



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Departament de Ciències del Mar i Biologia Aplicada
Departamento de Ciencias del Mar i Biología Aplicada

***Efectes de la eutrofització en masses d'aigua costaneres de la
província d'Alacant***

Han participat en aquest informe:

José Luis Sánchez Lizaso (Coordinador)

Javier Aguilar Escribano

Fabio Blanco Murillo

Mercedes Varela Diaz de Tuesta

Ivan Sola Macià

Yoana del Pilar Ruso

JOSÉ LUIS SÀNCHEZ LIZASO, Doctor en Ciències Biològiques i Catedràtic de la Universitat d'Alacant CERTIFICA que aquest informe ha sigut realitzat sota la meua direcció.

I per a que conste als efectes oportuns signe aquest escrit, a Alacant a 14 de desembre de 2020.



Sgt: Dr. José Luis Sánchez Lizaso

Efectes de la eutrofització en masses d'aigua costaneres de la província d'Alacant

1 Justificació:

Les masses d'aigua situades al sud dels ports d'Alacant i Santa Pola presenten una baixa qualitat ambiental degut a la seva elevada eutrofització. L'objectiu del present projecte d'investigació aplicada és estudiar la comunitat fitoplanctònica en ambdues zones per a intentar relacionar-la amb les entrades de nutrients i comparar-la amb zones control. Per altra banda, es caracteritzarà la composició en isòtops estables de diferents compartiments biològics per a veure si pot ser una ferramenta que seveixca discriminar la influència de les fonts d'eutrofització.

2 Introducció

La eutrofització és un dels principals impactes associats a les activitats humanes les quals han tingut un gran impacte global als sistemes costaners. Les descarregues de nutrients modifiquen els cicles biogeoquímics en aquests sistemes i la estructura de les comunitats. Les principals fonts que influeixen directament en el procés d'eutrofització dels sistemes costaners són el creixement de la població humana, els canvis en els usos del sòl i l'ús massiu de fertilitzants nitrogenats i fosfatats.

Les zones litorals "semitancades" (com badies o cales) junt als estuaris són àrees que es caracteritzen per tindre majors temps de residència i menor hidrodinamisme, a més de ser punts de descarrega de nutrients de rius, aigües residuals urbanes i aigües d'escorrentia, el que les fa particularment sensibles a l'impacte de la eutrofització. Els nutrients que podem trobar de manera habitual solen ser formes nitrogenades i fosfatades, formes químiques que solen ser aprofitades de una manera molt eficient per els organismes autòtrofs, en especial per les microalgues.

L'augment del número de habitants en moltes àrees litorals, en especial en l'època estival, provoca l'increment dels efluent antròpics al medi marí augmentant la entrada de nutrients però també es produeix una variació en la qualitat i les proporcions d'aquests compostos al temps que es modifiquen els fluxos d'aparició i els indrets de descarrega, variant les condicions ambientals del medi receptor i afavorint l'establiment de certs processos biològics, com és la aparició de certes

espècies o grups de espècies formadores dels coneguts com episodis de Proliferacions Algals Nocives (PAN).

L'àrea de San Gabriel ha patit diversos episodis d'aquest tipus (3 registrats des de 2009 fins 2014) (Aguilar 2016) amb efectes nocius per a la fauna marina como va ser la mortalitat de peixos observada a la platja i que varen ser retirats per els serveis de neteja municipals. L'organisme causant d'aquest tipus de episodis és un dinoflagel·lat *Gymnodinium impudicum*, considerat un organisme nociu per els seus efectes negatius sobre la flora i la fauna marines.

Durant molt de temps s'han gastat, de forma quasi exclusiva, variables físico-químiques per a establir la qualitat de l'aigua, però en la actualitat per a realitzar una avaluació més propera a la realitat, les polítiques de gestió i control combinen variables físico-químiques i indicadors biològics, como és el cas del fitoplàncton, per a l'estudi de la columna d'aigua.

La entrada difusa de nutrients al medi marí d'origen agrícola és un altre factor antròpic que pot provocar eutrofització en el medi marí. Entre la localitat de Santa Pola i la de Guardamar es localitza la desembocadura del riu Segura i la antiga desembocadura del riu Vinalopó que drenen la esorrentia de una ampla zona de cultiu el que pot influir en els resultats de qualitat ambiental del medi marí obtinguts amb la directiva marc de l'aigua.

Uns indicadors que han sigut empleats per identificar la eutrofització han sigut els isòtops estables. Els isòtops estables son nucleïds no radioactius d'un element, és a dir, àtoms d'un mateix element que tenen distint pes molecular però que no tenen decaïment radioactiu espontani amb el pas del temps. Per tant, la proporció dels distintes isòtops en la matèria és estable si no hi ha un procés químic que la altere (Fry 2006).

Amb la finalitat de detectar aquests possibles canvis, en l'estudi de isòtops estables es compara la proporció isotòpica de la mostra a estudiar amb un estàndard de referència de forma que totes les mesures siguen comparables. En aquest estudi s'han analitzat els dos elements amb isòtops estables més explicatius i més utilitzats per a detectar l'impacte ambiental en el medi marí, el carboni i el nitrogen. La mètrica empleada comunament per aquest tipus d'anàlisi és la notació estàndard *delta* (δ) que compara la raó isotòpica de la mostra amb la del valor estàndard (Fry 2006; Li et al. 2016):

$$\delta (\text{‰}) = [(R_{\text{mostra}}/E_{\text{estàndard}})-1] \cdot 1000$$

En el cas del carboni, l'isòtop C12 és el més abundant i s'analitza la seva proporció amb l'isòtop C13, que és més pesat. L'estàndard de referència de la proporció C13/C12 és la composició d'un microfòssil marí, la Belemnita Pee Dee (VPDV) (Fry 2006). Les variacions en el medi d'aquesta variable es relacionen amb canvis en la productivitat primària o fonts abiòtiques de CO₂ atmosfèric.

El nitrogen es pot trobar més comunament en forma del seu isòtop més lleuger N14, i en menor mesura com N15. L'estàndard de referència (N15/N14) és la rati present en el nitrogen atmosfèric. Aquest és l'isòtop estable més emprat en estudis tant ambientals com ecològics a l'estar relacionat tant amb el nivell tròfic d'un organisme, com amb la assimilació de compostos nitrogenats de diferents orígens. Açò passa amb els fertilitzants emprats en agricultura o amb les aigües de rebuig dels nuclis urbans, que solen estar clarament enriquides amb N15 i permeten avaluar la contaminació d'un punt de vessament estudiant, per exemple, la proporció d'isòtops de nitrogen en el sediments (Robinson 2001; Fry 2006).

Al medi marí, l'anàlisi d'isòtops estables (AIE) s'utilitza per a l'estudi de nivells tròfics, espècies invasores, dinàmica sedimentària, nutrients, etc. Però sobretot per l'anàlisi i la traçabilitat de contaminació química (Mancinelli & Vizzini 2015).

Els organismes analitzats en aquest estudi són el fitoplàncton com consumidor de nutrients en la columna d'aigua, i la fanerògama marina *Posidonia oceanica* com espècie bentònica endèmica de gran interès ambiental i hàbitat prioritari.

3 Metodologia

3.1 Àrea d'estudi:

L'àrea d'estudi consta de 4 localitats de mostreig: Campello i Tabarca, considerades com CONTROLS, on a priori no existeix cap entrada antròpica de nutrients conegut; i San Gabriel i Santa Pola, considerades com àrees de IMPACTE, on la primera és un àrea influenciada per l'emissari de la EDAR (Estació Depuradora d'Aigües Residuals) de Rincón de León, i la segona és una zona impactada per contaminació difusa probablement relacionada amb la entrada de nutrients agrícoles (figura 3.1).

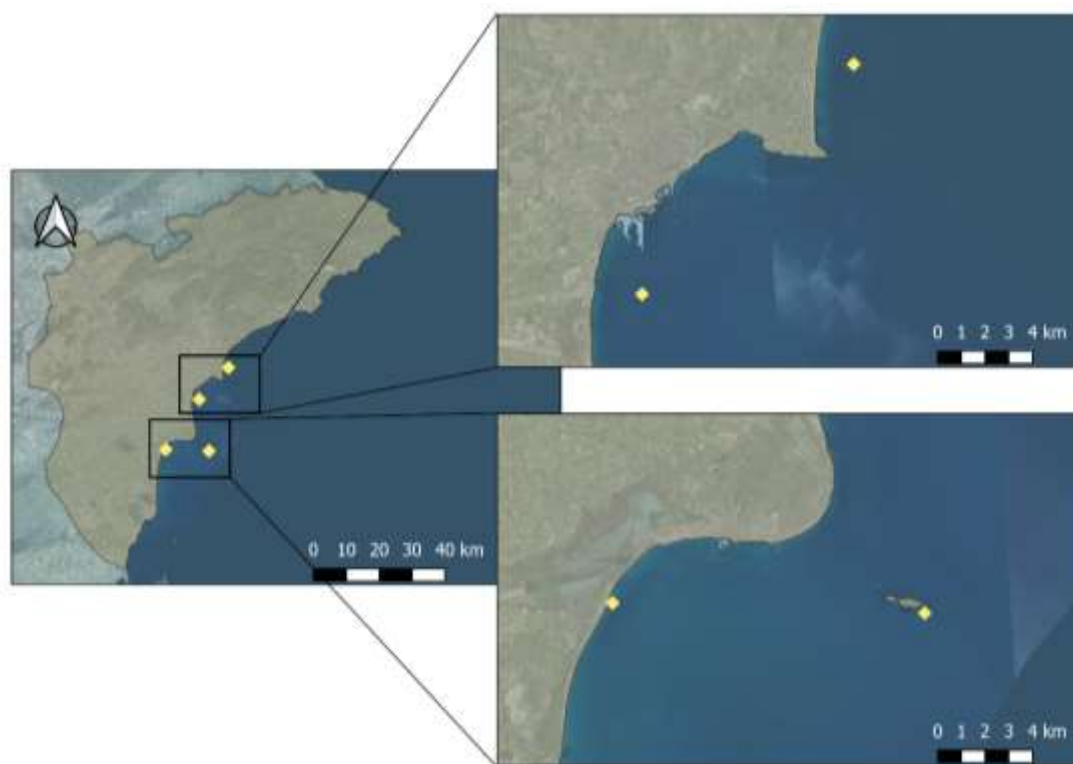


Figura 3.1: Punts de mostreig. San Gabriel-Campello (dreta dalt) i Santa Pola-Tabarca (dreta baix).

3.2 Anàlisi d'isòtops estables

S'han seleccionat dos compartiments biològics per a l'estudi d'isòtops estables. Per una banda s'ha estudiat el fitoplàncton com a base de la xarxa tròfica marina ja que la seva abundància i composició es troben influïdes per la disponibilitat de nutrients. Per altra banda s'ha estudiat *Posidonia oceanica*, un organisme bentònic de cicle de vida molt més llarg i lent. En el cas de *Posidonia oceanica* s'han estudiat dos fraccions: les fulles i els rizomes. L'anàlisi de les fulles, al tractar-se de un teixit de renovació anual permet conèixer la assimilació d'un contaminant al llarg de l'últim any, aproximadament. Per l'altra banda, el rizoma, al ser un teixit amb menor taxa de renovació, mostra les fraccions isotòpiques acumulades al llarg de varius anys.

a. Fitoplàncton

Les mostres de fitoplàncton es col·lectaren utilitzant una xarxa de llum de malla de 200 µm. La xarxa és necessària per obtenir una biomassa en pes sec suficient per a superar el llindar de detecció del espectròmetre de masses i obtenir la proporció d'isòtops estables. En concret, es necessari un mínim de 15 µg de nitrogen total per l'anàlisi.

Una vegada al laboratori, les mostres es filtraren amb un filtre Whatman GF/F de forma que els organismes quedaren retinguts al filtre. Després, els filtres es guardaren en la estufa 80°C 48 hores per a assecar-los i enviar-los a analitzar (Mompeàn et al. 2016).

b. *Posidonia oceanica*

En el cas de les mostres de *Posidonia oceanica*, es varen agafar als mateixos punts de mostreig de fitoplàncton en Santa Pola i Tabarca, però a una major distància de costa en el cas de les estacions de San Gabriel i Campello. Aquesta diferència es deu a que la praderia d'aquesta fanerògama marina ha patit una important regressió als darrers anys a la zona de San Gabriel i el límit superior de la praderia es troba a una profunditat aproximada de uns 15 metres. Per això, el mostreig a aquestes estacions es va fer a eixa fondària.

En cada punt es van agafar 3 feixos de *P. oceanica* de forma aleatòria i es varen portar al laboratori on es varen congelar fins el seu processament. Es separaren les

mostres de fulla i de rizoma per a analitzar cada teixit per separat. Prèviament es varen eliminar els epífits presents per a evitar qualsevol tipus de contaminació. Cada rèplica es va guardar en un eppendorf amb un forat en la part superior per a la posterior liofilització. Totes les mostres van estar a un liofilitzador durant 24 hores i després es trituraren amb nitrogen líquid deixant la matèria vegetal el més polvoritzada possible (Viana & Bode 2015). Després es guardaren les mostres en una estufa per evitar la seva hidratació fins enviar-les per l'anàlisi d'isòtops estables.

La determinació de $\delta^{15}\text{N}$ i $\delta^{13}\text{C}$ es va fer mitjançant combustió en un analitzador FlashEA1112 (ThermoFinnigan) acoblat mitjançant una interfase Conflo II a un espectròmetre de masses de relacions isotòpiques MAT253 (ThermoFinnigan).

Per al pesat de les mostres s'utilitzaren càpsules de estany i una balança UMX-2 (Mettler Toledo).

Per l'anàlisi del percentatge de nitrogen i carboni totals en la mostra, es convertiren en N_2 i CO_2 gas, per després produir una combustió instantània en un tub de quars amb oxidant a 1020°C en una atmosfera d'heli enriquida en oxigen. Després de realitzar una cromatografia dels gasos, es varen introduir a l'espectròmetre de masses a través d'una interfase.

Les dades varen ser analitzades amb un anàlisi de la variància (ANOVA) amb els següents models lineals.

Fitoplàncton:

$$X_{ijkln} = \mu + L_i + E_j + LE_{ij} + e_n$$

Posidonia oceanica:

$$X_{ijkln} = \mu + IC_i + T_j + ICT_{ij} + E_{l(i)} + TE_{j(l(i))} + e_n$$

Previ a l'anàlisi es comprovaren els requisits de la normalitat de les dades estudiades mitjançant un test de Kolmogorov-Smirnov i la homogeneïtat de variàncies amb el test de Bartlett (Underwood 1996).

3.3 Estudi de la comunitat fitoplanctònica

A cada estació es varen obtenir dades de paràmetres fisico-químics (abiòtics) i s'han recollit mostres d'aigua marina per al posterior anàlisi de nutrients i de paràmetres biològics com és l'estudi de la comunitat fitoplanctònica.

3.3.1 Paràmetres fisicoquímics:

El pH, la temperatura i la conductivitat s'han mesurat in situ a una profunditat d'1 metre, mitjançant l'ús d'una sonda multiparamètrica Hanna mod HI9828 per al pH i la temperatura, i d'un CTD model RBRconcerto3 per a la conductivitat.

La transparència de l'aigua s'ha mesurat mitjançant l'ús del disc de Secchi. Cal indicar que degut a la baixa profunditat que existeix en alguna de les localitats de mostreig en algunes estacions el disc de Secchi ha arribat al fons.

Per l'estudi de nutrients es va recollir una mostra mitjançant una botella oceanogràfica a una profunditat entre 0,5 i 1 metres per a evitar la presència d'olis i altres compostos que pogueren interferir en els posteriors anàlisis. En cada punt de mostreig es varen recollir 2 litres d'aigua de mar que es guardava en una nevera per a evitar la incidència de la llum directa i facilitar el seu transport. Una vegada al laboratori, les mostres es filtraren mitjançant filtres de 0,22 micres, recollint un volum entre 100 i 250 ml. Una vegada realitzat el filtrat, la mostra es congelava fins el moment del seu anàlisi.

Els nutrients analitzats en aquest estudi han segut les principals espècies nitrogenades: nitrats, nitrats, amoni, junt amb els fosfats, el fòsfor total i els silicats. La metodologia usada es basa en la determinació colorimètrica dels elements dissolts en aigua per un sistema automatitzat amb flux continu segmentat (CFA) (més informació a l'annex).

3.3.2.- Comunitat de fitoplàncton

Per l'estudi de la comunitat de fitoplàncton es va recollir una mostra mitjançant una botella oceanogràfica a una profunditat d'1 metre per a evitar la presència d'olis i altres substàncies que

pogueren interferir en els posteriors anàlisi. Es recolliren 200 ml d'aigua de mar i s'emmagatzemaren en un pot de vidre, guardant les mostres en una nevera per a evitar la incidència de la llum solar i facilitar el trasllat posterior al laboratori.

Per a efectuar els anàlisis quantitius de la comunitat de fitoplàncton s'ha seguit el mètode d'Utermöhl, basat en la Norma UNE-EN 15204:2007: "*Calidad del agua. Guía para el recuento de fitoplancton por microscopía invertida*". La determinació i identificació dels organismes planctònics s'ha realitzat mitjançant un microscopi òptic invertit Olympus CKX-41 amb contrast de fases i equip fotogràfic.

Cal destacar que aquest anàlisi es centra en el rang de mida del microplàncton, és a dir, la identificació està realitzada sobre organismes amb una mida entre 20 i 200 micres. La identificació de qualsevol organisme amb una mida inferior a les 20 micres és molt difícil degut a les tècniques emprades i, per tant, eixos casos s'han identificat a nivell de grup taxonòmic, o directament no seran inclosos als llistats. En aquest apartat estarien inclosos els nanoflagelats, els que poden ser quantificats, però no identificats.

S'ha considerat individu a cada cèl·lula. Als gèneres típicament colonials como *Leptocylindrus* sp, *Skeletonema* sp, *Pseudo-nitzschia* sp, o *Chaetoceros* sp, s'han comptabilitzat tots els individus existents a la colònia. En el cas de les cianofícies s'ha seguit el mateix criteri comptabilitzant cada individu existent a la colònia.

Totes les espècies trobades s'han comprovat amb diferents basses de dades, entre les que es troben el Registre Mundial d'Espècies Marines (<http://www.marinespecies.org/>), o Algaebase (<https://www.algaebase.org/>) a fi de proporcionar una nomenclatura taxonòmica actualitzada. Totes les mostres han sigut analitzades per personal qualificat i especialitzat en anàlisi de fitoplàncton marí.

A cadascuna de les campanyes estacionals de mostreig es mostrejaren tres dies separats no més de 15 dies entre sí per a recollir la variabilitat temporal. Cada dia es varen obtenir 4 mostres per estació de les que es processaren 3, guardant-se la quarta de reserva.

El mostreig d'hivern previst en març de 2020 no es va poder realitzar per la pandèmia i el mostreig de tardor de 2020 no s'ha pogut processar encara per el que solament es presenten els resultats del mostreig de primavera i estiu. Tampoc s'han pogut processar de moment les mostres de

sediments per el retràs en la adquisició del equip necessari. Així mateix les mostres de pigments fotosintètics estan pendents de anàlisi.

3.3.3.- Anàlisi de dades

Per l'estudi de la estructura de la comunitat fitoplanctònica s'han calculat diversos índexs, entre els que es troben l'índex de Diversitat de Shannon (H'), basat en la "Teoria de la Informació. Aquest índex assumeix que els individus es mostregen al atzar a partir d'una població indefinidament gran i, a més, assumeix que totes les espècies estan representades en la mostra. Aquest índex és un dels més utilitzats als anàlisis fitoplanctològics (UNEP/FAO/IOC), ja que és poc sensible a una identificació imprecisa i a l'oblit d'espècies representades per poc individus. En aquest treball s'ha utilitzat l'índex amb logaritme en base 2 que és el més comú. Un altra característica important d'aquest índex és que té en compte tant la riquesa en espècies com la equitativitat dels seus components.

També s'ha utilitzat l'índex d'Equitativitat o de Pielou (J'). Aquest índex expressa la homogeneïtat o heterogeneïtat en la distribució de les espècies en una determinada comunitat. Els valors d'aquest índex oscil·len entre 0 i 1. Per al càlcul dels índexs s'ha realitzat un anàlisi DIVERSE mitjançant el software PRIMER 6+ (Clarke and Gorley, 2006).

S'ha fet un Anàlisi de Components Principals (ACP), per a vore, d'una manera clara i senzilla, quines de les variables estudiades ajuden a explicar la variabilitat observada respecte a les localitats mostrejades. Aquest tipus d'anàlisi és apropiat quan es tracta de reduir la dimensió d'una matriu de dades gran per el número de variables que inclou, i condensar-les en un número menor de variables (components) que sintetitzen la major part de la informació (Fernández, 2009).

Per a la realització del ACP es consideraren les variables de nutrients: Nitrits (NO_2^-), nitrats (NO_3^-), amoni (NH_4^+), fosfats (PO_4^{3-}), fòsfor total (TP) i silicats (SiO_4^{2-}). Junt a aquestes variables abiòtiques es consideraren les variables biòtiques d'abundància cel·lular i riquesa específica per a cadascuna de les localitat en estudi i per a cada campanya: primavera (P) i estiu (E).

Adicionalment s'ha realitzat un anàlisi de escalat multidimensional no mètric, també conegut com n-MDS per les seves sigles en anglès (non metric MultiDimensional Scaning). Aquest anàlisi s'ha realitzat amb el software PRIMER 6+ (Clarke and Gorley, 2006). A partir del càlcul de la matriu de similitud per a la matriu d'abundàncies cel·lulars dels diferents taxons observats en base al coeficient de similitud de Bray-Curtis i una transformació de les dades (Arhondistsis, 2003; Spatharis, 2007; Balkis, 2008), s'ha calculat l'agrupament jeràrquic per grups (group-average). La transformació ha sigut la arrel quadrada, per a ajustar les dades a una aproximació normal i ponderar la contribució de les espècies rares front a les comunes en les representacions multivariants (Gomis, 1992; Balkis, 2008; Nasrollahzadeh, 2008).

Finalment es va realitzar un anàlisi de la variància o ANOVA per a les diferents espècies de nutrients analitzades, així com per a la variable abundància de fitoplàncton. En base al disseny experimental, es consideraren els factors "Estació" i "Localitat" com fixes i ortogonals, utilitzant en tots els casos el següent model lineal:

$$X_{ijn} = \mu + E_i + L_j + EL_{(ij)} + e_n$$

Previ a l'anàlisi es comprovaren els requisits de la normalitat de les dades amb el test de Kolmogorov-Smirnov, i la homogeneïtat de variàncies amb el test de Bartlett (Underwood 1996).

Tant l'anàlisi de components principals com l'ANOVA s'han fet amb el software lliure RStudio (RStudio Team, 2020).

4 Resultats

4.1 Anàlisi de isòtops estables

4.1.1 Fitoplàncton

La figura 4.1 representa el contingut en carboni i nitrogen de les mostres de fitoplàncton analitzades. S'observa un major contingut en nitrogen en les estacions impactades, Santa Pola i San Gabriel, front a les no impactades (Campello i Tabarca). El percentatge de carboni en canvi no presenta una tendència clara ja que malgrat que la estació de Tabarca presenta els valors menors i la de Santa Pola els majors, la estació de Campello presenta uns valors intermedis entre les dues estacions impactades. En ambdós casos és significativa la interacció entre el factor impacte i el factor estació (taula 4.1).

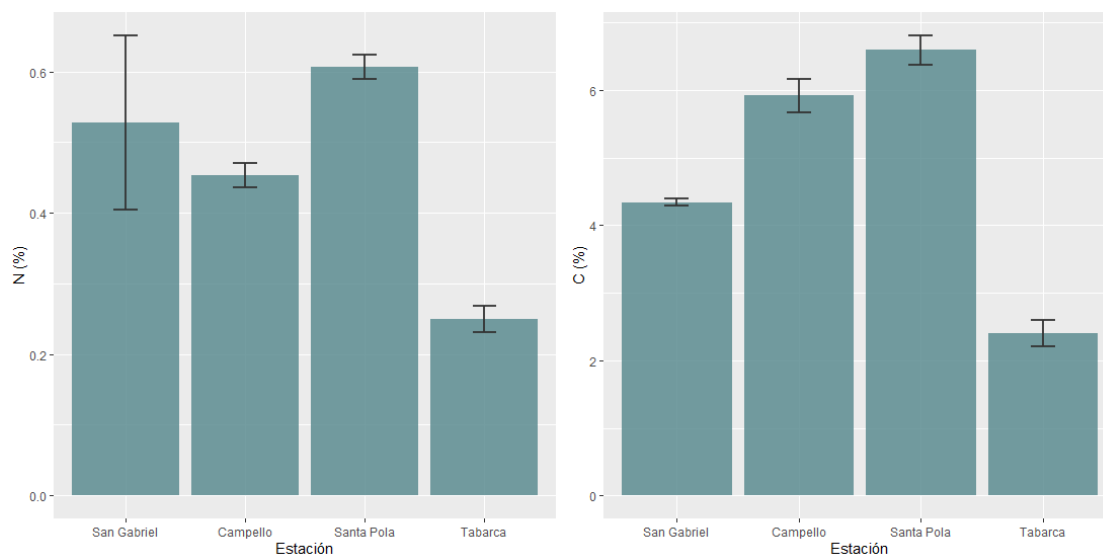


Figura 4.1: Percentatges de nitrogen (esquerra) i carboni (dreta) a les mostres de fitoplàncton.

Taula 4.1: Resultats de l'ANOVA per a les mostres de fitoplàncton. Nivell de significació estadística: (*) $p < 0.1$, (**) $p < 0.05$ i (***) $p < 0.01$.

Variable	Font de variació	G.l.	Sum. Sq	Mean Sq	F value	p value	Sign.
% Nitrogen	IC	1	0.16333	0.16333	32.667	0.000446	***
	IC:Estació	2	0.08333	0.04167	8.333	0.011064	**
	Residuals	8	0.04	0.005			
% Carboni	IC	1	5.333	5.333	136.2	2.65E-06	***
	IC:Estació	2	26.433	13.217	337.4	1.88E-08	***
	Residuals	8	0.313	0.039			
$\delta^{15}\text{N}_{\text{aire}}$ (‰)	IC	1	18.25	18.253	11.233	0.01006	**
	IC:Estació	2	31.68	15.842	9.749	0.00716	***
	Residuals	8	13	1.625			
$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDV}}$ (‰)	IC	1	1.02	1.021	102.1	7.86E-06	***
	IC:Estació	2	36.75	18.374	1837.4	2.23E-11	***
	Residuals	8	0.08	0.01			

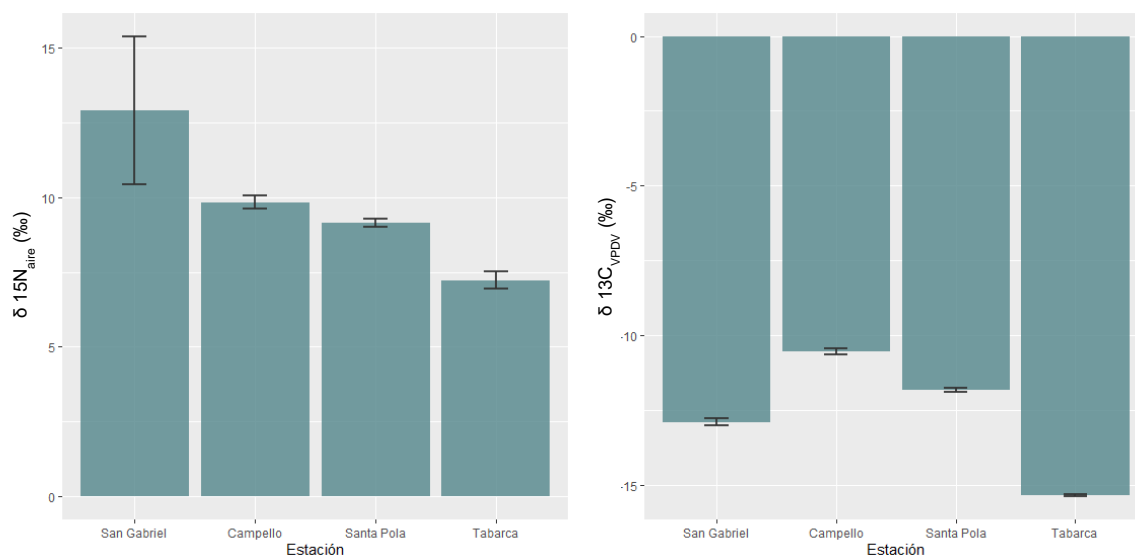


Figura 4.2: Valors de $\delta^{15}\text{N}$ i $\delta^{13}\text{C}$ per a les mostres de fitoplàncton.

La empremta isotòpica (Figura 4.2) mostra clares diferències entre la estació de San Gabriel, amb un alt valor de $\delta^{15}\text{N}$, i la resta de mostres. Tabarca també té unes característiques molt concretes amb valors baixos per ambdós elements. Les estacions de Campello i Santa Pola presenten unes empremtes isotòpiques similars per ambdós isòtops.

La segregació entre les diferents estacions s'observa millor a la figura 4.3 on les estacions més allunyades són San Gabriel i Tabarca mentre que les estacions de Campello i Santa Pola presenten posicions intermèdies.

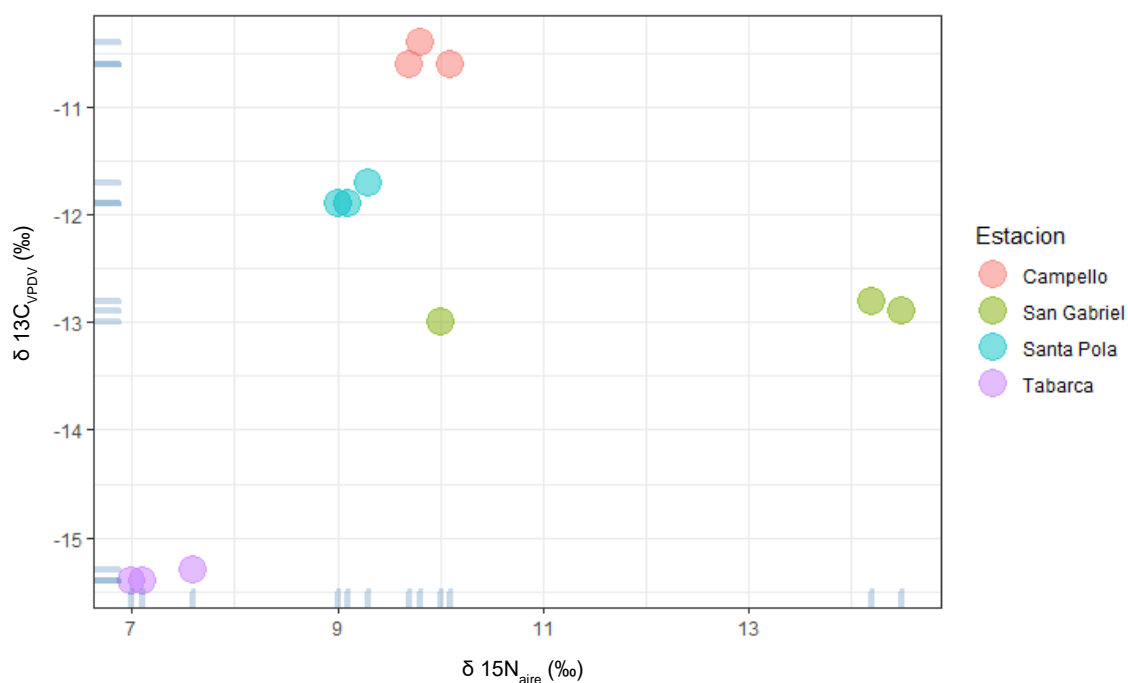


Figura 2.3: Caracterització isotòpica completa de cada estació representant en cada eix els elements analitzats.

4.1.2 *Posidonia oceanica*

La proporció de nitrogen i carboni en les mostres de *P. oceanica* té valors sempre significativament (Taula 4.2) superiors en les mostres de rizoma en comparació amb les fulles.

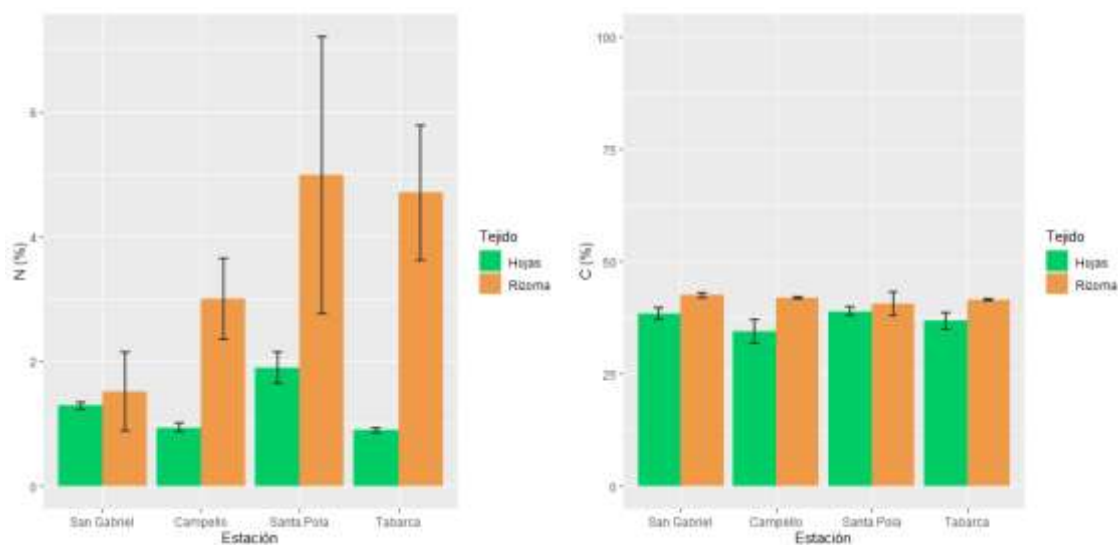


Figura 4.4: Percentatge de carboni i nitrogen en las mostres de *P. oceanica*.

El percentatge de nitrogen va ser superior a les fulles de les localitats impactades en comparació amb els controls (Figura 4.4) malgrat que aquesta diferència no va ser estadísticament significativa. Destaquen els alts valors d'aquest element a les mostres de rizoma de Santa Pola i Tabarca que són superiors als de San Gabriel i Campello.

Els valors per al carboni foren molt similars entre les mostres amb valors oscil·lant entre 35 i 45% del pes sec total de la mostra (Figura 4.4) amb valors un poc més alts als rizomes que a les fulles.

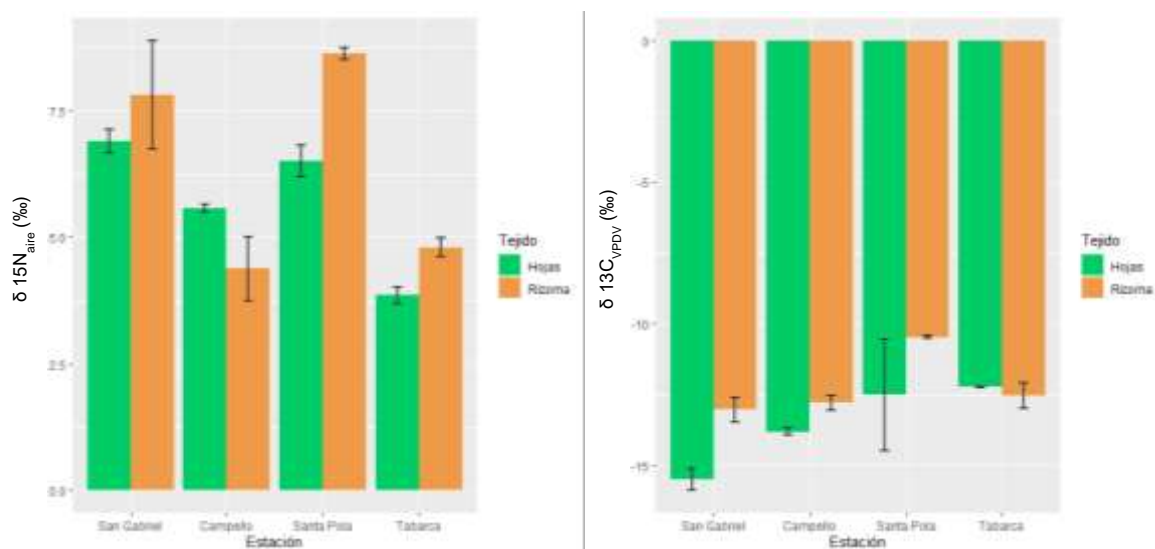


Figura 4.5: Valors de $\delta^{15}\text{N}$ i $\delta^{13}\text{C}$ per a les mostres de *P. oceanica*.

Els valors de $\delta^{15}\text{N}$ foren significativament superiors en el rizoma, en comparació amb les fulles, excepte en el cas d'El Campello (figura 4.5). S'observen diferències significatives (taula 4.2) tant per a fulles com per a rizomes en el factor Impacte-Control amb valors més alts de $\delta^{15}\text{N}$ en les localitats impactades (figura 4.5).

En el cas del $\delta^{13}\text{C}$, no es detectaren diferències associades a l'impacte, però sí a la interacció entre tipus de teixit i l'impacte. Aquesta interacció mostra que en les estacions impacte la proporció de $\delta^{13}\text{C}$ és significativament més alta en les fulles que en el rizoma.

Taula 4.1: Resultats de l'ANOVA per a les mostres de *P. oceanica*. Valors de significança estadística: (*) $p < 0.1$, (**) $p < 0.05$ i (***) $p < 0.01$.

Variable	Font de variació	G.l.	Sum. Sq	Mean Sq	F value	p value	Sign.
% Nitrogen	IC	1	0	0	0	0.983	
	Teixit	1	31.97	31.97	35.922	1.88E-05	***
	IC:Estació	2	14.12	7.06	7.933	0.00404	**
	IC: Teixit	1	2.34	2.34	2.633	0.12417	
	IC:Estació: Teixit	2	8.27	4.14	4.648	0.02561	*
	Residuals	16	14.24	0.89			
% Carboni	IC	1	12.47	12.47	4.91	0.0416	*
	Teixit	1	117.48	117.48	46.253	4.26E-06	***
	IC:Estació	2	4.3	2.15	0.847	0.4472	
	IC: Teixit	1	15.52	15.52	6.11	0.025	*
	IC:Estació: Teixit	2	10.04	5.02	1.977	0.1709	
	Residuals	16	40.64	2.54			
Teixit	Teixit	1	47.88	47.88	220.16	8.99E-11	***
	Teixit	1	2.87	2.87	13.2	0.002239	**
	IC:Estació	2	1.39	0.69	3.19	0.068263	.
	IC: Teixit	1	3.92	3.92	18.02	0.000617	***
	IC:Estació: Teixit	2	4.39	2.19	10.09	0.001465	**

	Residuals	16	3.48	0.22			
$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDV}} (\text{‰})$	IC	1	0.002	0.002	0.003	0.957638	
	T Teixit	1	10.14	10.14	17.712	0.000666	***
	IC:Estació	2	25.393	12.697	22.178	2.44E-05	***
	IC: Teixit	1	5.227	5.227	9.13	0.008107	**
	IC:Estació: Teixit	2	1.497	0.748	1.307	0.297984	
	Residuals	16	9.16	0.573			

La empremta isotòpica de les diferents estacions mostra una clara similitud entre ambdues estacions control i una major dispersió en les impactades (figura 4.6). Les estacions impacte es troben desplaçades cap a majors proporcions de N15 i tenen diferent proporció de C13, tenint les fulles de San Gabriel valors molt baixos en comparació amb el rizoma de Santa Pola.

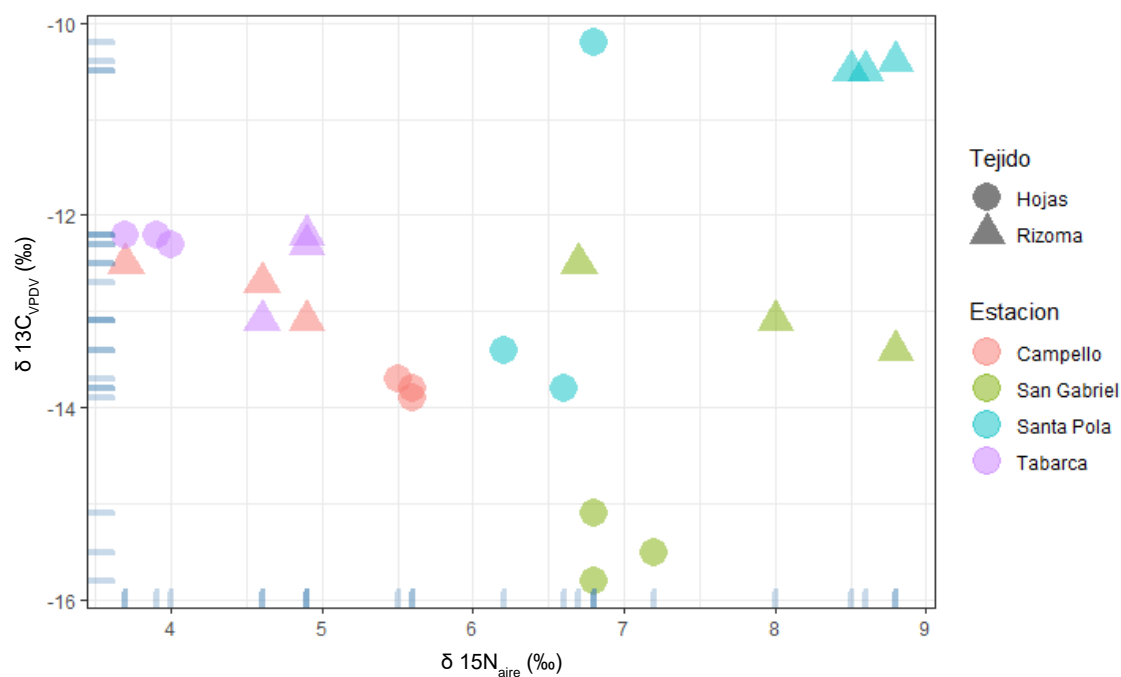


Figura 3.6: Caracterització isotòpica completa de cada estació/fracció en funció dels elements analitzats.

4.2 Estudi de la comunitat fitoplanctònica

4.2.1 Paràmetres abiòtics

La taula 4.3 presenta els valors registrats durant els mostrejos de temperatura, pH, disc de Secchi i conductivitat. Cal destacar la diferència en la transparència entre estacions. En la localitat de San Gabriel la transparència és la menor amb una profunditat de disc de Secchi de 1,62 m en la estació de primavera, i de 1,30 m en estiu. La localitat de Santa Pola presenta la segona menor transparència amb 4,73 m en la primavera i 2,34 m en estiu.

En la localitat d'El Campello, la profunditat va ser de 5,25 m. En aquesta localitat la profunditat màxima de fons és de 6,50 m i la mínima de 4 m per el que el disc ha arribat al fons tant en primavera com en estiu. Per aquest motiu la transparència és major que la que indica la profunditat del disc de Secchi.

Por últim, la localitat de Tabarca és la que presenta una major transparència de l'aigua, amb un valor de 7,70 m, i una visualització del fons en el 100% dels mostreigs realitzats. En aquest cas, la fondària oscil·la entre 6,5 i 10 m de profunditat.

Taula 4.3: Valors i desviacions estàndard dels paràmetres fisicoquímics.

	Temp (°C)		pH		Disc de Secchi (m)		Conductivitat (µS/cm)	
	Mitjana	Desv. Est.	Mitjana	Desv. Est.	Mitjana	Desv. Est.	Mitjana	Desv. Est.
San Gabriel								
Primavera	23,04	1,18	7,84	0,06	1,62	0,42	49.553,33	1127,22
Estiu	27,80	0,98	8,13	0,03	1,30	0,27	56.176,50	1894,20
El Campello								
Primavera	22,39	0,76	7,78	0,14	5,25	1,31	49.707,50	1255,11
Estiu	26,88	0,91	8,10	0,03	5,25	1,31	54.736,50	1908,76
Santa Pola								
Primavera	24,19	1,67	7,86	0,07	4,73	0,95	50.270,00	1140,93
Estiu	27,69	0,95	7,99	0,05	2,34	1,80	53.224,25	3096,52
Tabarca								

Primavera	23,27	1,19	7,87	0,02	7,70	1,43	50.030,83	882,94
Estiu	26,82	1,10	8,10	0,02	7,75	1,50	54.317,58	2246,80

En la figura 4.7 es pot apreciar la diferència de transparència (o de terbolesa) existent entre les localitats de San Gabriel i Tabarca.



Figura 4.7: Terbolesa a les localitats de San Gabriel (esquerra) i Tabarca (dreta) al realitzar busseig autònom.

En la taula 4.4 es presenten els valors de les concentracions (en $\mu\text{mols per litre}$) obtingudes per a les distintes espècies de nutrients analitzades: nitrats, nitrits, amoni, silicats, fosfats i fòsfor total.

Taula 4.4: Valors de concentració ($\mu\text{mols/L}$), desviacions estàndard, màxims i mínims de les diferents espècies de nutrients analitzades.

	San Gabriel		El Campello		Santa Pola		Tabarca	
	Primavera	Estiu	Primavera	Estiu	Primavera	Estiu	Primavera	Estiu
N-NO₃⁻								
Mitjana	24,90	13,73	1,41	1,57	2,27	2,09	1,38	1,20
Desv. Est.	6,79	12,77	0,20	0,37	0,86	0,44	0,19	0,26
Mínim	15,71	1,75	1,20	1,20	1,19	1,70	1,18	0,84

Màxim	31,62	30,13	1,57	1,94	3,14	2,50	1,58	1,48
N-NO₂⁻								
Mitjana	0,31	0,57	0,03	0,03	0,12	0,24	0,02	0,08
Desv. Est.	0,12	0,50	0,02	0,02	0,07	0,08	0,01	0,03
Mínim	0,20	0,08	0,01	0,01	0,03	0,18	0,01	0,05
Màxim	0,47	1,26	0,06	0,04	0,18	0,36	0,03	0,11
N-NH₄⁺								
Mitjana	3,27	1,11	1,65	0,99	0,98	0,62	2,07	0,28
Desv. Est.	1,50	0,87	1,10	0,77	0,39	0,20	0,81	0,05
Mínim	1,36	0,11	0,77	0,35	0,54	0,44	1,26	0,22
Màxim	4,64	2,17	3,13	1,85	1,49	0,90	3,12	0,35
Si-SiO₄²⁻								
Mitjana	3,75	2,15	0,48	0,45	2,11	2,28	0,41	0,36
Desv. Est.	1,10	1,46	0,15	0,17	1,22	0,30	0,08	0,13
Mínim	3,05	0,31	0,31	0,31	0,97	1,88	0,31	0,21
Màxim	5,38	3,55	0,63	0,64	3,35	2,60	0,49	0,49
P-PO₄³⁻								
Mitjana	2,10	1,46	0,06	0,08	0,08	0,08	0,02	0,02
Desv. Est.	1,52	1,25	0,05	0,06	0,04	0,02	0,01	0,00
Mínim	0,76	0,12	0,02	0,03	0,03	0,07	0,02	0,01
Màxim	3,62	2,90	0,14	0,14	0,12	0,11	0,03	0,02
TP								
Mitjana	2,50	1,91	0,26	0,27	0,40	0,25	0,36	0,22
Desv. Est.	1,62	1,21	0,10	0,10	0,41	0,02	0,03	0,06
Mínim	1,01	0,48	0,16	0,16	0,17	0,23	0,32	0,14
Màxim	3,97	3,19	0,36	0,36	1,01	0,27	0,40	0,28

Els resultats de l'ANOVA es mostren a la taula 4.5. Els resultats indiquen que, per a totes les variables estudiades, el factor on es troben diferències és la localitat. Únicament en el cas de l'amoni (NH_4^+), la estacionalitat va tenir una major contribució a les diferències entre mostres.

Per als nitrats (NO_3^-), el nitrogen total (NT), els fosfats (PO_4^{3-}), el fòsfor total (PT) i abundàncies cel·lulars, San Gabriel va tenir valors significativament superiors a la resta de estacions. Per altra banda, en el cas dels silicats (SiO_4^{2-}) i els nitrats (NO_2^-), San Gabriel i Santa Pola, es diferenciaren conjuntament de les estacions control, amb valors significativament superiors respecte a ells.

Taula 2.5: Resultats de l'ANOVA per als paràmetres fisicoquímics així com per a la abundància de fitoplàncton. Valors de significança estadística: (*) $p < 0.1$, (**) $p < 0.05$ i (***) $p < 0.01$.

Variable	Font de variació	G.l.	Sum. Sq	Mean Sq	F value	p value	Sign.
NO_3^-	Estació	1	66.2	66.2	2.519	0.1255	
	Localitat	3	1880.6	626.9	23.853	2.22e-07	***
	Estació: Localitat	3	183.6	61.2	2.328	0.0999	
	Residuals	24	630.7	26.3			
NO_2^-	Estació	1	0.0893	0.08925	2.610	0.119296	
	Localitat	3	0.8578	0.28594	8.360	0.000558	***
	Estació: Localitat	3	0.0746	0.02485	0.727	0.546082	
	Residuals	24	0.8209	0.03420			
NH_4^+	Estació	1	14.072	14.072	21.671	9.98e-05	***
	Localitat	3	8.575	2.858	4.402	0.0133	*
	Estació: Localitat	3	3.905	1.302	2.005	0.1402	
	Residuals	24	15.584	0.649			
SiO_4^{2+}	Estació	1	1.11	1.106	1.772	0.196	
	Localitat	3	38.96	12.986	20.797	7.34e-07	***
	Estació: Localitat	3	4.08	1.361	2.179	0.117	
	Residuals	24	14.99	0.624			
PO_4^{3-}	Estació	1	0.211	0.211	0.439	0.514	
	Localitat	3	17.886	5.962	12.384	4.3e-05	***
	Estació: Localitat	3	0.621	0.207	0.430	0.733	
	Residuals	24	11.554	0.481			
TP	Estació	1	0.401	0.401	0.746	0.396	
	Localitat	3	21.970	7.323	13.648	2.12e-05	***
	Estació: Localitat	3	0.373	0.124	0.232	0.873	
	Residuals	24	12.878	0.537			

Abundàncies	Estació	1	1.83	1.826	4.329	0.0424	*
	Localitat	3	85.44	28.480	67.528	<2e-16	***
	Estació: Localitat	3	7.48	2.494	5.913	0.0015	**
	Residuals	52	21.93	0.422			

La localitat de San Gabriel és la que presenta una major concentració de la majoria de les espècies químiques de nutrients analitzades. En especial, ressalten els nitrats (figura 4.8), tant en primavera como en estiu, amb valors molt superiors als observats a la resta, amb 24,90 $\mu\text{mols/L}$ en primavera i 13,73 $\mu\text{mols/L}$ en estiu. En aquesta localitat tenim valors màxims entre rèpliques amb valors que superen els 15 $\mu\text{mols/L}$ de nitrats en un 75% de les rèpliques analitzades amb un màxim de 31,62 $\mu\text{mols/L}$ de nitrats en primavera i de 30,13 $\mu\text{mols/L}$ de nitrats en estiu. En estiu destaca la ampla barra d'error a l'existir una elevada variabilitat entre rèpliques, amb un mínim de 1,75 $\mu\text{mols/L}$ i un màxim de 30,13 $\mu\text{mols/L}$. Açò pot ser degut al baix hidrodinamisme present en l'àrea de estudi que fa que la columna d'aigua no s'homogeneïtze de una manera ràpida i òptima i l'aportació continuat de la EDAR del Rincón de León que fa que les concentracions de nutrients siguin distintes en funció del punt de mostreig.

Per a la resta de localitats mostrejades, tant en primavera com en estiu, en cap dels casos es superen els 2,3 $\mu\text{mols/L}$ de NO_3^- com a valor mitjà. Si ens fixem a la resta de localitats és a Santa Pola on es troben uns valors lleugerament més elevats respecte a les altres dues localitats, amb valors situats entre 2,09 i 2,27 $\mu\text{mols/L}$ de NO_3^- , front a valors inferiors a 1,6 $\mu\text{mols/L}$ de NO_3^- per a les localitats de El Campello i Tabarca.

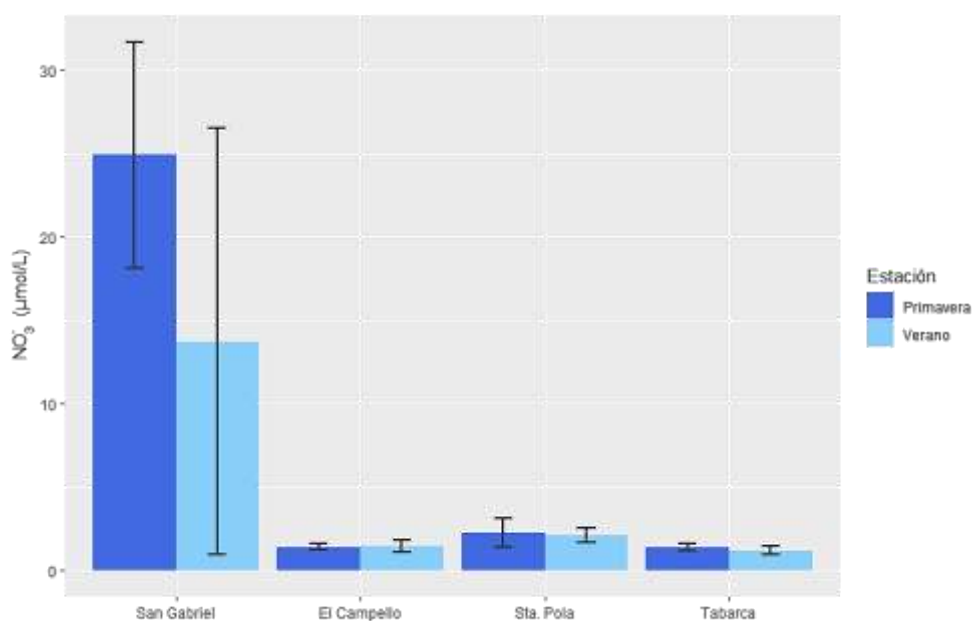


Figura 4.8: Concentracions de nitrats (NO_3^-) ($\mu\text{mol/L}$).

Els nitrits (NO_2^-), al igual que els nitrats, presenten les màximes concentracions en la localitat de San Gabriel (figura 4.9) però, en aquest cas, les concentracions màximes es troben al estiu. Ressaltar que les concentracions de nitrits no superen, en cap cas, $1 \mu\text{mol/L}$ de NO_2^- . Al igual que passava amb els nitrats en aquesta localitat, existeix una variabilitat entre rèpliques molt gran, en especial en estiu. Santa Pola torna a ser la segona localitat amb unes majors concentracions de nitrits sense arribar als valors de San Gabriel.

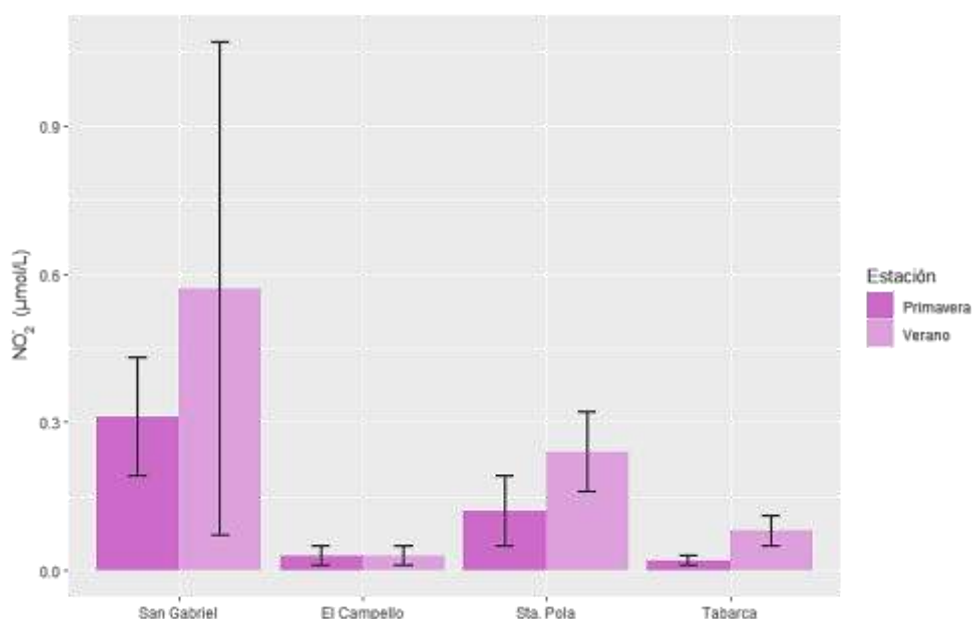


Figura 4.9: Concentracions de nitrits (NO₂⁻) (μmols/L).

L'última espècie nitrogenada, l'amoni (NH₄⁺), presenta una distribució distinta a les altres dues espècies (figura 4.10). En aquest cas, San Gabriel continua sent la localitat on s'observa la major concentració, amb un valor màxim de 3,27 μmols/L en primavera. La resta de localitats també tenen els màxims en primavera, destacant la localitat de Tabarca, amb 2,07 μmols/L de NH₄⁺, malgrat que en estiu aquesta localitat torna a tindre el valor mínim amb 0,27 μmols/L.

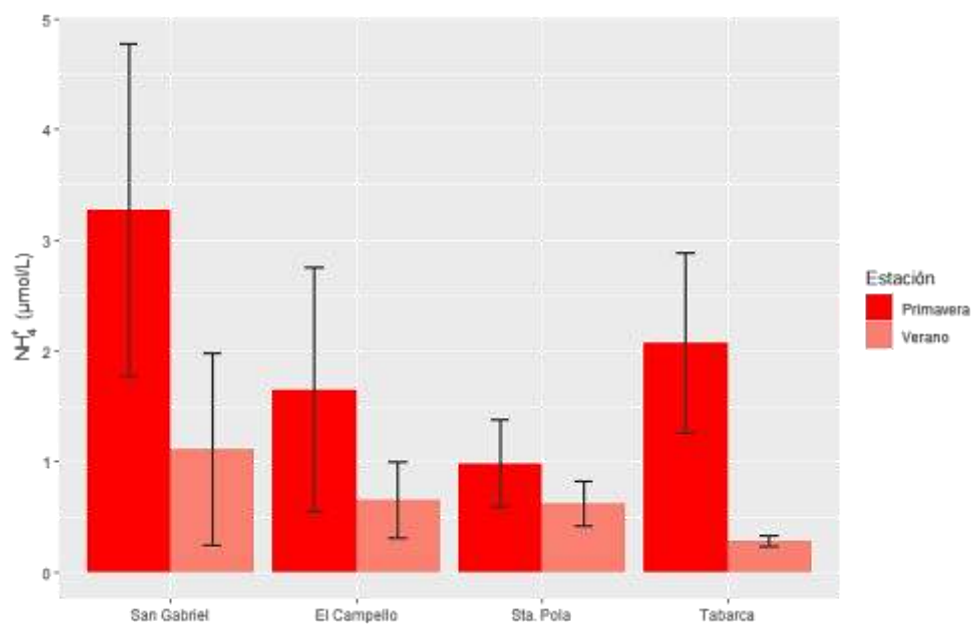


Figura 4.10: Concentracions d'amoni (NH_4^+) ($\mu\text{mol/L}$).

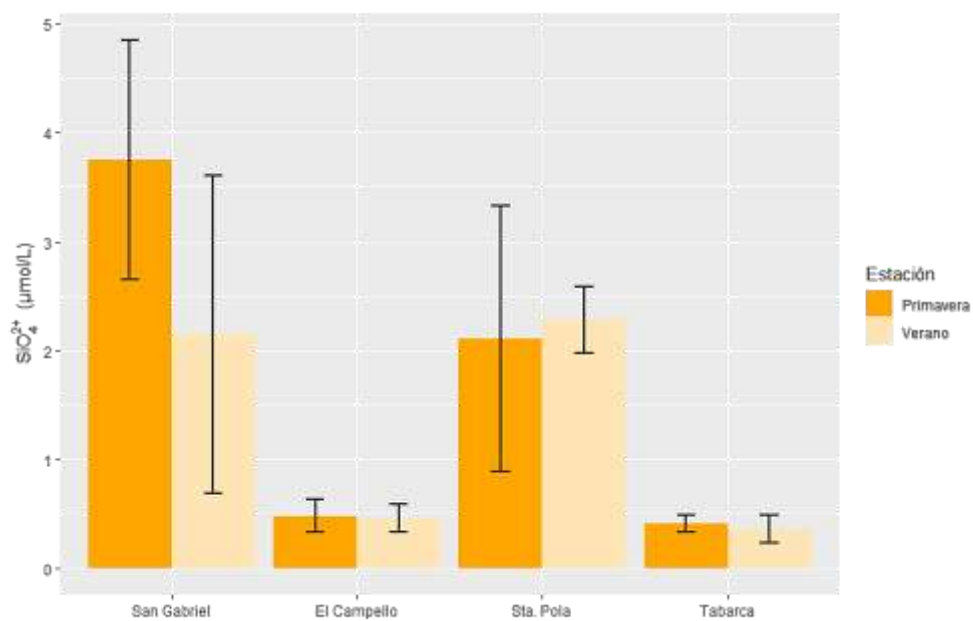


Figura 4.11: Concentracions de silicats (SiO_4^{2-}) ($\mu\text{mol/L}$).

En el cas dels silicats (SiO_4^{2-}) San Gabriel torna a presentar els valors màxims, amb un valor de $3,75 \mu\text{mols/L}$ en primavera (figura 4.11). A l'estiu, el valor és de $2,15 \mu\text{mols/L}$, molt pròxim al valor de la localitat de Santa Pola, $2,28 \mu\text{mols/L}$ que presenta el màxim. El Campello i Tabarca, tant per a la primavera com per al estiu, presenten valors mínims, dintre de la forquilla entre $0,36$ i $0,48 \mu\text{mols/L}$ de SiO_4^{2-} .

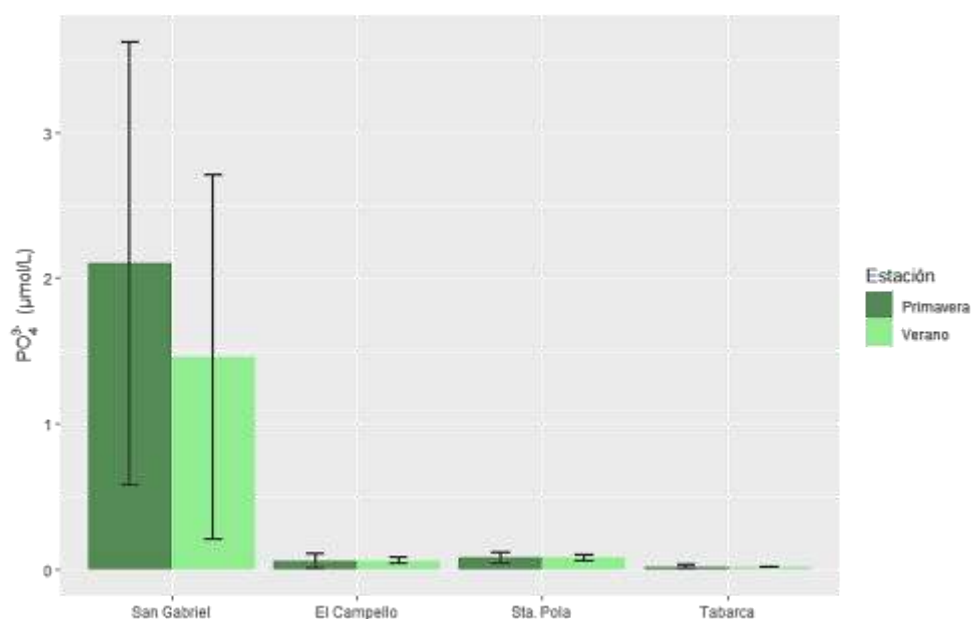


Figura 4.12: Concentracions de fosfats (PO_4^{3-}) ($\mu\text{mols/L}$).

Per als fosfats (PO_4^{3-}), torna a ser San Gabriel la localitat que té els màxims valors, tant en primavera com en estiu, amb valors de $2,50$ i $1,91 \mu\text{mols/L}$ respectivament (figura 4.12). Les localitats d'El Campello i Santa Pola tenen valors molt semblants, mentre que Tabarca és la localitat amb una menor concentració de aquesta espècie química, tant a la primavera com a l'estiu.

Per últim, el fòsfor total (TP) segueix la mateixa tendència que la majoria dels nutrients analitzats, sent San Gabriel la localitat amb les majors concentracions (figura 4.13). En aquest cas, la concentració en primavera és de $2,50 \mu\text{mols/L}$ mentre que a l'estiu baixa lleugerament fins els $1,91 \mu\text{mols/L}$ de TP.

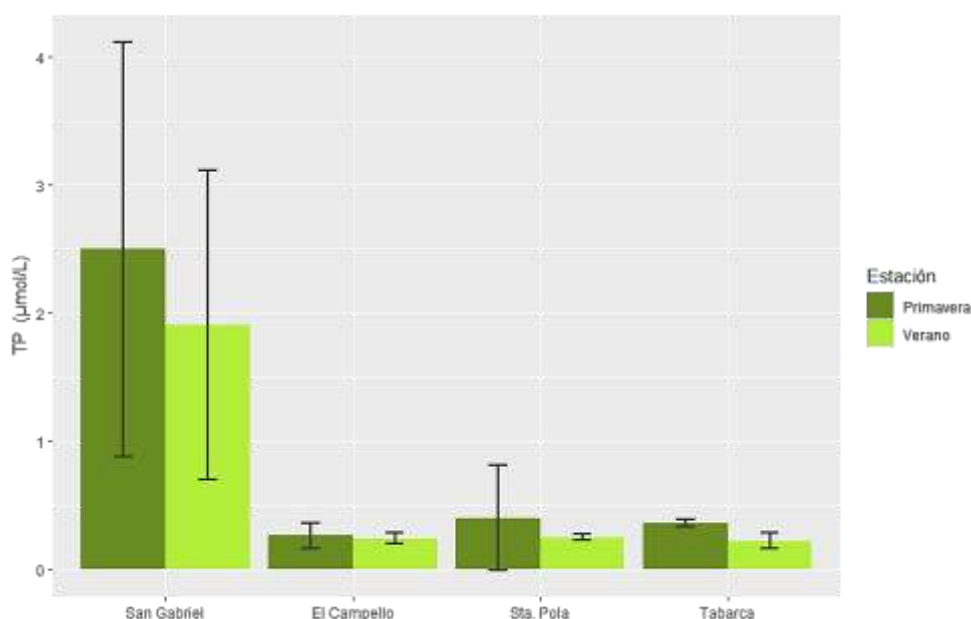


Figura 4.13: Concentracions de fòsfor total (TP) ($\mu\text{mol/L}$).

4.2.2 Comunitat fitoplanctònica

La taula 4.6 mostra els valors dels paràmetres que caracteritzen la comunitat de fitoplàncton: Abundància total (en individus per litre), Riquesa específica (número de taxons observats en cada mostra), i valors dels índexs de Diversitat (bits per individu) i Equitat. Es pot apreciar com la localitat de San Gabriel, té els màxims valors de abundàncies cel·lulars, tant en primavera com en estiu, amb valors superiors al milió de cèl·lules per litre, destacant per damunt de tots els valors el de estiu amb un valor de 10.730.680 cèl·lules per litre. Aquests valors estan per damunt dels llindars per a determinar la presència de “marees vermelles”, que es caracteritzen per la modificació del color de l’aigua. La massa d’aigua de San Gabriel té associada a aquests canvis de coloració una presència abundant de material particulat en suspensió, el que contribueix a un augment en la terbolesa de l’aigua.

Respecte al paràmetre de abundàncies, la localitat de Tabarca és la que presenta els valors mínims, amb 67.044 cèl·lules per litre en la estació de primavera i 97.648 cèl·lules per litre en la de estiu. Santa Pola i El Campello tenen valors similars en primavera, però tenen diferències en estiu, on

la abundància en Santa Pola és de 170.518 cèl·lules per litre mentre que a El Campello és de 92.588 cèl·lules per litre.

Taula 4.6: Resumen dels paràmetres estructurals de les comunitats fitoplanctòniques. Mitjana per a cada localitat en funció de la estació.

	Abundància (Inds/L)		Riquesa Específica (S) (Nº taxons)	Índex de Diversitat (H')	Índex de Equitat (J)
	Mitjana	Desv. Est.			
San Gabriel					
Primavera	1.002.638	750.567	103	3,59	0,54
Estiu	5.365.340	4.941.705	71	1,16	0,19
El Campello					
Primavera	159.977	127.896	138	3,31	0,47
Estiu	92.588	33.454	87	4,17	0,65
Santa Pola					
Primavera	160.687	85.853	110	3,79	0,56
Estiu	170.518	114.239	84	3,93	0,62
Tabarca					
Primavera	67.044	24.201	117	3,97	0,58
Estiu	97.648	75.984	84	3,89	0,61

En la figura 4.14 es representen les abundàncies per a cada localitat i estació; ací destaquem la variabilitat (barres de error) que té la localitat de San Gabriel. Aquestes diferències tan elevades en el mostreig d'estiu són degudes a la variabilitat existent entre les abundàncies de cada rèplica, amb un valor mínim de 1.186.567 cèl·lules per litre i un màxim de 14.331.276 cèl·lules per litre. Al mostreig d'estiu, el tàxon dominant ha segut *Skeletonema costatum complex*, tàxon que pertany al grup de les diatomees (figura 4.15). Actualment, *Skeletonema* està compost per un conjunt d'11 espècies (Yamada et al 2014), la determinació al màxim nivell taxonòmic sols pot ser feta amb tècniques de microscòpia electrònica i tècniques moleculars.

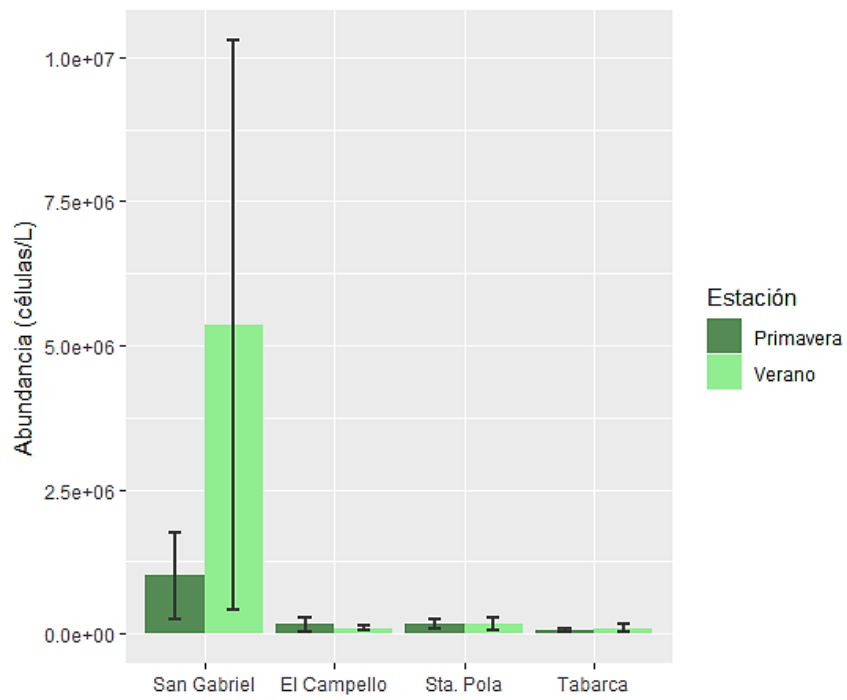


Figura 4.14: Valors dels paràmetres estructurals de les comunitats fitoplanctòniques per a les estacions de primavera i estiu.

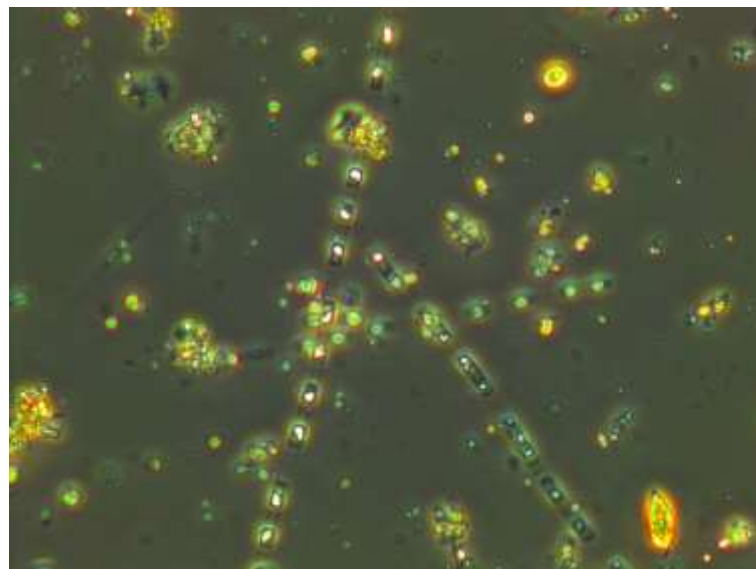


Figura 4.15: *Skeletonema costatum* complex.

Per a la riquesa específica (S), San Gabriel té uns valors lleugerament inferiors a la resta de localitats en ambdues estacions, amb 103 tàxons observats en primavera i 71 en estiu (figura 4.15). El Campello, per el contrari, és la localitat amb un major número de tàxons observats en ambdues estacions mostrejades, amb 138 tàxons detectats en primavera i 87 en estiu. Santa Pola i Tabarca presenten uns valors molt similars en aquest paràmetre a les dues estacions mostrejades, amb màxims de 110 tàxons en Santa Pola i 117 en Tabarca, i uns mínims en estiu de 84 tàxons a les dues localitats.

L'índex de Diversitat de Shannon- Wiener (H') ens indica valors alts per a El Campello, Santa Pola i Tabarca, tant a la primavera com a l'estiu, per damunt dels 3 bits per individu, amb un màxim de 4,17 bits per individu en El Campello a l'estiu i un mínim de 3,31 també en aquesta localitat en primavera (figura 4.16).

La excepció la trobem a San Gabriel, on els valors són de 3,59 bits per individu en primavera, com a la resta de localitats, però cauen dràsticament a l'estiu, on el valor de diversitat és de sols 1,16 bits per individu (figura 4.15). Aquest valor baix fa referència a la dominància de uns pocs tàxons, en especial de la diatomea *Skeletonema costatum complex*, amb un valor de abundància de 4.466.036 cèl·lules per litre.

Per últim, tenim l'índex de Pielou (J'), que ens indica la dominància o equitat dels tàxons observats en les diferents mostres. A l'igual que l'índex de Diversitat (H'), aquest índex presenta valors molt similars en totes les localitats a excepció de San Gabriel, localitat que presenta el valor més baix de tot l'estudi amb un valor de 0,19 i que correspon a la estació d'estiu (figura 4.16). Aquest valor el provoca la dominància absoluta de la diatomea *Skeletonema costatum complex*, que presenta un valor de representació superior al 83% per a la comunitat en estiu, el que el fa tàxon dominador de la comunitat per excel·lència.

A la resta de localitats, els valors d'aquest índex en primavera oscil·len entre 0,47 i 0,58, mentre que en estiu els valors augmenten lleugerament fins a arribar a una forquilla entre 0,61 i 0,65. Aquests valors ens indiquen que les comunitats estan ben estructurades, malgrat que varius tàxons presenten valors superiors a la resta, com poden ser els casos del gènere *Pseudo-nitzschia*, *Cylindrotheca closterium*, *Merismopedia*, *Bacteriastrum delicatulum*, o els nanoflagelats..



Figura 4.16: Valors dels paràmetres estructurals de les comunitats fitoplanctòniques per a les estacions de primavera i estiu.

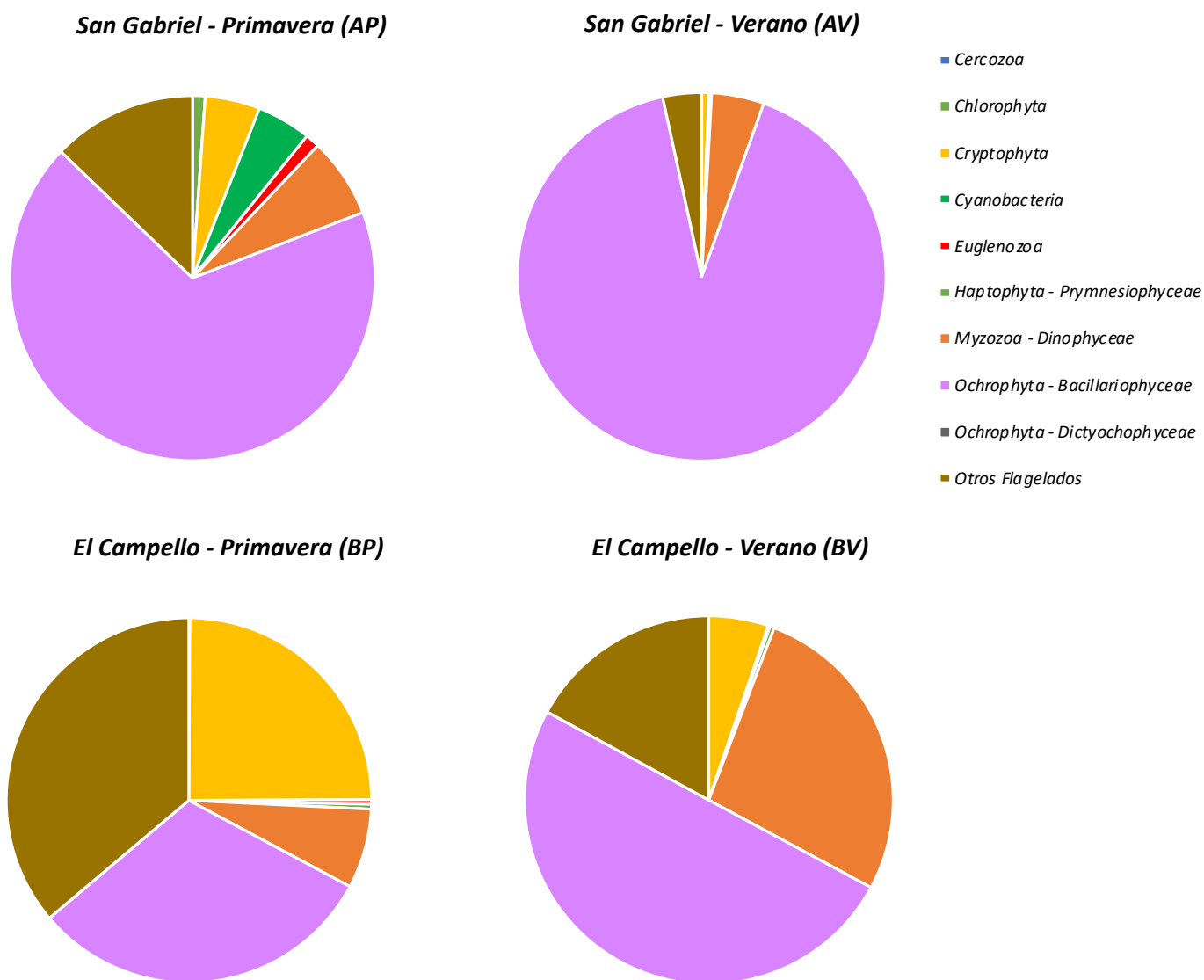


Figura 4.17: Composició de les comunitat fitoplanctòniques per a les localitats de San Gabriel i El Campello en primavera (P) i estiu (V).

En la figura 4.17 s'observa com les diatomees (Filo Ochrophyta, Classe Bacillariophyceae) dominen la comunitat en San Gabriel, tant en primavera com en estiu, amb valors de representació del 68% en primavera que puja fins el 91,12% de la comunitat a l'estiu. Aquesta dominància quasi absoluta a l'estiu és deguda a la presència de la diatomea *Skeletonema costatum complex*, que arriba a representar més del 83 % de la comunitat, mentre que en la estació de primavera el gènere dominant d'aquest grup fou el gènere *Pseudo-nitzschia*, amb valors de representació pròxims al 47 %.

En la localitat de El Campello les diatomees dominen la comunitat en estiu, amb un 50,07 % i redueixen la seva representació en primavera al 31,01 %, compartint dominància amb els Nanoflagelats amb una representació del 36,10.

Els dinoflagel·lats (Filo Myzozoa, Classe Dinophyceae) són un grup habitual de les comunitats litorals i la seva presència és variada. En la localitat de San Gabriel tenen una representació del 7,09 % i del 4,61 % per a primavera i estiu respectivament. En la localitat de El Campello aquest grup té una representació similar a San Gabriel en la estació de primavera, amb un 7,06 %, mentre que a l'estiu la representació puja fins el 27,11 % ocupant el segon lloc en importància de la comunitat.

La resta de grups taxonòmics en les comunitats de fitoplàncton de San Gabriel i El Campello, com són les criptofícies (Filo Cryptophyta), les cianobacteris (Filo Cyanobacteria) o els euglenòfits (Filo Euglenozoa) tenen valors de representació baixos, no superant en la majoria dels casos el 3 % de representació, en especial en la localitat de San Gabriel en estiu, on aquests grups tenen representacions testimoniales que no arriben a l'1 % de representació.

En la figura 4.18 es presenta la estructura de la comunitat de fitoplàncton per a les localitats de Santa Pola i Tabarca, tant per a la estació de primavera com per a la d'estiu. Destaca la comunitat existent en Santa Pola, on les cianobacteris tenen una presència important tant en primavera com en estiu amb valors del 25,91 i del 37,69 % respectivament. En Santa Pola, el gènere de cianobacteri amb una major abundància és *Merismopedia*, un gènere colonial amb cèl·lules menudes que arriba a representar el 34,81% de la comunitat en estiu. Aquest grup taxonòmic sols es presenta a Tabarca de forma testimonial amb una representació inferior al 0,5 %.

Tant en Santa Pola com en Tabarca, les diatomees tenen un paper important, malgrat que en Santa Pola comparteixen dominància amb les cianobacteris, mentre que en Tabarca tenen valors de representació del 40,67 % en primavera arribant al 78,65 % en estiu.

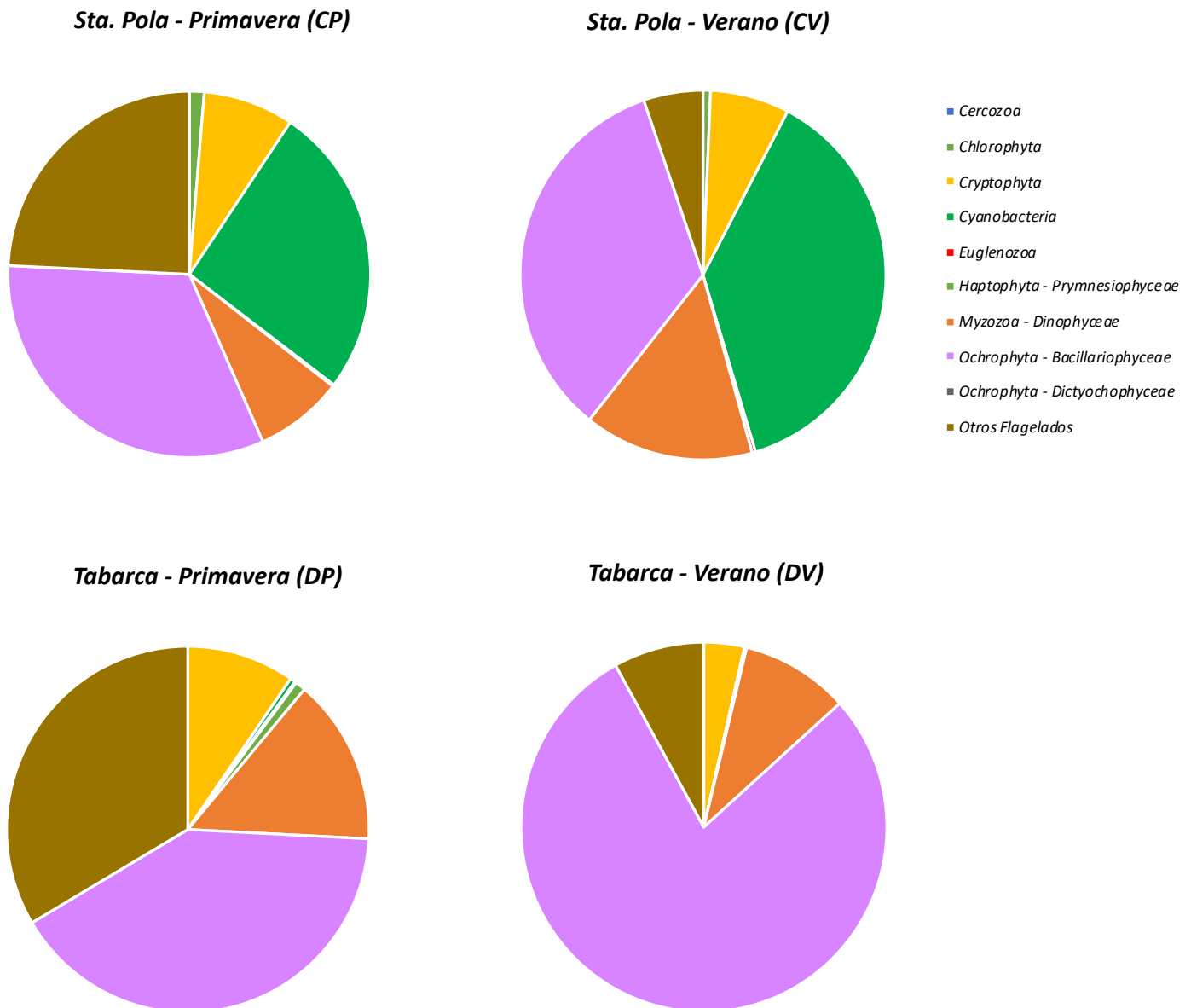


Figura 4.18: Composició de les comunitats fitoplanctòniques per a les localitats de San Gabriel i El Campello en primavera (P) i estiu (V).

De la resta de grups taxonòmics caldria destacar les criptofícies (Filo Cryptophyta) i el grup dels nanoflagelats, amb valors de representació del primer que oscil·len entre el 3,56 % i el 8,08 %, mentre que el segon, els nanoflagelats, tenen una representació important en primavera en ambdues localitats, arribant a representar el 24,23 % en la comunitat de primavera de Santa Pola i el 33,52 % en Tabarca per a la mateixa estació.

En la figura 4.19 podem observar l'anàlisi de components principals. Les dues dimensions representades expliquen el 89,9 % (Dim 1 = 68,1 % + Dim 2 = 21,8 %) de la variabilitat existent a les dades.

En l'eix X, és a dir, la dimensió 1, es veu clarament com la localitat A, San Gabriel, és molt diferent de la resta de localitats. A més, en aquesta dimensió s'observa d'una manera clara com totes les variables abiòtiques, és a dir, les espècies de nutrients analitzades, estan influïent en la separació de la comunitat de San Gabriel de la resta.

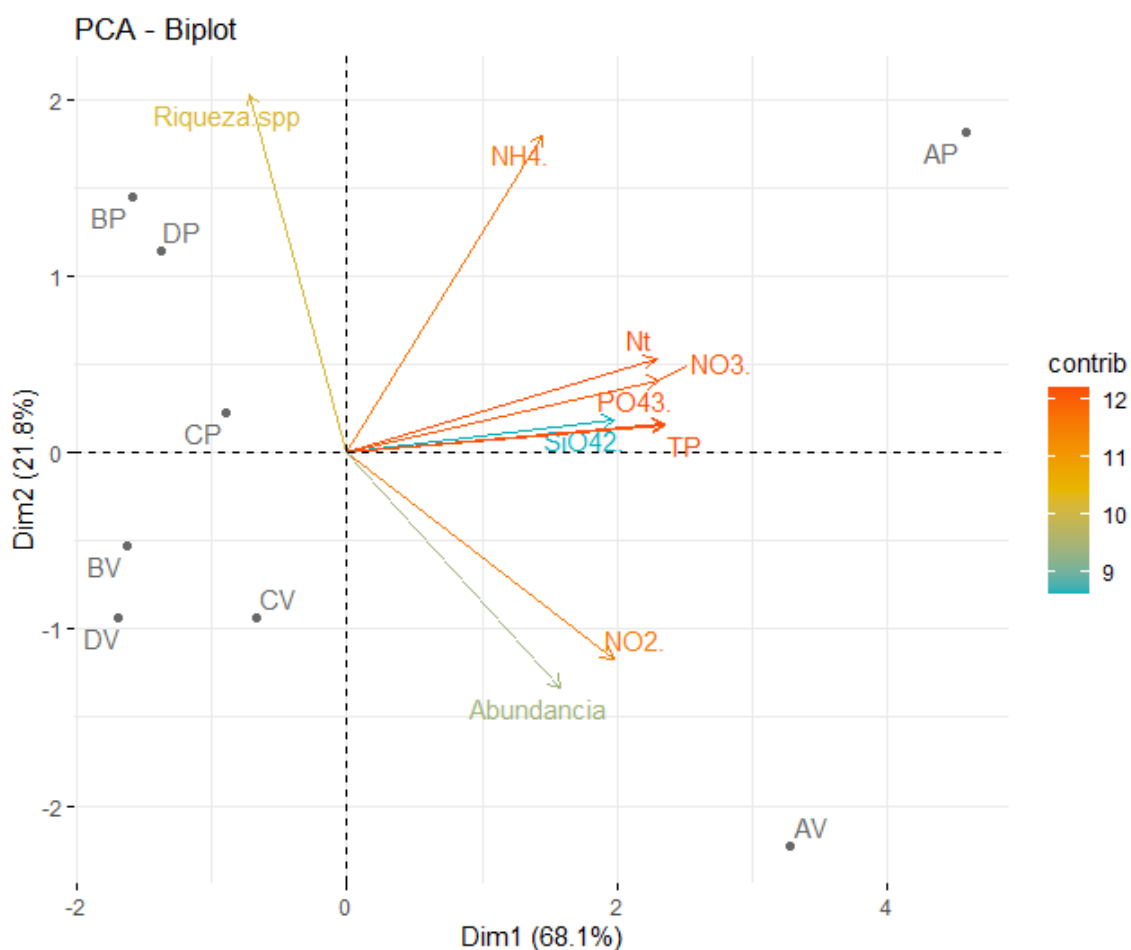


Figura 4.19: Anàlisi de Components Principals basat en els nutrients i els valors d'abundàncies i riquesa específica de cada localitat en cada estació mostrejada.

Respecte a la dimensió 2 són els nitrits (NO₂⁻) els que presenten una major influència sobre la comunitat fitoplanctònica de estiu en San Gabriel, així com és l'amoni (NH₄⁺) el que major influència té sobre les diferències que poden existir entre la comunitat de fitoplàncton de San Gabriel en primavera i la resta de mostres.

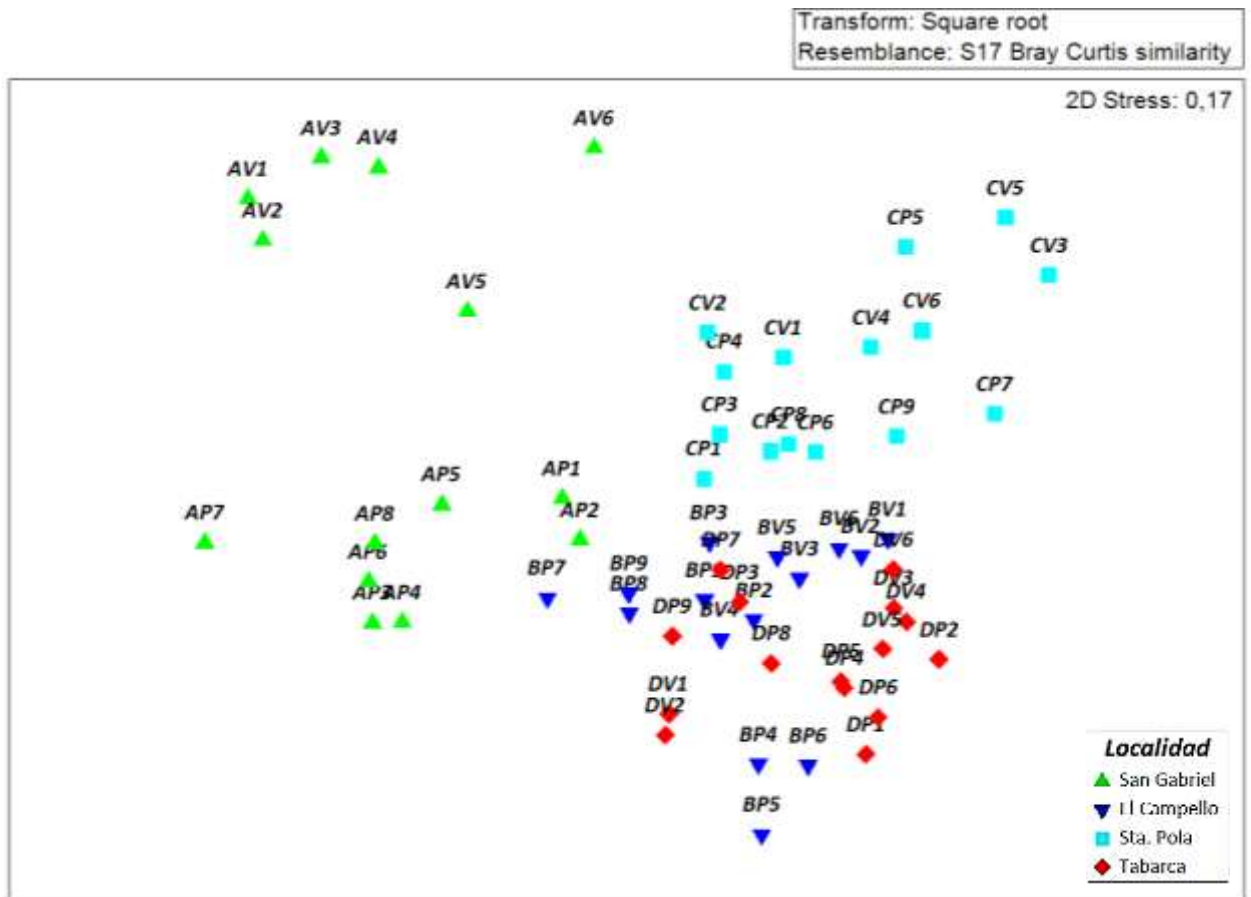


Figura 4.20: Anàlisi n-MDS dels valors d'abundàncies de cada rèplica per a cada localitat i per a cadascuna de les estacions mostrejades.

En el n-MDS (figura 4.20) s'observa com les mostres tenen una distribució característica, on les rèpliques de les localitats de San Gabriel (A – verd) i Santa Pola (C – blau clar) s'agrupen quedant ben separades de la resta. Si ens fixem en el factor estació, també s'agrupen les mostres de primavera i de estiu. Per el contrari, les mostres de les localitats d'El Campello (B – blau fosc) i Tabarca (D – roig) s'agrupen sense una clara delimitació ni entre localitats ni entre estacions.

5. Discussió

Els resultats indiquen que els isòtops estables permeten detectar indicis de eutrofització sobre distints grups biològics. Les localitats amb major influència antròpica presenten una major quantitat de nitrogen que a més es troba enriquida amb N15. Aquests resultats mostren la capacitat de traçabilitat d'un impacte mitjançant la composició isotòpica (Li et al. 2016; Mancinelli and Vizzini 2015).

En el cas del fitoplàncton, els resultats mostraren una clara diferència entre San Gabriel, com la zona amb major proporció de $\delta^{15}\text{N}$, en contraposició amb Tabarca, indicant que es tracta de la localitat amb menor influència antròpica. La ràpida assimilació de nutrients per part del fitoplàncton permet identificar la influència d'un contaminant a curt termini, i per tant, que la influència del vessament és mesurable en el moment del mostreig.

Les similituds entre Santa Pola i el Campello en els anàlisis de fitoplàncton poden explicar-se al tractar-se de medis de característiques litorals similars. Els dos es troben prop d'una zona urbanitzada i, a pesar de que no existeix un focus de contaminació explícit com és el cas de San Gabriel, sí que poden trobar-se sota la influència del desenvolupament antròpic de la línia de costa (Li et al. 2016). Però aquesta similitud és molt menor en els anàlisis de *P. oceanica*, indicant que la contaminació en la zona de Campello es menor i no es detecta als ecosistemes bentònics i possiblement és de caràcter més puntual.

Les dades del anàlisi d'isòtops estables en *P. oceanica* ens mostra que el rizoma actua com a reservori de isòtops pesats, especialment de N15. Aquest fet pot ajudar a determinar l'efecte acumulatiu d'un vessament sobre la praderia encara que no arribe a concentracions excessivament altes. Malgrat que la principal diferència s'ha trobat en el N15, possiblement el C13 també podria ajudar a discriminar l'origen de la font de contaminació (Lepoint, Dauby, and Gobert 2004).

L'anàlisi d'isòtops estables és una tècnica prometedora per a aconseguir discriminar les fonts d'impacte que afecten a un determinat ecosistema, especialment en el cas les praderies de *P. oceanica*. Prenent mostres directes dels vessaments de depuradores, aigües del port, rius, etc. es podria correlacionar la marca isotòpica present en els organismes vius amb la de eixes fonts (Anderson and Fourqurean 2003; Viana and Bode 2015). Amb eixa informació es podria determinar quins impactes són els que realment afecten a l'ecosistema i ajudar a enfocar la gestió sobre ells. Les praderies de fanerògames són ecosistemes altament

productius i rellevants en el medi litoral, però a l'hora són vulnerables als impactes d'origen antròpic. A pesar de que les mesures que es prenen per a la seva protecció es basen normalment en la avaluació de fonts concretes d'impacte en lloc d'estudiar les sinergies de diversos focus de estrès. En el medi urbà litoral poden superposar-se distintes activitats (aigües residuals, obres portuàries, agricultura, vessaments de salmorra, etc.) i és vital per a una correcta gestió i protecció d'aquests ecosistemes, l'anàlisi conjunt de tots els factors d'estrès que coexisteixen en la mateixa zona (Griffiths, Connolly, and Brown 2020).

Existeix una correlació destacable entre la aparició d'espècies químiques de nutrients de caràcter antròpic i la comunitat fitoplanctònica. Aquesta influència directa i la ràpida resposta de aquest tipus de organismes, fa que la comunitat microalgal marina siga un bon bioindicador per a avaluar la presència de eixos compostos. Tots els resultats indiquen diferències molt importants entre la localitat de San Gabriel i la resta de localitats estudiades, tant a nivell de la comunitat de fitoplàncton com de la composició de espècies químiques de nutrients o la composició d'isòtops estables. Aquestes diferències són degudes principalment a la presència de l'emissari submarí de la EDAR del Rincón de León, que proporciona un aportació constant d'espècies químiques de nutrients que són aprofitades per la comunitat de fitoplàncton a l'hora que es veu afavorida per les condicions oceanogràfiques existents en la zona de estudi, en especial el baix hidrodinamisme.

La localitat de San Gabriel presenta els valors màxims de abundàncies cel·lulars, tant en primavera com en estiu, amb valors que oscil·len entre 316.269 i 14.331.276 cèl·lules per litre. En la localitat de San Gabriel existeix una elevada variabilitat en el paràmetre de abundància cel·lular entre rèpliques. La variabilitat existent entre rèpliques és deguda al tipus d'organisme dominant de la comunitat, la diatomea *Skeletonema costatum* complex, que es caracteritza per tindre una reduïda mida cel·lular i formar cadenes amb un elevat número de cèl·lules. *Skeletonema costatum* complex és un tàxon considerat com espècie nociva per ser precursor de situacions de Proliferacions Algals Nocives (PANs) amb efectes sobre el medi marí com una elevada producció de biomassa microalgal, augment en la terbolesa en la columna d'aigua o canvis en la coloració de la massa d'aigua, o el descens en la biodiversitat marina sobre tot en espècies sèssils del fons marí com macroalgues i fanerògames marines, entre altres.

En les localitats de San Gabriel, El Campello i Tabarca, el grup taxonòmic dominant de les comunitats estudiades són les diatomees (Filo Ochrophyta, Classe Bacillariophyceae). En la localitat de Santa Pola destaca el grup taxonòmic de les cianobacteris (Filo Cyanobacteria), amb

el gènere *Merismopedia* com representant principal d'aquest grup. Les cianobacteris són organismes que s'adapten millor a ambients amb salinitats baixes i amb concentracions mitges o altes d'espècies nitrogenades.

Santa Pola presenta valors elevats de Nitrits (NO_2^-), tant en primavera com en estiu, el que ens fa pensar que existeix una intrusió difusa de nutrients procedents dels camps de conreu i de la desembocadura del riu Segura. Es necessari un estudi en profunditat en la localitat de Santa Pola, augmentant la superfície d' estudi, per a caracteritzar totes les possibles entrades de nutrients existents en l'àrea d'estudi.

L'anàlisi estacional ha revelat un comportament similar en totes les estacions en quant a paràmetres biològics com la riquesa i la abundància de organismes. Açò ressalta la importància d'evitar la pseudorreplicació temporal a l'estudiar el fitoplàncton, degut a que és un grup molt sensible als canvis ambientals i altament dinàmic, tant en la escala espacial como en la temporal.

6. Conclusions

Els resultats indiquen un gradient de contaminació entre les localitats estudiades amb valors màxims en San Gabriel i mínims en Tabarca. En San Gabriel s'observen valors màxims de nutrients en la columna d'aigua així com en els compartiments biològics analitzats, major proporció de $\delta^{15}\text{N}$, majors abundàncies de fitoplàncton degut a la proliferació d'algunes espècies i menor riquesa i diversitat. Aquests resultats es deuen, sens dubte, a la entrada de nutrients que suposa el vessament de la EDAR de Rincón de León en un ambient protegit, particularment des de l'última ampliació del port d'Alacant. La següent localitat en influència antròpica és Santa Pola que, per a la majoria de paràmetres relacionats amb la eutrofització, ocupa el segon lloc. En aquest cas la font d'eutrofització està menys clara però podria relacionar-se a la proximitat de la desembocadura del riu Segura i de la antiga desembocadura del riu Vinalopó que drenen nutrients d'origen agrícola. Entre les localitats considerades controls en aquest estudi la estació costera d'El Campello té una major influència antròpica en comparació amb la estació situada en la illa de Tabarca que és la més allunyada de nuclis de població d'importància.

7. Bibliografía:

- Aguilar Escribano, Javier (2016): Episodios de Floraciones Algales Nocivas (FAN) en la bahía de Alicante (SE Península Ibérica). Presentado en la sesión de Posters del V Simposio Internacional de Ciencias del Mar. Alicante, junio 2016.
- Anderson, W. T., and J. W. Fourqurean. 2003. "Intra- and Interannual Variability in Seagrass Carbon and Nitrogen Stable Isotopes from South Florida, a Preliminary Study." *Organic Geochemistry* 34 (2): 185–94. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(02\)00161-4](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(02)00161-4).
- Arhonditsis, G., Karydis, M., Tsirtsis, G., 2003: Analysis of Phytoplankton Community Structure Using Similarity Indices: A New Methodology for Discriminating Among Eutrophication Levels in Coastal Marine Ecosystems. *Environmental Management* Vol. 31, 619-632.
- Balkis, N., 2008: Seasonal variations of microphytoplankton assemblages and environmental variables in the coastal zone of Bozcaada Island in the Aegean Sea (NE Mediterranean Sea). *Microphytoplankton and environmental variables of Bozcaada Island. Aquat Ecol.*
- Bérard-Therriault, L., Poulin, M. et Bosseé, L, (1999): Guide d'identification du phytoplankton marin de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent incluant également certains protozoaires. *publ. spéc. can. sci. halieut. aquat.* 128. 387 pp.
- Chrétiennot-Dinet, M-J., (1990): Chlorarachniophycées, Chlorophycées, Chrysophycées, Cryptophycées, Euglenophycées, Eustigmatophycées, Prasinophycées, Prymnésiophycées, Rhodophycées et Tribophycées. *Atlas du phytoplancton marin. Vol III, 261 pp.* Paris. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique.
- Delgado, M., Fortuño, J.M., 1991: Atlas de fitoplancton del Mar Mediterráneo. *Sci. Mar.* 55 (Supl.1): 1-133.
- Fernandez, A.M., 2009: La pesquería artesanal de Santa Pola (SE de la Península Ibérica). Identificación de táticas de pesca i estimación de índices de abundancia. Tesis Doctoral
- Fry, Brian. 2006. *Stable Isotope Ecology* (Book). Springer. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/0-387-33745-8>.
- Gomis, C., 1992: El fitoplancton de El Campello (Provincia de Alicante). Distribución espacio-temporal. Tesis Doctoral.
- Griffiths, Laura L., Rod M. Connolly, and Christopher J. Brown. 2020. "Critical Gaps in Seagrass Protection Reveal the Need to Address Multiple Pressures and Cumulative Impacts." *Ocean and Coastal Management* 183 (April 2019). <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2019.104946>.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2020. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>; searched on 17 November 2020.
- Hallegraeff, G.M., Anderson, D.M., Cembella, A.D. (eds) 2004. *Manual on harmful marine microalgae, - Monographs on oceanographic methodology 11, UNESCO, Paris.*
- Harmful Plankton Project, 2006. *Guide to Harmful Phytoplankton: Gymnodinium aureolum* (Hulbert 1957) G. Hansen, comb. Nov. DJS Montagnes, University of Liverpool.
- Horner, R.A., 2002: *A Taxonomic Guide to Some Common Marine Phytoplankton*. Biopress Limited. pp 195.

- Intergovernmental Oceanographic Commission of ©UNESCO. 2010. Karlson, B., Cusack, C. and Bresnan, E. (editors). *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*. Paris, UNESCO. (IOC Manuals and Guides, no. 55.) (IOC/2010/MG/55), 110 pages. (English only) <http://ioc-unesco.org/hab>.
- K.R. Clarke, R.N. Gorley *PRIMER V6: User Manual/Tutorial PRIMER-E*, Plymouth (2006), p. 192
- Lepoint, Gilles, Patrick Dauby, and Sylvie Gobert. 2004. "Applications of C and N Stable Isotopes to Ecological and Environmental Studies in Seagrass Ecosystems." *Marine Pollution Bulletin* 49 (11–12): 887–91. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.07.005>.
- Li, Yuan, Haibo Zhang, Chen Tu, Chuancheng Fu, Yong Xue, and Yongming Luo. 2016. "Sources and Fate of Organic Carbon and Nitrogen from Land to Ocean: Identified by Coupling Stable Isotopes with C/N Ratio." *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 181: 114–22. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.08.024>.
- Mancinelli, Giorgio, and Salvatrice Vizzini. 2015. "Assessing Anthropogenic Pressures on Coastal Marine Ecosystems Using Stable CNS Isotopes: State of the Art, Knowledge Gaps, and Community-Scale Perspectives." *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 156 (1): 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2014.11.030>.
- Massuti, M., Margalef, R., 1950: *Introducción al estudio del plancton marino*. (C.S.I.C). Sec. Biología Marina.
- Mompeàn, Carmen, Antonio Bode, Mikel Latasa, Bieito Fernández-Castro, Beatriz Mouriño-Carballido, and Xabier Irigoien. 2016. "The Influence of Nitrogen Inputs on Biomass and Trophic Structure of Ocean Plankton: A Study Using Biomass and Stable Isotope Size-Spectra." *Journal of Plankton Research* 38 (5): 1163–77. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbw052>.
- Nasrollahzadeh, H.S., Bin Din, Z., Foong, S.Y., Makhloogh, A., 2008: Trophic status of the Iranian Caspian Sea based on water quality parameters and phytoplankton diversity. *Continental Shelf Research* 28, 1153– 1165.
- Reguera, B., Alonso, R., Moreira, A., Méndez, S. 2011. *Guía para el diseño i puesta en marcha de un plan de seguimiento de microalgas productoras de toxinas*. COI de UNESCO i OIEA, Paris i Viena 2011. *Manuales i Guías de la COI*, 59.
- Ricard, M., 1987: *Diatomophycées*. Atlas du phytoplancton marin. Vol II, 297 pp. Paris. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique.
- Robinson, David. 2001. "Δ15N as an Integrator of the Nitrogen Cycle." *Trends in Ecology and Evolution* 16 (3): 153–62. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)02098-X](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)02098-X).
- RStudio Team (2020). *RStudio: Integrated Development for R*. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Sournia, A., 1986: *Cyanophycées, dityochophycées, dinophycées et raphidophycées*. Atlas du phytoplancton marin. Vol I, 219 pp. Paris. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique.
- Spatharis, S., Tsiirtsis, G., Danielidis, D.B., Do Chi, Tang, Mouillot, D., 2007: Effects of pulsed nutrient inputs on phytoplankton assemblage structure and blooms in an enclosed coastal area. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 73, 807-815.
- Tomas, C.R., 1997: *Identifying marine phytoplankton*. Academic Press, St. Diego.
- Underwood, A J. 1996. *Experiments in Ecology: Their Logical Design and Interpretation Using*

Analysis of Variance. Cambridge University Press.
<https://doi.org/10.1017/CBO9780511806407>.

Van Egmond HP, Van Apeldoorn ME & Speijers GJA., 2005. Biotoxinas Marinas: Estudio FAO: alimentación i nutrición. FAO.

Viana, Inés G., and Antonio Bode. 2015. "Variability in $\Delta^{15}\text{N}$ of Intertidal Brown Algae along a Salinity Gradient: Differential Impact of Nitrogen Sources." *Science of the Total Environment* 512–513: 167–76. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.019>.

WoRMS Editorial Board (2020). World Register of Marine Species. Available from <http://www.marinespecies.org> at VLIZ. Accessed 2020-11-17. doi:10.14284/170

ANEX I

METODOLOGIA DE ANÀLISI DE NUTRIENTS

ANÀLISI FOSFAT

Mètode: Es basa en una determinació colorimètrica dels orto-fosfats disolts en aigua per un sistema automatitzat amb un fluxe continu segmentat (CFA).

A partir del mètode descrit per Murphy i Riley (1962) determina els orto-fosfats que hi ha disolts en una mostra aquosa. Determinant el color blau format per la reacció dels orto-fosfats, l'ió molibdat i l'ió antimoni, reduït amb àcid ascòrbic en medi àcid pH<1. El complex blau de fosfo-molibdè resultant és detectat en l'interior d'un fotòmetre a 880 nm.

Referència: Methods of Seawater Analysis, K. Grasshoff, M. Ehrhardt, K. Kremling, second revised and extended edition, 1983

Instrument: Autoanalizador AA3 HR fabricat per Seal Analytical. Gasta una tècnica analítica de fluxe continu (CFA) basada en la segmentació del fluxe de mostra amb la injecció de bombolles d'aire inert amb determinació final per colorimetria.

Control de qualitat: basat en el Standard Methods i en les normes DIN / ISO Standards per a determinacions automàtiques de fosfat.

Mètode Seal Analytical: G-175-96 Rev.11 (Multitest MT13)

ISO per a CFA: 15681-12

Límit de detecció del mètode: 0,020 µM P-PO43-

Rang mínim de detecció: 0 to 6,5 µM P-PO43-

Precisió: 0,2%

Seguint procediment EPA pt.136, app. B (realitzat per Seal Analytical)

ANÀLISI SILICAT

Mètode: Es basa en una determinació colorimètrica dels silicats disolts en aigua per sistema automatitzat amb fluxe continu segmentat (CFA).

Partint del mètode descrit per Koroleff, F. (1971) la forma reduïda silico-molibdat, en solució àcida, passa en presència d'àcid ascòrbic a blau de molibdè. L'àcid oxàlic reacciona amb la mostra abans de ficar-la en contacte amb l'àcid ascòrbic per a minimitzar les possibles interferències provocades per els ions fosfat. Finalment el blau de molibdè és determinat per colorimetria a 820 nm.

Referència: Methods of Seawater Analysis, K. Grasshoff, M. Ehrhardt, K. Kremling, second revised and extended edition, 1983

Instrument: Autoanalizador AA3 HR fabricat per Seal Analytical. Gasta una tècnica analítica de fluxe continu (CFA) basada en la segmentació del fluxe de mostra amb la injecció de bombolles d'aire inert amb determinació final per colorimetria. L'instrument original es Technicon, i avui en dia Seal Analytical.

Control de qualitat: Basat en el Standard Methods i en les normes DIN / ISO Standards per a determinacions automàtiques de silicat.

Mètode Seal Analytical: G-177-96 Rev.11 (Multitest MT19).

ISO per a CFA: 16264

Límit de detecció del mètode: 0´016 µM Si

Rang mínim de detecció: 0 to 8´0 µM Si

Precisió: 0´5%

Seguint procediment EPA pt.136, app. B (realitzat per Seal Analytical)

ANÀLISI NITRIT

Mètode: Es basa en una determinació colorimètrica dels nitrats dissolts en aigua amb sistema automatitzat per fluxe continu segmentat (CFA).

Partint del mètode descrit per Shinn (1941) i adaptat per Bendschneider i Robinson (1952), els nitrats reaccionen, en medi àcid, amb sulfanilàmida formant una forma de compost diazo que s'uneix al NEDD donant lloc a un complex diazo de color vermellós que és proporcional a la quantitat de nitrat de la mostra i determinada finalment per colorimetria a 550 nm.

Referència: Methods of Seawater Analysis, K. Grasshoff, M. Ehrhardt, K. Kremling, second revised and extended edition, 1983

Instrument: Autoanализador AA3 HR fabricat per Seal Analytical. Gasta una tècnica analítica de fluxe continu (CFA) basada en la segmentació del fluxe de mostra amb la injecció de bombolles d'aire inert amb determinació final per colorimetria. L'instrument original era Technicon, i avui Seal Analytical.

Control de qualitat: Basat en el Standard Methods i en les normes DIN / ISO Standards per a determinacions automàtiques de nitrats. Mètode Seal Analytical: G-173-96 Rev.10 (Multitest MT18) ISO per a CFA: 13395. Participació ocasional en intercalibracions internacionals (Quasimeme).

Límit de detecció del mètode: 0,0015 µM N- NO₂-

Rang mínim de detecció: 0 to 0,3 µM N- NO₂-

Precisió: 0,2%

Seguint procediment EPA pt.136, app. B (realitzat per Seal Analytical)

ANÀLISI AMONI

Mètode. Es basa en una determinació fluorimètrica de l'amoni dissolt en aigua amb sistema automatitzat per fluxe continu segmentat (CFA).

Partint del mètode descrit per Kérouel and Aminot 1997 (Fluorometric determination of ammonia in sea and estuarine waters by direct segmented flow analysis. Marine Chemistry 57: 265-275). La mostra es fica en contacte amb l'Orto fenil aldehíd (OPA) a 75°C en presència del tampó borat i sodi sulfat per a formar espècies químiques fluorescents proporcionals a la concentració dels ions amoni. La fluorescència d'aquest

complexe resultant és mesurada excitant-lo a 370nm i registrant la emissió a 460nm.

Instruments: Autoanalizador AA3 HR fabricat per Seal Analytical (anteriorment Technicon) i Fluorímetre FP 2020 Plus de Jasco. Gasta una tècnica analítica de fluxe continu (CFA) basada en la segmentació del fluxe de mostra amb la injecció de bombolles d'aire inert amb determinació final per fluorimetria.

Control de qualitat: Basat en el Standard Methods i en les normes DIN / ISO Standards per a determinacions automàtiques d'amoni.

Mètode Seal Analytical: G-327-05 Rev.7 (Fluorimètric)

Límit de detecció del mètode: 0'003 µM N-NH₄⁺

Rang mínim de detecció: 0 to 5'0 µM N-NH₄⁺

Precisió: 0'3%

Seguint procediment EPA pt.136, app. B (realitzat per Seal Analytical)

NITROGEN TOTAL OXIDABLES (NO_xT)= NITRATS (NO₃⁻) + NITRITS (NO₂⁻)

Mètode. Es basa en una determinació colorimètrica dels nitrats reduïts a nitrits, amb sistema automatitzat per fluxe continu segmentat (CFA).

Aquest procediment automatitzat, desenvolupat per Grasshoff (1970), es basa en una reducció previa dels nitrats a nitrits al passar la mostra a través d'una columna reductora de coure-cadmi. Posteriorment, els nitrits totals de la mostra reaccionen, en medi àcid, amb sulfanilamida formant un compost diazo. Aquest s'uneix al N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride (NEDD) formant un complex de color vermellós que és proporcional a la quantitat de nitrit de la mostra i determinada finalment per colorimetria a 550 nm. La concentració de nitrats es calcula per la substracció entre les dues estimacions: "Nitrats+nitrits" menys "Nitrits".

Referència: Methods of Seawater Analysis, K. Grasshoff, M. Ehrhardt, K. Kremling, second revised and extended edition, 1983

Instrument: Autoanalizador AA3 HR fabricat per Seal Analytical. Gasta una tècnica analítica de fluxe continu (CFA) basada en la segmentació del fluxe de mostra amb la injecció de bombolles d'aire inert amb determinació final per colorimetria. L'instrument original es denominava Technicon, i ara Seal Analytical.

Control de qualitat: Basat en el Standard Methods i en les normes DIN / ISO Standards per a determinacions automàtiques de nitrats.

Mètode Seal Analytical: G-173-96 Rev.17 (Multitest MT19)

ISO per a CFA: 13395

Límit de detecció del mètode: 0,006 µM N -NO₃⁻

Rang mínim de detecció: 0 to 4,0 µM N -NO₃⁻

Precisió: 0,13%

Seguint procediment EPA pt.136, app. B (realitzat per Seal Analytical)

FÓSFOR TOTAL (TP) PER COLORIMETRIA I CFA

Métode: Determinació Fósfor Total (TP) colorimètrica per CFA. El mètode descrit per Koroleff (1977) per a una digestió amb UV, és adaptat per Seal Analytical a un sistema integrat de digester amb CFA (2008). La mostra passa per un procés previ i en continu de digestió de dues etapes en autoclave a 110°C i alta pressió (0,09 MPa). En la primera etapa s'afegeix un agent oxidant de persulfat alcali i, en segona etapa, s'afegeix un àcid inorgànic. Una volta digerida, el P es determina per colorimetria previa reacció amb molibdat i reducció amb àcid ascòrbic, de manera que el complex blau de molibdè final és detectat en l'interior de un fotòmetre a 800 nm.

Instrument: Autoanализador AA3 fabricat per Seal Analytical. Gasta una tècnica analítica de fluxe continu (CFA) basada en la segmentació del fluxe de mostra amb la injecció de bombolles d'aire inert amb determinació final per colorimetria. L'instrument original es denominava Technicon, i ara Seal Analytical. Aquest mètode requereix un digester de mostra Julabo.

Control de qualitat: Basat en el Standard Methods i en les normes DIN / ISO Standards per a determinacions automàtiques de Fósfor.

Métode Seal Analytical: G-394-08 Rev.1

Límit de detecció del mètode: 0,032 µM P

Rang mínim de detecció: 0 to 22,6 µM P

Precisió: 0,5%

Seguint procediment EPA pt.136, app. B (realitzat per Seal Analytical)