.*, 2000; Bradley & Ormerod, 2001) probably due to the

lack of long-term data sets (Daufresne *et al.*, 2004), and most predictions of freshwater ecosystem changes due to climate variations are based on short-term experiments (Domisch *et al.*, 2013; Pace *et al.*, 2013). Trying to fill this gap, we here study how caddisflies from the Sierra Nevada (south of the Iberian Peninsula) face this new climatic scenario by analysing changes in the species composition over a 20-year period. Trichoptera is a species-rich and ecologically diverse insect order (Williams & Feltmate, 1992; Wiggins, 2004), well-suited as bioindicators to reflect the intensity of different stressors on aquatic ecosystems due to several reasons: it includes (1) a high number of endemic species with narrow ecological niches and limited capacity of dispersion (Lencioni, 2004; Parmesan, 2006); (2) a high number of species linked to the crenon area (Lencioni, 2004; Parmesan, 2006); (3) a high number of species adapted to low temperatures (cold stenothermal species) (Graf *et al.*, 2008); and (4) they have a very diverse range of ecological traits, inhabiting most types of freshwater ecosystems (Resh, 1992). Caddisflies in the Mediterranean Basin are quite diverse (Tierno de Figueroa *et al.*, 2013) and it is expected that distribution and abundance of almost 50% of Iberian species will be affected by climate change (Hering *et al.*, 2009). Thus, caddisflies inhabiting the Sierra Nevada streams and rivers are an appropriated taxonomic group for exploring the effect of climate change on high mountain Mediterranean ecosystems.

Specifically, we studied the relationship between changes in water temperature and discharge regime, and changes in caddisfly species richness from sites at different altitudes. Considering the climate change projections (e.g., IPCC, 2007; Kernan *et al.*, 2010; EEA, 2012;), we expected a decrease in river flow and an increase in water temperature in the Sierra Nevada streams and rivers during the last 20 years. Moreover, since temperature changes should influence species distribution and richness of populations in high mountains at different altitudes (Hoffmann & Parsons, 1997; Isaak & Rieman, 2013), changes on caddisfly species richness in the Sierra Nevada streams and

rivers over the 20-year period should be associated with experienced environmental change of locations at different altitude. Because low-altitude species are able to colonise higher areas (EEA, 2012), and mountains may serve as refuges in scenarios of climate warming (see references above), biodiversity may even increase with altitude. Finding evidences for these predictions would strength the role of mountains as biodiversity refuge and, therefore, the need of conservation of these habitats.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The Sierra Nevada is situated in the southern region of the Iberian Peninsula (Spain, Figure 1). Within the Spanish National Park network, this is the only park including Mediterranean high mountain ecosystems. It includes more than 20 peaks above 3000 m a.s.l., being the highest mountain chain in the Iberian Peninsula and the second in Western Europe after the Alps. The UNESCO Biosphere Reserve Directory describes the relief of this mountain range as unique, with its centre forming an elongated and depressed arch, constituting a series of rounded slopes and gentle hillsides on southern slopes and shows a clear glacial geomorphology with cirques and headwalls on the northern slopes. Therefore, both slopes, the North or Atlantic and the South or Mediterranean show a clear climatic differentiation, manifested in many hydrological, botanical and faunal evidence, and in inherited forms of modelling glacier, the north side is colder, with less hours of sunshine, which influences in the processes of thawing (Castillo-Martín, 2000). Although the Sierra Nevada National Park is situated in a region of Mediterranean climate, its status as High Mountain also confer aspects of a cold Continental climate characterized by hard winters and summers with winter snow cover and summer drought periods (Castillo-Martín, 2000). There is a vast variation in climate within the Sierra Nevada, since snow covers the higher elevations for most of the year, while hot temperatures prevail at the lower elevations,

particularly in summer. As a result of these climatic differentials as well as the Mediterranean influences on the southern slopes, there is enormous biodiversity within the Sierra Nevada (Hogan, 2012). Because of these particular characteristics; it was selected as one of the Mountain Biosphere Reserve by the UNESCO to study the consequence of climate change (Global Change in Mountain Regions, GLOCHAMORE; <http://www.unesco.org/>).

Biological data collection

Aquatic insects of the Sierra Nevada were extensively monitored during the eighties (Alba-Tercedor *et al.*, 1986; Sáinz-Cantero, 1989; Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1992a) and a wide collection of caddisfly samples is available at the University of Granada (Spain). We selected 19 sampling sites from the protected area (Appendix 1) with detailed site descriptions (i.e. water temperature, habitat features, etc.) and caddisfly species surveyed during spring, summer, and autumn of 1984; autumn of 1986 or spring and summer of 1987 (hereafter, studied period 1984-1987). These sites were again sampled during spring, summer, and autumn of 2008 or 2009 (hereafter, studied period 2008-2009) to examine possible changes in species richness and distribution of caddisflies along this 20-year period. Sites included headwaters, middle reaches of streams and rivers, and high mountain lagoons belonging to four river basins: Adra and Guadalfeo in the south facing slope of the massif, and Genil and Fardes in the north facing one. Studied sampling sites covered the entire perimeter of the Sierra Nevada with an altitudinal range between 952 and 3050 m a.s.l. (Figure 1).

Caddisfly larvae and pupae were obtained by exhaustively sampling of lotic and lentic substrates, semi-submersed vegetation and algae of stream and rivers beds and lagoons with a kick net of 500 μm mesh size. Samples were first sorted in the field, and successive samples were taken until no more different taxa were visually detected. They were then preserved in ethanol (70%). Adults were also collected in the field by sweeping riparian vegetation with an entomological net and/or by using an ultraviolet-light trap. In the

laboratory, samples were identified till species level under a binocular microscope (model SMZ MOTIC-168-BL) by using several identification keys (Williams & Wiggins, 1981; Waringer & Graf, 1997, 2011; Vieira-Lanero, 2000; Wallace *et al.*, 2003; Malicky, 2004; Lechthaler & Stockinger, 2005) and scientific publications on particular taxonomic groups (Lepneva, 1966; Higler & Solem, 1986; Camargo & García de Jalón, 1988; Zamora-Muñoz & Alba-Tercedor, 1992b, 1995; Panzenbock & Waringer, 1997; Vieira-Lanero *et al.*, 2003; Ruiz-García *et al.*, 2004; Ruiz-García & Ferreras-Romero, 2007; Múrria *et al.*, 2010). Individuals named as “sp.” could not be identified at species level because of the lack of keys for early-instars larvae and the impossibility of catching adults of these species.

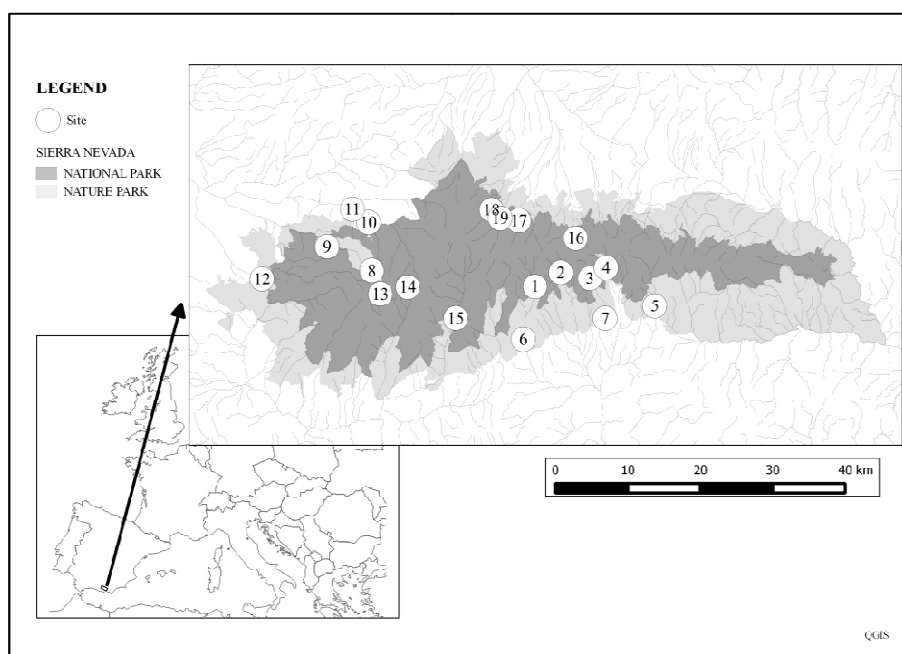


Figure 1. Site location and sampling area. See supporting information, Appendix 1 for corresponding sampling site information.

Ecological data collection

Because of the lack of flow data from the 1984-1987 studied period, average monthly flow data (Q mean) from 1970 to 2009 were downloaded

from the Centre for Hydrographic Studies of CEDEX of the Spanish Ministerio de Medio Ambiente (<http://hercules.cedex.es/general/default.htm>). Data corresponded to two gauging stations located in two rivers in the Genil Basin (the hydroelectric power station of Díchar at 1254 m a.s.l. in the Monachil River and the station of Dílar at 957 m a.s.l. in the Dílar River) from north-western facing slope of the Sierra Nevada. Given that this mountain range has a pluvio-nival hydrological regime, hydrological values were separated and estimated for two discharge magnitude periods, low (October-March) and high (April-September). For the low period, we used average monthly data recorded from October until the end of March of the following year, before melting period. The high period started with the snow melting in spring (April) and extended to the beginning of snow precipitations at the end of September.

At each sampling site and studied period (1984-1987 and 2008-2009), water temperature (in °C) was measured “in situ” with a mercury thermometer and a digital thermometer (waterproof pHTestr 10, 20 & 30, Eutech Instruments, Oakton), respectively.

Statistical analyses

Comparing sampling effort during different studied periods

In order to evaluate if the sampling effort was adequate in both studied periods (1984-1987 and 2008-2009) and the estimates reliable enough for comparing richness at different sampling sites after 20 years, accumulation curves were calculated with the program *EstimateS* (Colwell, 1997) and fitted by the Clench equation, using the estimation method of Simplex & Quasi-Newton:

$$\text{Accumulated richness} = a \times n / (1 + b \times n)$$

Where “n” is the number of units of sampling effort, “a” is the increasing rate of new species at the beginning of the inventory and “b” is a parameter related to the shape of the curve. “a/b” is the asymptote of the curve (total species richness predicted by the curve) (Soberón & Llorente,

1993; Colwell & Coddington, 1994). The asymptote of each curve therefore indicates the maximal number of species we will find and therefore its comparison with number of detected species indicates whether or not the performed sampling effort was appropriated. It is generally assumed that detecting more than 70% of the species expected by the asymptote should be considered appropriated for characterizing biodiversity (Jiménez-Valverde & Hortal, 2003). The detected proportion of the asymptotic number of caddisfly species was very similar in both studied period (84% and 90% in the first and second studied period, respectively; Figure 2). Furthermore, the data points of accumulate richness were adjusted to logistic growth curves (variance explained = 99% in both periods, Figure 2). Thus, the sampling effort was adequate for both studied periods (1984-1987 and 2008-2009) and the estimates reliable enough for comparing richness at different sampling sites after 20 years.

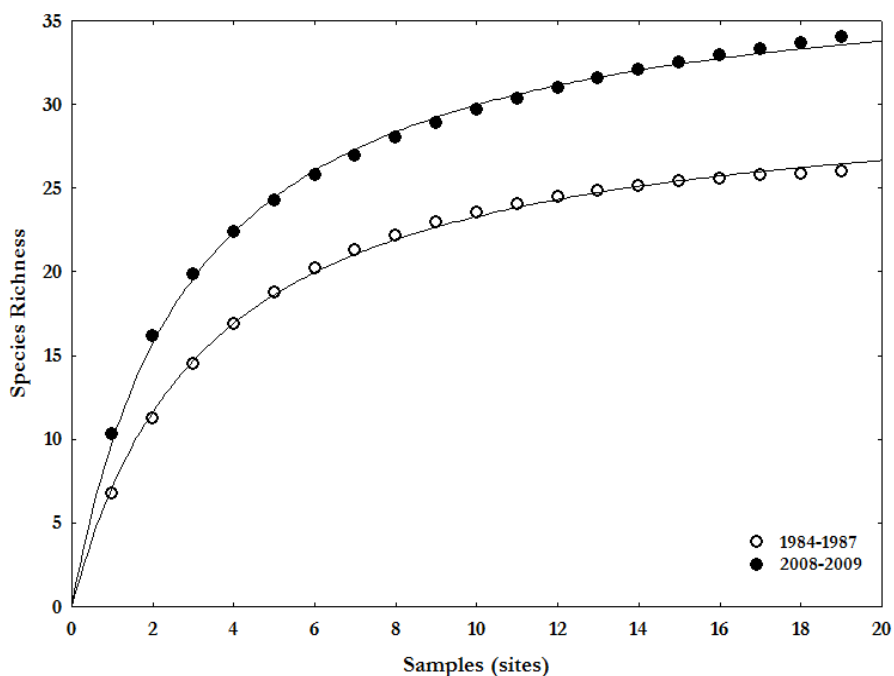


Figure 2. Species accumulation curves for the inventory of caddisflies in the Sierra Nevada streams and rivers calculated with *EstimateS* 5.01 (Colwell, 1997). Both curves were adjusted by the Clench equation (Studied period 1984-1987: Sobs = 26, $R^2 = 0.999$, $a/b = 31$, slope of the curve = 0.2; Sobs/ (a/b) = 84%; Studied period 2008-2009: Sobs = 34; $R^2 = 0.999$; $a/b = 39$, slope of the curve = 0.3; Sobs/ (a/b) = 90%.

Inter-year variation in discharge

After log-transformation, flow data followed a normal distribution (Kolmogorov-Smirnov tests for continuous variables, $p > 0.2$). Moreover, frequency distribution of residuals of all used statistical models did not differ from normality ($p > 0.2$), which validate the use of parametric statistics.

For exploring whether water flow decreased along the last 40 years we used Repeated Measures ANOVAS with river identity as within factor, and flow magnitude period (low or high) and year as the fixed between-factors. While the effects of year and discharge magnitude period are estimated by the statistics associated to the between factors, a non-significant interaction between river identity and year is interpreted that the effects were similar for the different study rivers. The interaction between river identity, year and temperature period was estimated in a separated model.

Biodiversity and climate change

Variations of water temperature and number of recorded caddisfly species at different sampling sites between the two sampling periods were explored by means of Repeated Measures ANOVAs with slope (southern *vs.* northern) as the between factor and studied periods and seasons (spring, summer, and autumn) as within factors.

The association between environmental factors (i.e. difference in water temperature between studied periods and altitude) of different sampling sites and experienced changes in species richness was explored by GLMs, with differences between studied period in species richness as dependent variable, and altitude and differences in water temperature between studied periods as continuous independent factors. The square of the environmental factors were also included in the model to explore possible non-linear relationships. Finally, season and slope were also included in the model as discrete-fixed factors to statistically control the possible influence of slope and seasonality in the detected changes on caddisfly species richness. The effect of the interaction between seasons and slope was estimated in separate models that also included

all other main factors.

All tests were carried out using the program STATISTICA v.7.1© (StatSoft, 2005).

RESULTS

Inter-year variation in discharge

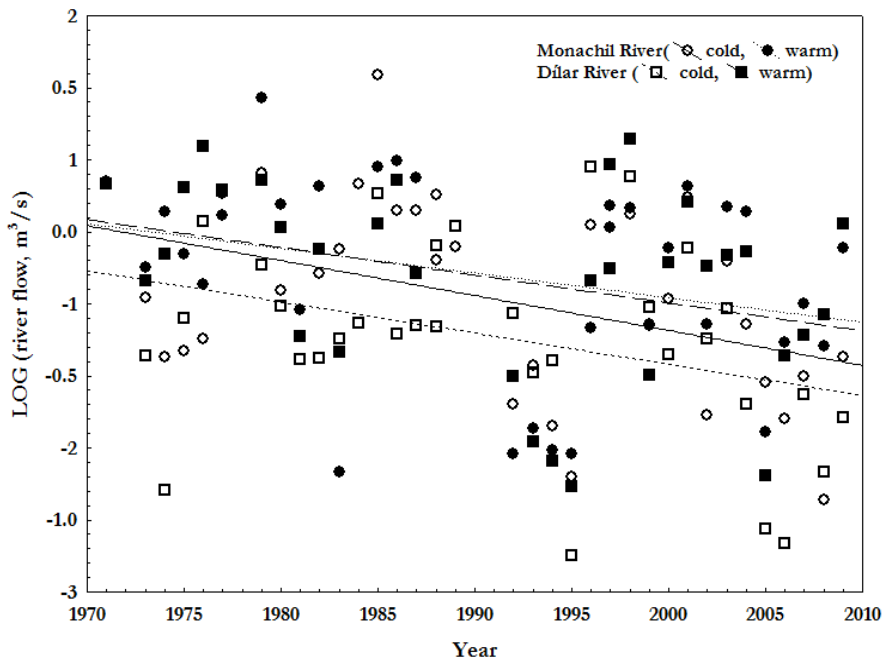


Figure 3: Trends in mean annual flow over a 40-year period (from 1970 to 2009).

During the last 40 years, discharge has significantly decreased (Repeated Measures ANCOVA, year effect, $F_{1,64} = 9.67$, $p = 0.003$) at a similar rate (Monachil: $\text{Beta(SE)} = -0.34(0.12)$; Dilar: $\text{Beta(SE)} = -0.33(0.11)$; interaction between year and river, $F_{1,64} = 0.00$, $p = 0.98$, Figure 3) in the Sierra Nevada studied rivers. Water flow rate during the high discharge period was higher than during the low discharge period (ANCOVA, effect of discharge magnitude period, $F_{1,64} = 3.72$, $p = 0.058$) but depended on the studied river (ANCOVA, interaction between river and period, $F_{1,64} = 4.52$, $p = 0.037$; Figure 3). The Dilar River showed lower water flow than Monachil River

[(Mean(SE): Monachil_(low) = 0.77(0.54); Monachil_(high) = 0.90(0.51); Dílar_(low) = 0.60(0.39); Dílar_(high) = 0.85(0.47)]. Finally, detected differences in discharge of the two studied rivers during low and high flow periods were similar during the last 40 years (ANCOVA, interaction between river*year*discharge period, $F_{1,63} = 0.23$ $p = 0.64$). Thus, discharge in the Sierra Nevada has decreased independently of the intra-year seasonal variation.

Biodiversity and climate change

Water temperature of the Sierra Nevada streams and rivers increased on average almost 2 °C between both studied periods (Mean₍₁₉₈₄₋₁₉₈₇₎ = 11.39, SE = 0.54, N = 57; Mean₍₂₀₀₈₋₂₀₀₉₎ = 13.02, SE = 0.38, N = 57). This statistically significant increase in water temperature (Period in Table 1) was especially detected in spring and autumn, but not in summer (Period*Season in Table 1; Figure 4a,b). Furthermore these effects were more noticeable in the southern than in the northern slope of the Sierra Nevada (Period*Slope*Season in Table 1) (Figure 4a,b).

Caddisfly species richness was significantly higher in the 2008-2009 than in the 1984-1987 studied period (Period in Table 1; Figure 4c,d). This effect was especially detected in spring and summer (Period*Season in Table 1) but varied for streams and rivers at different facing slopes (Season*Slope in Table 1; Figure 4 c,d). The effect of the studied period in spring was mainly detected in the northern facing streams and rivers (Figure 4c), while the summer effect was better detected in those at the southern slope (Figure 4d) (Period*Slope*Season in Table 1).

The detected increase in species richness during the last 20 years did result positively related to altitude, although the maximum raises occurred at sites of intermediate altitude in the studied range (see lineal and square terms in Table 2; Figure 5). Moreover, differences in temperature among studied periods tended to explain the increase in caddisfly richness. Sampling sites that experienced the lowest changes in water temperature tended to be those experiencing the lowest changes in richness, but those showing reduced water

Table 1: Results of Repeated Measures ANOVA analysing variation in water temperature and caddisfly species richness of the Sierra Nevada streams and rivers during the last 20 years (Period) with slope of the sampling site as between factor, and studied period (1984-1987 and 2008-2009) and season (i.e. spring, summer, and autumn) as within factors.

	Water temperature					Caddisfly species richness				
	MS (effect)	MS (error)	F	df	p	MS (effect)	MS (error)	F	df	p
Between effects										
Slope	6.80	11.64	0.58	1,17	0.46	5.87	30.82	1.49	1,17	0.24
Within effects										
Period	71.49	4.49	15.92	1,17	0.0009	117.08	11.98	9.77	1,17	0.006
Period *Slope	23.69	4.49	5.28	1,17	0.035	0.31	11.98	0.03	1,17	0.870
Season	259.10	8.35	31.02	2,34	< 0.0001	26.15	2.46	10.62	2,34	0.0003
Season*Slope	10.54	8.35	1.26	2,34	0.30	16.32	2.46	6.63	2,34	0.004
Period *Season	17.99	5.35	3.25	2,34	0.051	15.80	1.72	9.17	2,34	0.0007
Period*Slope*Season	21.86	5.35	3.96	2,34	0.029	7.03	1.72	4.08	2,34	0.026

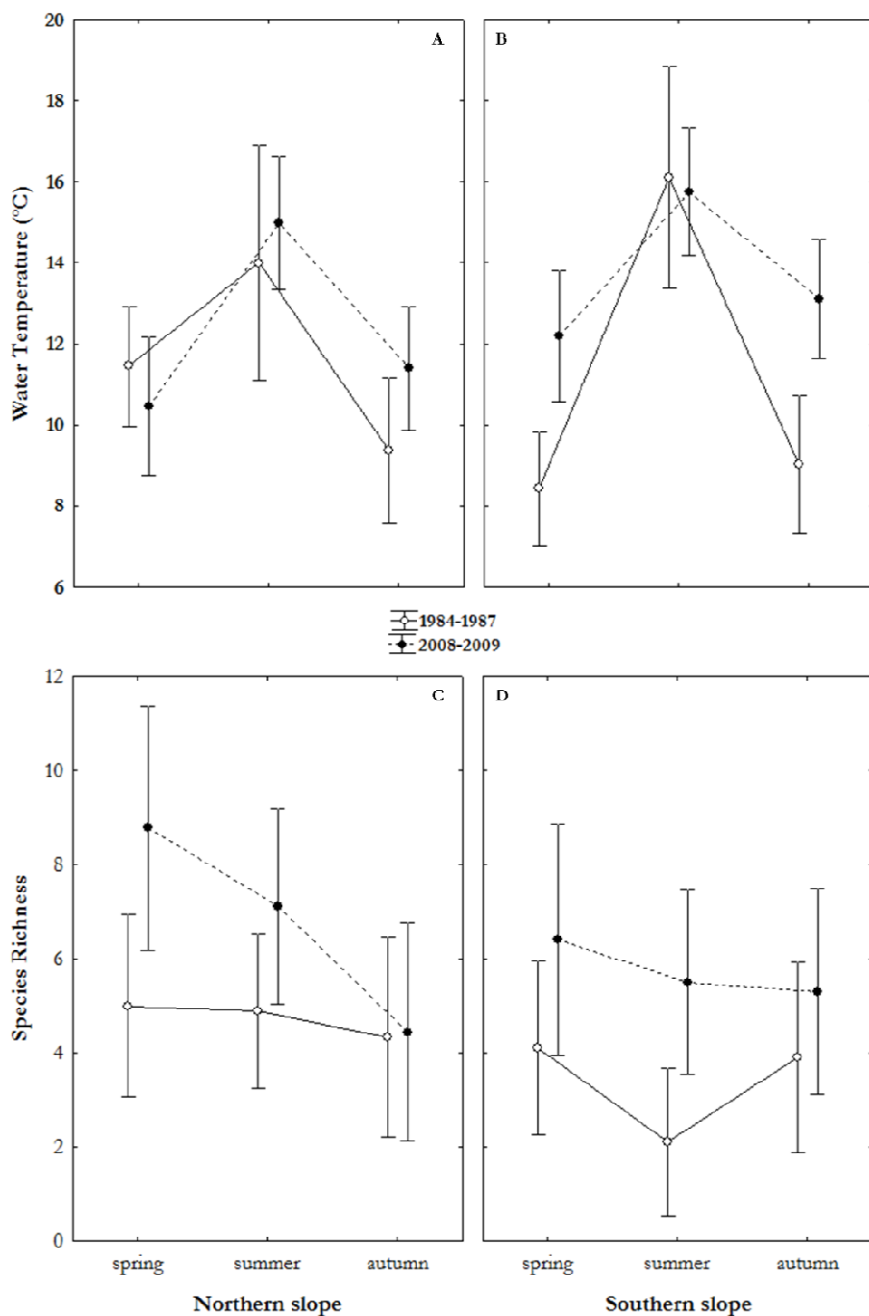


Figure 4. Average (\pm CI 95%) of temperature and caddisfly species richness in 1984-1987 and 2008-2009 studied periods of sampling sites located at the northern and southern slope of the Sierra Nevada streams and rivers in spring (spr), summer (sum), and autumn (aut).

temperatures in the later studied period (2008-2009) tended to have an increase in species number (see square and lineal terms in Table 2, respectively; Figure 5). Sampling seasons, slope of the stream or river, or the interaction between these two factors did not explain a significant proportion of variance of detected changes in caddisflies species richness (Table 2).

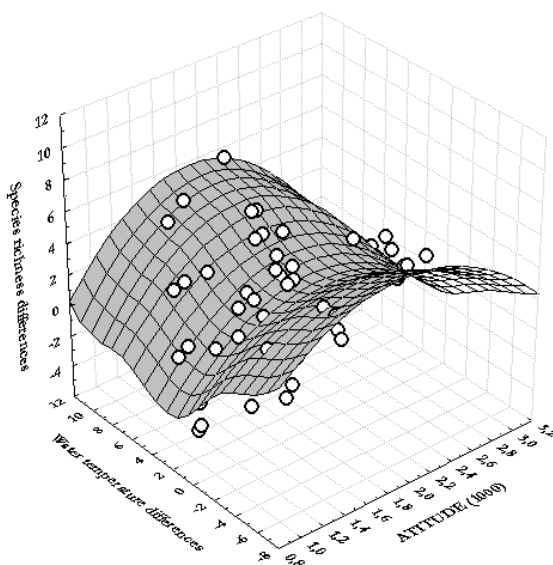


Figure 5: Relationship between detected changes in caddisfly species richness, altitude, and experienced changes in water temperature of sampling sites during the last 20 years (2008-2009 *vs.* 1984-1987). Data points were fitted by bicubic spline smoothing procedure, with stiffness adjusted to 0.25.

Table 2: Results of GLM models exploring the effects of altitude, water temperature differences, season (i.e., spring, summer and autumn), and slope (i.e. northern *vs.* southern) on the detected changes on caddisfly species richness (i.e. number of species) in the Sierra Nevada streams and rivers during the last 20 years (2008-2009 *vs.* 1984-1987). Square terms of altitude and temperature change were included in the model. The effect of the interaction between slope and season was estimated in a separate model.

	Beta	SE (Beta)	F	df	p
Altitude (1000 m) (Alt)	2.48	0.77	10.39	1,49	0.002
Alt ²	-2.55	0.77	10.95	1,49	0.002
Temperature differences (T)	-0.27	0.17	2.43	1,49	0.125
T ²	0.28	0.15	3.26	1,49	0.077
Season			2.00	2,49	0.146
Slope			0.99	1,49	0.3325
Season*Slope			1.00	2,47	0.374

Altitudinal distribution of caddisfly species

Looking at the altitudinal distribution of caddisfly species in both studied periods (Figure 6), most species (16; 44%) have enlarged their distribution range in the current time (2008-2009 studied period). Only two of them, *Micrasema longulum* McLachlan and *Potamophylax latipennis* (Curtis, 1834) have been detected both at higher and lower sites in 2008-2009. Nine species, *Rhyacophila meridionalis* E. Pictet, 1865, *Rhyacophila nevada* Schmid, 1952, *Hydroptila vectis* Curtis, 1834, *Philopotamus montanus* (Donovan, 1813), *Hydropsyche infernalis* Schmid, 1952, *Micrasema moestum* (Hagen, 1868), *Halesus tessellatus* Rambur, 1842, *Athripsodes* sp., and *Sericostoma vittatum* Rambur, 1842 have enlarged their distribution from low-intermediate altitude to higher sites; of them, *Rhyacophila meridionalis*, *Hydroptila vectis*, *Halesus tessellatus*, and *Athripsodes* sp. have even disappeared from lower sites in recent samplings. The remaining five species (of 16 that enlarged their distribution), *Rhyacophila munda*

McLachlan, 1862, *Agapetus fuscipes* Curtis, 1834, *Tinodes assimilis* McLachlan, 1865, *Anomalopterygella chauviniana* (Stein, 1874), and *Stenophylax nycterobius* McLachlan, 1875 have moved down in altitude; of them, only *Tinodes assimilis* has enlarged its distribution range disappearing from higher sites.

Only 6 species (17%), *Rhyacophila occidentalis* McLachlan, 1879, *Hydropsyche tibialis* McLachlan, 1884, *Plectrocnemia conspersa* (Curtis, 1834), *Plectrocnemia geniculata* ssp. *almoravida* McLachlan, 1871, *Polycentropus kingi* McLachlan, 1881, and *Lepidostoma basale* (Kolenati, 1848) have reduced their distribution range in this mountain range. Of them, only *Plectrocnemia geniculata* ssp. *almoravida* has disappeared from its higher range and it was recently recorded at lower altitude. Three of them, *Plectrocnemia conspersa*, *Polycentropus kingi*, and *Lepidostoma basale* have disappeared from their lower range but have moved up in altitude. The two remaining species, *Rhyacophila occidentalis* and *Hydropsyche tibialis* have also disappeared from lower sites but have not displaced to colonize higher sites.

Furthermore, 10 species (28%) have been detected exclusively during the 2008-2009 studied period, from which only *Allogamus mortoni* (Navás, 1907) was widely distributed. Most species that have increased its distribution in altitude, or were captured for the first time in the 2008-2009 studied period, mainly belonged to Limnephilidae and Rhyacophilidae families. Only 1 species (3%), *Hydropsyche incognita* Pitsch, 1993 was not recorded during the most recent studied period. Finally, 3 of the species recorded, *Hydropsyche instabilis* (Curtis, 1834), *Annitella esparaguera* Schmid, 1952, and *Athripsodes albifrons* (Linnaeus, 1758), showed an identical distribution range in both studied periods.

DISCUSSION

Our results indicate that caddisfly species richness increased in streams and rivers that did experience a decrease in flow and an increase in water temperature after a 20 years period. Sampling sites that experienced the lowest changes in water temperature tended to be those experiencing the lowest changes in richness. Additionally, this detected increase was positively related

to altitude, with a maximal rising at sites of intermediate altitude in the studied range.

Climatic changes that produce shifts in the timing and magnitude of floods and droughts at different time scales could result in dramatically altered river ecosystems (Gibson *et al.*, 2005). Streamflow is an integrated response to temperature and precipitation. Especially, lower flows may have a remarkable influence on water temperature, because decrease in the runoff of stream water limits buffering capacity against air temperature fluctuations (Poole & Berman, 2001; van Vliet *et al.*, 2011). Thus, it is expected that detriment of river flow further enhances the effect of water temperature rising due to climate warming. In accordance with these expectations, our results showed that water flow of the Sierra Nevada rivers decreased during the last 40 years, and that these effects were more noticeable in the southern than in the northern slope of these mountains. In addition, the average water temperature increased almost 2 °C during the last 20 years, and a seasonal effect was detected depending of the slope. It should be pointed out that the geographical and climatic conditions of the southern slopes of the Sierra Nevada made that historically human settlement and agricultural development were more pronounced in this area which could lead to an increase in the flow rate decrease because of water use (Moreno *et al.*, 2010). A number of river diversions exist particularly on the southern slopes, where agriculture has been nurtured for at least the last three millennia. Many of these diversions occur at altitudes as high as 1500 meters to supply water to almond, olive and other crops. Results of these diversions include degradation of considerable riparian habitat (Hogan, 2012).

The scenario of climatic change may have produced detectable changes in species compositions of communities distributed along the altitudinal gradient (Hoffmann & Parsons, 1997; Menéndez *et al.*, 2006; Hering *et al.*, 2009; Isaak & Rieman, 2013). Overall, our results support this hypothesis since temperature change, and mainly altitude of sample locations, explained

the alterations detected in caddisfly species richness along this 20-year period. Globally, climate change is expected to reduce the number of species (Thomas *et al.*, 2004; Xenopoulos *et al.*, 2005; Isaak & Rieman, 2013) but the species richness at the regional or local scales might either increase or decrease (Menéndez *et al.*, 2006). We found that caddisfly species richness in the Sierra Nevada has augmented in association with a general climate warming in the area. However, the largest increase apparently occurred at locations that did experience a reduction in water temperature during the last 20 years, while the lowest changes were detected in sites with less temperature changes. These associations, nevertheless, did not reach statistical significance and should be cautiously considered.

A more robust association was found between changes in species richness and altitude of studied locations, with maximum values at sites of intermediate-high altitude (circa 1900 m), which further suggests that local environmental conditions may partially predict the effects of climate change. Since ecological conditions in mountainous ecosystems are narrowly related with altitude, the effects of climate change on localities within these ecosystems would largely depend on their altitude (Hoffmann & Parsons, 1997; Isaak & Rieman, 2013). A general relationship between temperature and altitude is well known and was also detected in our data set (GLM with season, study period and water temperature as fixed factors; temperature effect: Beta (SE) = -0.20 (0.07), $F = 8.18$, $df = 1,109$, $p = 0.005$) and, thus, it is possible that the detected negative association between changes in richness and altitude was indirectly due to temperature change. Our results, however, do not support this possibility since water temperature differences between periods and altitude of studied sampling sites were included in the same statistical models (i.e. the effect of one is statistically controlled for the effect of the other) and they are not related to each other ($r = 0.14$, $p = 0.297$, $N = 57$).

The detected relationship between altitude and richness change may be better explained by the hypothesis that mountains of considerable

altitudinal gradient act as a refuge of species in a scenario of climate warming (Peterson et al., 1997; Hewitt, 2000; Coope, 2004; Quinteiro et al., 2005). Species with enough dispersive ability would track thermally suitable habitats (Hoffmann & Parsons, 1997; Isaak & Rieman, 2013) and locations of high-intermediated altitude may be adequate not only for species with narrow ecological requirements, but also for generalist species. Thanks to climate change, eurytopic species are nowadays able to colonize locations at high altitude. This possibility is in accordance with the detected broader distribution of most of the caddisfly species in the Sierra Nevada in current times (Figure 6). Latitudinal and altitudinal migration in association with climate change has been studied in many species (Grabherr et al., 1994; Parmesan et al., 2000; Kullman, 2001; Konvicka et al., 2003; Wilson et al., 2005, 2007; Franco et al., 2006; Lavergne et al., 2006; Parmesan, 2006). However there are few studies on aquatic invertebrates showing an altitudinal displacement of the community, and even less in Mediterranean environments (Filipe et al., 2012). This distribution accommodation to the new environmental conditions may therefore explain our results.

In mountain ecosystems, and in scenarios of climate warming, organisms that are living at intermediate altitude, but not those typically inhabiting high altitudes (Fosaa et al., 2004; Hering et al., 2009), have the opportunity to move upwards, finding the cool conditions they are adapted to at a relatively short geographic distances (Grabherr et al., 1994). These species require suitable habitat within dispersal distance of their current range margin, and be able to establish viable populations in these areas (Hampe, 2011). In these situations, species with physiological adaptations to tolerate new environmental conditions and/or those with better dispersal ability (Hoffmann & Parsons, 1997) should be those experiencing nowadays broader distribution range in association with climate warming. In accordance with this possibility, most of the taxa recorded in the Sierra Nevada are cold-stenothermic or eurytherm species (Figure 6; Graf *et al.*, 2008). Those species that have

enlarged their distribution range, or were detected as a novel species in our current sampling period, were belonged to the families Limnephilidae and Rhyacophilidae (Figure 6), which in general are characterized by good dispersal abilities (Hoffsten, 2004) and wider tolerance ranges for temperature (Graf *et al.*, 2008). In contrast, species will be restricted in their ability to shift their distributions because they occupy mountain tops or continent edges and so dispersal barriers to newly suitable climatic conditions will be too great (Broennimann *et al.*, 2006; Forero-Medina *et al.*, 2011).

An alternative explanation of the detected increase in species richness along the 20-year studied period is that it was the consequence of a reduced anthropogenic disturbance of Sierra Nevada water courses due to recently implementation of systems of wastewater treatment (Jáimez-Cuéllar, 2004). This explanation however is unlikely since these systems were implemented mainly in sites at lower altitude, while the largest increase in caddisfly biodiversity was detected at localities of high-intermediate altitude.

Therefore, our findings may be important when considering possible measures of conservation of river ecosystems from climatic change. It implies that special effort should be directed to protect conditions of lagoons, headwaters and upper reaches of streams and rivers, but also low altitude sites where human influence may be stronger. Mountainous aquatic species living at high altitude should even be more sensitive to climate change than others, which urge for the valuation of the effects of climate change on biodiversity of these regions in general, and of this group of species in particular. Twenty years is a short period of time to detect all the effects of climate change on full species so it might be early to observe the risk of endemic species linked to headwaters. Because of the decreasing of water flow and the increasing of water temperature is unavoidable, a better control of high mountain water detriment is vital to protect headwater living species avoiding the depletion of their habitats.

Summarising, our results show that during the last 20 years caddisfly

richness of the Sierra Nevada did increase in altitude, with lower changes experienced in localities with lower water temperature changes. These results being in agreement with the hypothesis that mountains of an extensive altitude gradient are functioning as ecological refuges for species and populations during periods of climatic change, which strength the importance of the conservation of mountainous habitats, especially in highly vulnerable regions, such as the Mediterranean.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research received support from the project ref 039/2007 funded by the O.A.P.N. of Spanish Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Funds were also provided by a pre-doctoral grant to Marta Sáinz-Bariáin by the Gobierno de Navarra, the project from the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación, CGL2007-61856/BOS, and the Junta de Andalucía RNM-02654/FEDER. The Sierra Nevada National Park and Andalucía Government supplied logistic help and sampling permissions. We are very grateful to Alejandra Fernández, Modesto Berbel, to other members of the research group RNM-102 (Junta de Andalucía) and all the people who helped us during field work. We are also very grateful to Elena Sáinz for checking the English.

REFERENCES

- Alba-Tercedor, J., Sánchez-Ortega, A. & Guisasaola, I. (1986). Caracterización de los cursos permanentes de agua de la cuenca del río Adra: Factores físico-químicos, macroinvertebrados acuáticos y calidad de las aguas. Proyecto LUCDEME. Universidad de Granada. Granada, 54 pp. (Datos inéditos).
- Bálint, M., Domisch, S., Engelhardt, C.H., Haase, P., Lehrian, S., Theissing, K., Pauls, S.U. & Nowak, C. (2011). Cryptic biodiversity loss linked to global climate change. *Nature Climate Change*, **1**, 313–318.
- Blondel, J. & Aronson, J. (1999). *Biology and Wildlife of the Mediterranean Region*. Oxford University Press, New York, 328 pp.
- Blondel, J., Aronson, J., Bodiou, J. & Boeuf, G. (Eds.) (2010). *The Mediterranean Region: Biological Diversity in Space and Time*. Oxford University Press, New York, 392 pp.
- Bonada, N. & Resh, V.H. (2013). Mediterranean-climate streams and rivers: geographically separated but ecologically comparable freshwater systems. *Hydrobiologia*, **719**, 1–29.

- Bradley, C. & Ormerod, S.J. (2001). Community persistence among stream invertebrates the North tracks Atlantic Oscillation. *Journal of Animal Ecology*, **70**, 987–996.
- Broennimann, O., Thuiller, W., Hughes, G., Midgley, G.F., Alkemade, J.M.R. & Guisan, A. (2006). Do geographic distribution, niche property and life form explain plants' vulnerability to global change? *Global Change Biology*, **12**, 1079–1093.
- Buisson, L., Thuiller, W., Lek, S., Lim, P. & Grenouillet, G. (2008). Climate change hastens the turnover of stream fish assemblages. *Global Change Biology*, **14**, 2232–2248.
- Camargo, J.A. & García de Jalón, D. (1988). Principales características morfológicas de los géneros ibéricos de la familia Limnephilidae (Trichoptera), en sus últimos estadios larvarios. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **12**, 239–258.
- Castillo-Martín, A. (2000). Parque Nacional de Sierra Nevada. Clima e Hidrología. In: Canseco eds., *Parque Nacional de Sierra Nevada*.
- Colwell, R. (1997). EstimateS: Statistical Estimation of Species Richness and Shared Species from Samples (Software and User's Guide), Version 5.01.
- Colwell, R. & Coddington, J. (1994). Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, **345**, 101–18.
- Coope, G. (2004). Several million years of stability among insect species because of, or in spite of, Ice Age climatic instability? *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, **359**, 209–14; discussion 214.
- Daufresne, M., Bady, P. & Fruget, J.F. (2007). Impacts of global changes and extreme hydroclimatic events on macroinvertebrate community structures in the French Rhône River. *Oecologia*, **151**, 544–559.
- Daufresne, M., Roger, M.C., Capra, H. & Lamouroux, N. (2004). Long-term changes within the invertebrate and fish communities of the Upper Rhône River: effects of climatic factors. *Global Change Biology*, **10**, 124–140.
- Domisch, S., Jähnig, S.C. & Haase, P. (2011). Climate-change winners and losers: stream macroinvertebrates of a submontane region in Central Europe. *Freshwater Biology*, **56**, 2009–2020.
- Domisch, S., Araújo, M.B., Bonada, N., Pauls, S.U., Jähnig, S.C. & Haase, P. (2013). Modelling distribution in European stream macroinvertebrates under future climates. *Global Change Biology*, **19**, 752–762.
- European Environmental Agency (2008). Impacts of Europe's changing climate. In: *European Environment Agency report, EEA Briefing 3/2008*. [Cited 13 dec 2013] Available from URL: http://www.eea.europa.eu/publications/briefing_2008_3.
- European Environmental Agency (2012). Climate change, impacts and vulnerability in Europe. In: *European Environment Agency report, EEA Report 12/2012*. [Cited 13 dec 2013] Available from URL: <http://www.eea.europa.eu/publications/climate-impacts-and-vulnerability-2012>
- Elliott, J.M., Hurley, M.A. & Maberly, S.C. (2000). The emergence period of sea trout fry in a Lake District stream correlates with the North Atlantic Oscillation. *Journal of Fish Biology*, **56**, 208–210.
- Filipe, A.F., Lawrence, J.E. & Bonada, N. (2013). Vulnerability of stream biota to climate change in mediterranean climate regions: a synthesis of ecological responses and conservation challenges. *Hydrobiologia*, **719**, 331–351.

- Finn, D.S., Zamora-Muñoz, C., Múrria, C., Sáinz-Bariáin, M. & Alba-Tercedor, J. (2014). Evidence from recently deglaciated mountain ranges that *Baetis alpinus* (Ephemeroptera) could lose significant genetic diversity as alpine glaciers disappear. *Freshwater Science*, **33**, 1-11.
- Fosaa, A.M., Sykes, M.T., Lawesson, J.S. & Gaard, M. (2004). Potential effects of climate change on plant species in the Faroe Islands. *Global Ecology and Biogeography*, **13**, 427-437.
- Forero-Medina, G., Terborgh, J., Socolar, S.J. & Pimm, S.L. (2011). Elevational ranges of birds on a tropical montane gradient lag behind warming temperatures. *PloS One*, **6**, e28535.
- Franco A.M.A., Hill, J.K., Kitschke, C., Collingham, Y.C., Roy, D.B. Fox, R., Huntley, B., Thomas, C.D. (2006). Impacts of climate warming and habitat loss on extinctions at species' low-latitude range boundaries. *Global Change Biology*, **12**, 1545-1553.
- Gibson, C., Meyer, J., Poff, N., Hay, L. & Georgakakos, A. (2005). Flow regime alterations under changing climate in two river basins: implications for freshwater ecosystems. *River Research and Applications*, **21**, 849-864.
- González-Megías, A., Menéndez, R., Roy, D., Brereton, T. & Thomas, C. (2008). Changes in the composition of British butterfly assemblages over two decades. *Global Change Biology*, **14**, 1464-1474.
- Grabherr, G., Gottfried, M. & Pauli, H. (1994). Climate effects on mountain plants. *Nature*, **369**, 448-448.
- Graf, W., Murphy, J., Dahl, J., Zamora-Muñoz, C. & López-Rodríguez, M.J. (2008). *Distribution and Ecological Preferences of European Freshwater Organisms*. Pensoft, Sofia, 388 pp.
- Hampe, A. (2011). Plants on the move: The role of seed dispersal and initial population establishment for climate-driven range expansions. *Acta Oecologica*, **37**, 666-673.
- Hering, D., Schmid-Kloiber, A., Murphy, J., Lücke, S., Zamora-Muñoz, C., López-Rodríguez, M.J., Huber, T. & Graf, W. (2009). Potential impact of climate change on aquatic insects: A sensitivity analysis for European caddisflies (Trichoptera) based on distribution patterns and ecological preferences. *Aquatic Sciences*, **71**(1), 3-14.
- Hewitt, G.M. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, **405**, 907-913.
- Higler, L.W.G. & Solem, J.O. (1986). Key to the larvae of north-west European *Potamophylax* species (Trichoptera, Limnephilidae) with notes on their biology. *Aquatic Insects*, **8**, 159-169.
- Hoffmann, A.A., Parsons, P.A. (Eds.) (1997). *Extreme Environmental Change and Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, 259 pp.
- Hoffsten, P.O. (2004). Site-occupancy in relation to flight-morphology in caddisflies. *Freshwater Biology*, **49**, 810-817.
- Hogan, C. (2012). Sierra Nevada, Spain. In: *The Encyclopedia of Earth*. [Cited 13 dec 2013] Available from URL: <http://www.eoearth.org/view/article/172707>.
- IPCC (2007). *Climate change 2007: Synthesis Report*. Contribution of Working groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. (eds. Core Writing Team, Pachauri RK, Reisinger. IPCC, Geneva, Switzerland, 104 pp.
- Isaak, D.J. & Rieman, B.E. (2013). Stream isotherm shifts from climate change and implications for distributions of ectothermic organisms. *Global Change Biology*,

- 19, 742–751.
- Jáimez-Cuellar, P. (2004). Caracterización físico-química, macroinvertebrados acuáticos y valoración del estado ecológico de dos cuencas mediterráneas de influencia nival (ríos Guadalfeo y Adra), según los criterios de la Directiva Marco del Agua. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, 226 pp., 87ª. (Datos inéditos).
- Jenkins, M. (2003). Prospects for biodiversity. *Science*, **302**, 1175–7.
- Jiménez-Valverde, A. & Hortal, J. (2003). Las curvas de acumulación de especies y la necesidad de evaluar la calidad de los inventarios biológicos. *Revista Ibérica de Aracnología*, **8**, 151–161.
- Kernan, M., Battarbee, R.W., Moss, B.R. (Eds.) (2010). *Climate Change Impacts on Freshwater Ecosystems*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 328 pp.
- Konvicka, M., Maradova, M., Benes, J., Fric, Z. & Kepka, P. (2003). Uphill shifts in distribution of butterflies in the Czech Republic: effects of changing climate detected on a regional scale. *Global Ecology and Biogeography*, **12**, 403–410.
- Kullman, L. (2001). 20th Century Climate Warming and Tree-limit Rise in the Southern Scandes of Sweden. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, **30**, 72–80.
- Lavergne, S., Molina, J. & Debussche, M. (2006). Fingerprints of environmental change on the rare mediterranean flora: a 115-year study. *Global Change Biology*, **12**, 1466–1478.
- Lechthaler, W. & Stockinger, W. (2005). *Trichoptera—Key to Larvae from Central Europe*. CD-Edition. (Eutaxa, Wien).
- Lencioni, V. (2004). Survival strategies of freshwater insects in cold environments. *Journal of Limnology*, **63**, 45–55.
- Lepneva, S.G. (1966). *Fauna SSSR, Rucheiniki, Lichinki i Kukolki Podotryada Tse'noshchupikovykh*. Zoologicheskii Institut Akademii Nauk SSSR, Moskva-Leningrad, 2(2), 560 pp. [Fauna of the U.S.S.R. Trichoptera, Larvae and Pupae of Integripalpia. Zoological Institute of the Academy of Science of the USSR, Moscow-St. Petersburg, volume 2, number 2. Translated by the Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem (1971), 638 pp.]
- Lytle, D.A. & Poff, N.L. (2004). Adaptation to natural flow regimes. *Trends in ecology & evolution*, **19**, 94–100.
- Malicky, H. (2004). *Atlas of European Trichoptera*, Second edition. Springer, 359 pp.
- Menéndez, R., González-Megías, A., Hill, J.K., Braschler, B., Willis, S.G., Collingham, R.F., Roy, D.B. & Thomas, C.D. (2006). Species richness changes lag behind climate change. *Proceedings of the Royal Society Series B*, **273**, 1465–1470.
- Moreno, I., Millares, A., Herrero, J., Polo, M.J. & Losada, M.A. (2010). Futuro de los recursos hídricos en la cuenca del río Guadalfeo bajo supuesto de Cambio Climático. *Ambientalia*, **1**, 28–40.
- Mulholland, P.J., Best, G.R., Coutant, C.C., Hornsberger, G.M., Meyer, J.L., Robinson, P.J., Stenberg, J.R., Turner, R.E., Vera-Herrera, F. & Wetzel, R. (1997). Effects of Climate Change on Freshwater Ecosystems of the South-Eastern United States and the Gulf Coast of Mexico. *Hydrological Processes*, **11**, 949–970.
- Múrria, C., Zamora-Muñoz, C., Bonada, N., Ribera, C. & Prat, N. (2010). Genetic and morphological approaches to the problematic presence of three *Hydropsyche* species of the *pellucidula* group (Trichoptera: Hydropsychidae) in the westernmost Mediterranean Basin. *Aquatic Insects*, **32**(2), 85–98.
- Nagy, L. & Grabherr, G. (Eds.) (2009). *The Biology of Alpine Habitats*. Oxford University Press, New York, 376 pp.

- Pace, G., Bonada, N. & Prat, N. (2013). Long-term effects of climatic-hydrological drivers on macroinvertebrate richness and composition in two Mediterranean streams. *Freshwater Biology*, **58**, 1313–1328.
- Panzenbock, M. & Waringer, J. (1997). A key to fifth instar larvae of *Halesus radiatus* Curtis 1834, *Halesus digitatus* Schrank 1781 and *Halesus tessellatus* Rambur 1842 (Trichoptera: Limnephilidae), based on Austrian material. *Aquatic Insects*, **19**, 65–73.
- Parmesan, C. (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **37**, 637–669.
- Parmesan, C., Root, T.L. & Willig, M.R. (2000). Impacts of extreme weather and climate on terrestrial biota. *Bulletin of the American Meteorological Society*, **81**, 443–450.
- Peterson, T.C., Vose, R., Schmoyer, R. & Razuvaev, V. (1997). Global Historical Climatology Network (GHCN) quality control of monthly temperature data. *International Journal of Climatology*, **17**, 1169–1179.
- Poff, N.L., Allan, J.D., Bain, M.B., Karr, J.R., Prestegard, K.L., Richter, B.D., Sparks, R.E. & Stromberg, J.C. (1997). A paradigm for river conservation and restoration. *BioScience*, **47**, 769–784.
- Poff, N.L., Olden, J.D. & Strayer, D.L. (2012). Climate Change and Freshwater Fauna Extinction Risk. In: Hannah, L. (Ed.), *Saving a Millions Species*. Island Press/Center for Resource Economics, Washington, DC, pp. 309–336.
- Poole, G.C. & Berman, C.H. (2001). An ecological perspective on in-stream temperature: natural heat dynamics and mechanisms of human-caused thermal degradation. *Environmental management*, **27**, 787–802.
- Quinteiro, J., Rodríguez-Castro, J., Castillejo, J., Iglesias-Piñeiro, J. & Rey-Méndez, M. (2005). Phylogeny of slug species of the genus *Arion*: evidence of monophyly of Iberian endemics and of the existence of relict species in Pyrenean refuges. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **43**, 139–148.
- Resh, V.H. (1992). Recent trends in the use of Trichoptera in water quality monitoring. In: Otto, C. (Ed.), *Proceedings of the 7th International Symposium on Trichoptera*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 285–291.
- Ruiz-García, A. & Ferreras-Romero, M. (2007). The larva and life history of *Stenophylax crossotus* McLachlan, 1884 (Trichoptera: Limnephilidae) in an intermittent stream from the southwest of the Iberian Peninsula. *Aquatic Insects*, **29**(1), 9–16.
- Ruiz-García, A., Salamanca-Ocaña, J.C. & Ferreras-Romero, M. (2004). The larvae of *Allogamus gibraltarius* González & Ruiz, 2001 and *Allogamus mortoni* (Navás, 1907) (Trichoptera, Limnephilidae), two endemic species of the Iberian Peninsula. *Annales de Limnologie—International Journal of Limnology*, **40**(4), 343–349.
- Sáinz-Bariáin, M., Zamora-Muñoz, C. & González, M.A. (2013). Los Tricópteros (Trichoptera). In: Ruano, F., Tierno de Figueroa, J.M. & Tinaut, A. (Eds.), *Los insectos de Sierra Nevada: 200 años de historia, Vol I*. Asociación Española de Entomología, León, pp. 202–231.
- Sáinz-Cantero, C.E. (1989). *Coleópteros acuáticos de Sierra Nevada*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, Granada, 237 pp. (Datos inéditos).
- Schröter, D., Cramer, W., Leemans, R., Prentice, I.C., Araújo, M.B., Arnell, N.W., Bondeau, A., Bugmann, H., Carter, T.R., Gracia, C.A., de la Vega-Leinert, A.C., Erhard, M., Ewert, F., Glendinning, M., House, J.I., Kankaanpää, S., Klein, R.J.T., Lavorel, S., Lindner, M., Metzger, M.J., Meyer, J., Mitchell,

- T.D., Reginster, I., Rounsevell, M., Sabaté, S., Sitch, S., Smith, B., Smith, J., Smith, P., Sykes, M.T., Thonicke, K., Thuiller, W., Tuck, G., Zaehle, S. & Zierl, B. (2005). Ecosystem service supply and vulnerability to Global Change in Europe. *Science*, **310**, 1333–1337.
- Soberón, J. & Llorente, J. (1993). The use of species accumulation functions for the prediction of species richness. *Conservation Biology*, **7**, 480–488.
- StatSoft, I. (2005). STATISTICA (data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com.
- Sweeney, B.W., Jackson, J.K., Newbold, J.D. & Funk, D.H. (1990). Climate Change and the life histories and biogeography of aquatic insects in eastern North America. In: Firth, P. & Fisher, S.G. (Eds.), *Global Climate Change and Freshwater Ecosystems*. Springer-Verlag, New York, pp. 143–176.
- Thomas, C.D., Cameron, A., Green, R.E., Bakkenes, M., Beaumont, L.J., Collingham, Y.C., Erasmus, B.F.N., Ferreira de Siqueira, M., Gralnger, A., Hannah, L., Hughes, L., Huntley, B., van Jaarsveld, A.S., Midgley, G.F., Milles, L., Ortega-Huerta, M.A., Peterson, A.T., Phillips, O.L. & Williams, S.E. (2004). Extinction risk from climate change. *Nature*, **427**, 145–148.
- Tierno de Figueroa, J.M., López-Rodríguez, M.J., Fenoglio, S, Sánchez-Castillo, P. & Fochetti, R. (2012). Freshwater biodiversity in the rivers of the Mediterranean Basin. *Hydrobiologia*, **719**, 137-186.
- Ulbrich, U., May, W., Li, L., Lionello, P., Pinto, J. & Somot, S. (2006). The Mediterranean Climate Change under Global Warming. In: *Mediterranean Climate Variability. Volume 4* (eds Lionello P, Malanotte-Rizzoli P, Boscolo R), pp 399–415. Amsterdam, Elsevier Science.
- Van Vliet, M.T.H., Ludwig, F., Zwolsman, J.J.G., Weedon, G.P., Kabat, P. (2011). Global river temperatures and sensitivity to atmospheric warming and changes in river flow. *Water Resources Research*, **47**, W02544.
- Vieira-Lanero, R. (2000). *Las larvas de los Tricópteros de Galicia (Insecta: Trichoptera)*. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 612 pp.
- Vieira-Lanero, R., González, M.A., Cobo, F. (2003) The larva of *Plectrocnemia laetabilis* McLachlan, 1880 (Trichoptera; Polycentropodidae; Polycentropodinae). *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, **39**, 135–139.
- Wallace, I.D., Wallace, B. & Philipson, G.N. (2003). *A Key to the Case-bearing Caddis Larvae of Britain and Ireland*. Freshwater Biological Association Scientific Publication 61, Liverpool, 259 pp.
- Walther, G.R., Post, E, Convey, P. *et al.* (2002) Ecological responses to recent climate change. *Nature*, **416**, 389–395.
- Waringer, J. & Graf, W. (1997). *Atlas der Österreichischen Köcherfliegenlarven. Unter Einschluss der angrenzenden Gebiete*. Facultas-Universitätsverlag, Vienna, 286 pp.
- Waringer, J. & Graf, W. (2011). *Atlas der mitteleuropäischen Köcherfliegenlarven—Atlas of Central European Trichoptera Larvae*. Erik Mauch Verlag, Dinkelscherben, Germany, 468 pp.
- Wiggins, G.B. (2004). *Caddisflies. The Underwater Architects*. University of Toronto. Press Incorporated, Toronto, Buffalo, London, 291 pp.
- Williams, D.D. & Feltmate, B.W. (1992). *Aquatic insects*. C.A.B. International, Wallingford, U.K, 358 pp.
- Williams, N. & Wiggins, G. (1981). A proposed setal nomenclature and homology for larval Trichoptera. In: Moretti, G.P. (Ed.), *Proceedings of the 3rd International Symposium on Trichoptera*. Dr. W. Junk publishers, The Hague, pp. 421–429.

- Wilson, R.J., Gutiérrez, D., Gutiérrez, J., Martínez, D., Agudo, R. & Monserrat, V.J. (2005). Changes to the elevational limits and extent of species ranges associated with climate change. *Ecology Letters*, **8**, 1138-1146.
- Wilson, R.J., Gutiérrez, D., Gutiérrez, J., Monserrat, V.J. (2007). An elevational shift in butterfly species richness and composition accompanying recent climate change. *Global Change Biology*, **13**, 1873-1887.
- Wilson, R.J. & Maclean, I.M.D. (2011). Recent evidence for the climate change threat to Lepidoptera and other insects. *Journal of Insect Conservation*, **15**, 259-268.
- Xenopoulos, M.A., Lodge, D.M., Alcamo, J., Märker, M., Sxhulze, K., Van Vuuren, D.P. (2005). Scenarios of freshwater fish extinctions from climate change and water withdrawal. *Global Change Biology*, **11**, 1557-1564.
- Zamora-Muñoz, C. & Alba-Tercedor, J. (1992a). Caracterización y calidad de las aguas del río Monachil (Sierra Nevada, Granada). Factores físico-químicos y comunidades de macroinvertebrados acuáticos. Agencia del Medio Ambiente. Ed. Anel, Granada, 171 pp.
- Zamora-Muñoz, C. & Alba-Tercedor, J. (1992b). Description of the larva of *Rhyacophila* (*Rhyacophila*) *nevada* Schmid, 1952 and key to the species of *Rhyacophila* of the Iberian Peninsula (Trichoptera: Rhyacophilidae). *Aquatic Insects*, **14**, 65-71.
- Zamora-Muñoz, C. & Alba-Tercedor, J. (1995). Primera cita de *Halesus tessellatus* Rambur 1842 (Trichoptera: Limnephilidae) en la Península Ibérica. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, **19**(3-4), 200-201.

Appendix 1. Geographical location and altitude of the sampling sites in the protected area of the Sierra Nevada (National and Nature Park). For each site, the number assigned in the Figure 1 is indicated.

SITE	RIVER	LOCALITY	ALTITUDE	X_UTM	Y_UTM	BASIN	SLOPE
1	Río Mecina 1	Área Recreativa Las Chorreras	1866	488336	4101049	ADRA	SOUTH
2	Río Nechite 1	Las Piedras del Márquez	1835	491880	4102947	ADRA	SOUTH
3	Río Laroles 1	Área Recreativa Laroles	1753	495909	4102162	ADRA	SOUTH
4	Arroyo Palancón	Posada de los Arrieros	1720	498151	4103605	ADRA	SOUTH
5	Río Paterna	Paterna del Río	1175	504844	4098391	ADRA	SOUTH
6	Río Mecina 2	Mecina-Bombarón	1144	486721	4093848	ADRA	SOUTH
7	Río Laroles 2	Laroles	1000	498007	4096666	ADRA	SOUTH
8	Río Monachil	Borreguiles	2679	465816	4103202	GENIL	NORTH
9	Río Monachil	Central de Díechar	1416	459643	4106471	GENIL	NORTH
10	Río Genil	Güejar-Sierra	1156	465349	4109791	GENIL	NORTH
11	Río Maitena	Güejar-Sierra	1018	463140	4111624	GENIL	NORTH
12	Río Dílar	Dílar	952	450669	4102077	GENIL	NORTH
13	Laguna de Aguas Verdes	Laguna de Aguas Verdes	3050	467000	4100000	GUADALFEO	SOUTH
14	Laguna La Caldera	Al pie de la Caldera	3022	470788	4100977	GUADALFEO	SOUTH
15	Río Trevélez	Poqueira	1540	477400	4096700	GUADALFEO	SOUTH
16	Barranco de los Pasillos	Los Pasillos	1646	493948	4107674	GUADIANA MENOR	NORTH

Appendix 1 - Continuation

SITE	RIVER	LOCALITY	ALTITUDE	X_UTM	Y_UTM	BASIN	SLOPE
17	Río del Pueblo	La Cabañuela	1547	486104	4110050	GUADIANA MENOR	NORTH
18	Arroyo del Alhorí	Central eléctrica	1514	482323	4111526	GUADIANA MENOR	NORTH
19	Arroyo del Alcázar	Área Recreativa La Tizná	1494	483531	4110396	GUADIANA MENOR	NORTH