



## Ús d'isòtops estables per al seguiment de la eutrofització en masses d'aigua costaneres de la província d'Alacant



2021

Han intervingut en aquest informe:

José Luis Sánchez Lizaso (Coordinador)

Yolanda Fernández Torquemada

Fabio Blanco Murillo

Estela Carbonell Garzón

Federico Abad Guillén

Javier Aguilar Escribano

Mercedes Varela Diaz de Tuesta

Ivan Sola Maciá

## 1. Introducció general

Al darrer segle el desenvolupament demogràfic a les zones costaneres i estuàries ha produït com a conseqüència un increment de l'impacte sobre els ecosistemes en aquests hàbitats a escala mundial (Lotze et al., 2006). La diversitat de usos i serveis que s'obtenen de les zones costaneres du aparellat un ampli ventall de diferents pressions sobre les comunitats marines, donant lloc a efectes sinèrgics (Boesch, 2001; Crain et al., 2008).

Dels diferents impactes del ésser humà sobre el medi marí, la contaminació ambiental i la pèrdua de qualitat de les aigües, estan entre les principals amenaces per a la conservació dels ecosistemes. Per això, la determinació de l'origen i l'efecte dels contaminants presents al medi és crucial per a una correcta gestió i preservació de los ecosistemes. Així, una de les principals ferramentes que es poden fer servir és l'ús de bioindicadors que actuen com sentinelles, permetent detectar de forma precisa i precoç l'afecció d'un determinat agent en el medi (Bonanno et al., 2020).

*Cymodocea nodosa* és una fanerògama marina d'àmplia distribució a la Mediterrània, de creixement relativament ràpid i d'àmplia tolerància a estressors ambientals en comparació amb altres fanerògames marines (Perez et al., 1994), inclús davant sinèrgies entre aquests (Egea et al., 2018). Aquestes característiques converteixen a *C. nodosa* en un bon organisme model per a detectar la assimilació de contaminants en el medi marí (Bonanno et al., 2020; Bonanno & Borg, 2018; Marín-Guirao et al., 2005).



Figura 1: Praderia de *Cymodocea nodosa*

Per a avaluar l'estat i detectar l'efecte d'un possible impacte en un organisme bioindicador, és precis mesurar diversos descriptors tant a escala poblacional, como individual i inclús bioquímica o molecular (Martínez-Crego et al., 2008).

A més de conèixer els efectes d'un contaminant, és fonamental conèixer la seva procedència i contribució. És a dir, no només mesurar els efectes del desenvolupament sobre el medi, sinó també tenir la capacitat de traçar eixes fonts de contaminació (Kendall et al., 2007). Amb aquesta finalitat, el anàlisi d'isòtops estables pot presentar-se com una ferramenta de gran utilitat (Fry, 2006; Mancinelli & Vizzini, 2015).

En el medi marí, el anàlisi d'isòtops estables (AIE) s'utilitzen per a l'estudi de nivells tròfics, espècies invasores, dinàmica sedimentaria, nutrients, etc. Però, sobre tot per al anàlisi i la traçabilitat de contaminació química (Mancinelli & Vizzini, 2015).

La petjada isotòpica de  $\delta^{15}\text{N}$  i  $\delta^{13}\text{C}$  dels teixits vegetals pot permetre associar una font contaminant amb un productor primari receptor (Lepoint et al., 2004; Viana & Bode, 2015). En aquest context, la aplicació del AIE en praderies de fanerògames marines, pot permetre conèixer la influència d'un vessament d'origen antròpic sobre la praderia. (McClelland et al., 1997; McClelland & Valiela, 1998).

La zona d'estudi compren des del Sud del Cap de l'Horta (Alacant) fins el Cap Cervera (Torrevella). La zona ha sigut àmpliament estudiada per ser una regió amb una influència antròpica notable, tant en el plànol urbanístic, agrícola i saliner (Navarro-Pedreño et al., 2020). Aquest fet està afavorit per la influència fluvial del riu Vinalopó en El Pinet i per la desembocadura del Segura en el municipi de Guardamar. A pesar de que s'ha estudiat la possible dispersió dels vessaments en el medi marí (Romero Gil et al., 2020), l'efecte sobre els ecosistemes bentònics de la desembocadura del Segura encara són incerts. En previs estudis amb AIE, es va valorar la influencia de la contaminació dispersa de la zona sobre la comunitat fitoplanctònica i les praderies de *Posidonia oceanica*, mostrant una clara influència (Sánchez-Lizaso et al., 2020).

La hipòtesi inicial d'aquest estudi es basa en que la distància al focus de contaminació influirà en l'afecció sobre els principals descriptors de la praderia de *C. nodosa* i, a més, s'observarà una major acumulació d'isòtops procedents d'aquesta font en comparació amb estacions més allunyades.



Figura 2: Esquema de l'efecte de la contaminació en praderies de *C. nodosa*

Per a contrastar aquesta hipòtesi s'han establert els següents objectius específics:

- Determinar si existeix un efecte del gradient de contaminació sobre las praderies de *C. nodosa*.
- Analitzar les diferències entre la zona impactada i les localitats control en els principals descriptors biòtics i abiòtics.
- Analitzar quines variables contribueixen principalment a la diferenciació entre les zones impactades i les més conservades.
- Determinar si es produeix una major assimilació d'isòtops procedents de fonts contaminants.



## 2. Material i mètodes:

En Guardamar es va mostrejar en un gradient de tres localitats de major a menor distància a la desembocadura del riu Segura i al Vinalopó. Com a localitats control, s'establiren Albufereta, per ser una praderia desenvolupada malgrat a la influència d'activitats antròpiques, i Tabarca com a localitat lliure d'impactes per contaminació marina. En cadascuna d'aquestes localitats, es va mostrejar en 3 llocs distanciat entre sí uns 50 metres.

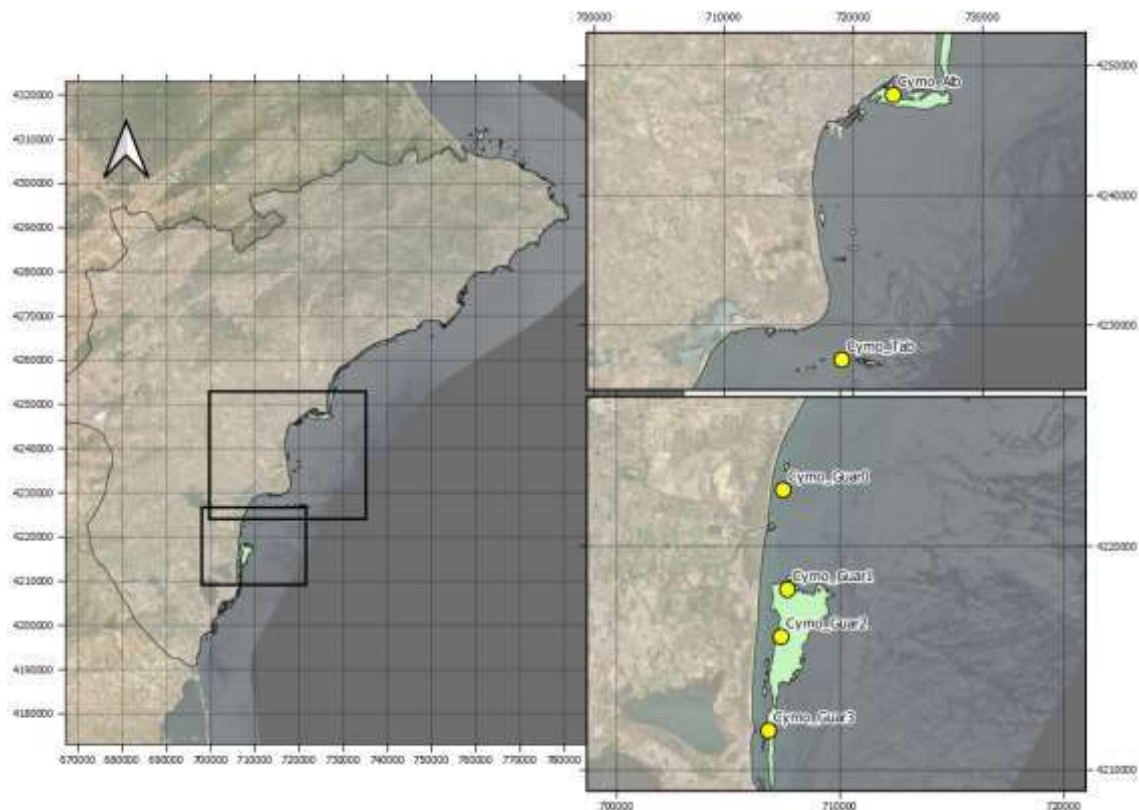


Figura 3: Mapa de les estacions de mostreig de *C. nodosa*. Datum: WGS 84 UTM 30N

Per a la determinació de l'estat general de la praderia, es mesuraren els descriptors a escala individual (fenologia) i poblacional (densitat, cobertura i biomassa) més emprades en estudis de fanerògames marines (Roca et al., 2016). Quant a la caracterització fisicoquímica del substrat, s'utilitzaren corers de sediment per a la caracterització del pH i potencial RedOx, així com el contingut en matèria orgànica i proporcions granulomètriques.

- Densitat i cobertura:

Per a mesurar la densitat s'utilitzà un quadrat de PVC, amb una dimensió de 20x20cm<sup>2</sup> i es va quantificar el número de feixos en la superfície (Figura 4). Aquest procediment es va replicar 3 vegades en cada lloc (n=45). La cobertura es va dur a terme mitjançant un quadrat de PVC de 1x1m<sup>2</sup>, estimant el percentatge de cobertura de la fanerògama sobre el fons. També es mesuraren 3 rèpliques per lloc i localitat (n=45).

- Biomassa i paràmetres morfològics

Emprant un quadrat metàl·lic de 22,5 x 22,5 cm<sup>2</sup> (Figura 4), es va extraure tota la biomassa corresponent a *C. nodosa* en aquesta superfície (fulles, rizoma i arrels). Aquest procediment es va realitzar una vegada en cada lloc i localitat (n=15). Una vegada al laboratori, es va separar la part superficial de la planta (epigea) de la part subterrània, així com els epífits assentats sobre les fulles i es va dessecar en la estufa. Després de 48 hores a 70°C, les mostres es van pesar en una balança de precisió Pioneer PX.

A més, en cada lloc es van agafar mostres de feixos de *C. nodosa* per a la mesura dels principals paràmetres morfològics: n<sup>o</sup> de fulles/feix, superfície foliar, necrosi (%) i herbivoria (%). La superfície foliar es va calcular mitjançant la mesura de longitud i amplària de les fulles, calculant així l'àrea total de cada feix. En el cas de la necrosi, es va quantificar el número de fulles amb marques de necrosi per feix. Pel que fa a la herbivoria, es va utilitzar una metodologia pareguda, calculant el percentatge de fulles que presentaven mossegades d'herbívors per cada feix.

Tots els processos explicats es van replicar per a cada feix, suposant un total de 10 rèpliques per lloc (n=150).

- Granulometria, matèria orgànica, pH i potencial RedOx

En cada lloc es va extraure un corer cilíndric de sediment de 4 cm de diàmetre i 25 cm de altura (Figura 4). El sediment arreplegat es va emmagatzemar en duquesses prèviament etiquetades i es traslladaren al laboratori. En aquest cas es van agafar 3 mostres per localitat (n= 15).

Per a l'anàlisi granulomètric es va preparar una columna de tamisos amb llum de malla de: 2mm, 0,5mm, 0,25mm i 0,063mm, corresponents a les proporcions més significatives del sediment: grava, arena grossa, arena mitjana, arena fina i fangs (Buchanan, 1984). S'afegiren 50 grams de pes sec de sediment a la columna de tamisos i es va utilitzar una tamisadora electromagnètica digital (IRIS FTL-0200).

Per a la determinació del percentatge de matèria orgànica en el sediment, es van ficar 5 grams de sediment sec en una mufla Hobersal HD-150 a 400°C durant 4 hores per a calcinar tota la porció de matèria orgànica i calcular el pes calcinat amb una microbalança de precisió Pioneer PX.

Per últim, la lectura del pH i el potencial Redox es va obtenir directament mitjançant sensors específics (CRISON pHmeter 507) immediatament després de la obtenció de les mostres.

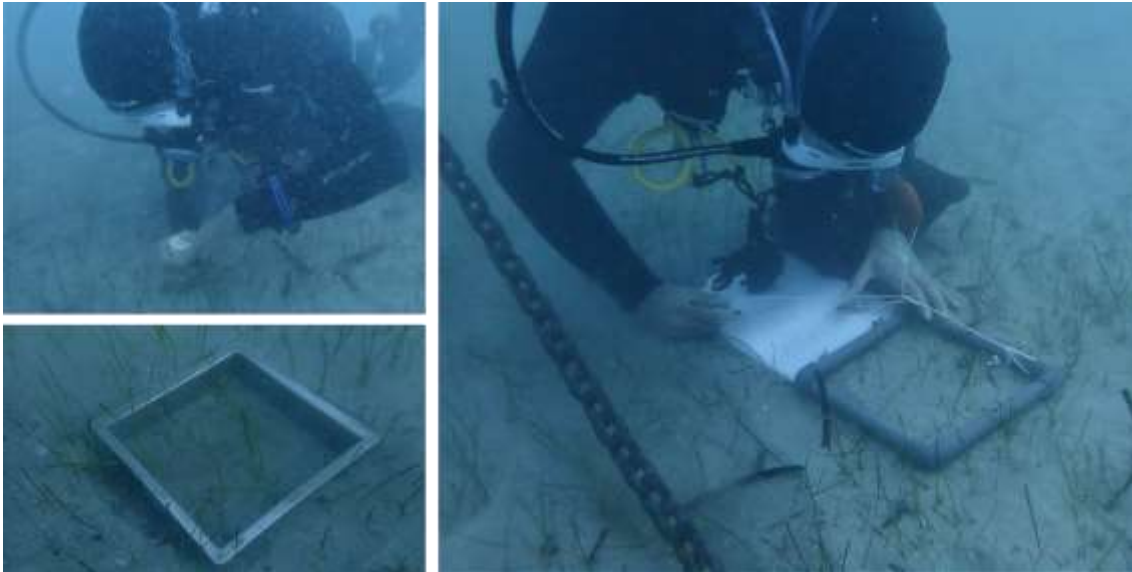


Figura 4: Mesurament de paràmetres físico-químics, biomassa i densitat en la praderia de *C. nodosa*.

#### - Anàlisi d'isòtops estables (AIE)

Per a cada estació es van arreplegar 3 feixos (n=18) per al AIE. Una vegada al laboratori, es van eliminar els epífits amb àcid i es rentaren les mostres amb aigua ultrapura. Les mostres es van liofilitzar a -58°C i 1.0mbar durant 24h (Figura 5) i després es va triturar mitjançant nitrogen líquid, deixant la matèria vegetal lo més polvoritzada possible (Viana & Bode 2015). Entre la preparació i l'enviament per a l'anàlisi d'isòtops estables, les mostres es van guardar en una estufa per a evitar la seua hidratació.

Per altra banda, s'agafaren mostres d'aigua procedent del Riu Segura i el Riu Vinalopó per a la determinació de fonts de contaminació, ja que són dos fluxos fluvials amb possible contaminació d'origen agrícola i amb una alta càrrega de matèria orgànica particulada. A més, es tracta d'una zona amb possible influència de nutrients procedents del pinso emprat en les instal·lacions aquícoles en mar obert de Guardamar. Estes mostres es van



filtrar mitjançant filtres de fibra de vidre de 0.45 µm. Més tard, els filtres es van dessecar a 60°C durant 48 hores i es va analitzar la composició isotòpica. En el cas del pinso, es va triturar amb un morter de àgata (Figura 5) i es va dessecar d'igual manera.



Figura 5: Liofilitzador per a mostres de *C. nodosa* (esq.) i morter de àgata per a la polvorització de les mostres destinades a l'anàlisi d'isòtops estables (dta.)

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

#### - Anàlisi estadístic

Les dades dels descriptors mesurats es van analitzar amb un anàlisi de la variància (ANOVA) per a determinar l'existència de diferències significatives en funció de la localitat. El model lineal utilitzat va ser:

$$X_{ijn} = \mu + L_i + S(L)_{j(i)} + \text{Residual}_{n(ij)}$$

La Localitat ( $L_i$ ) va ser analitzada com a factor fixe, i Lloc ( $S(L)_{j(i)}$ ) com a factor aleatori niat a localitat. Prèviament a l'anàlisi, es comprovaren els requisits de Normalitat (Test de Kolmogorov-Smirnov) i homogeneïtat de variància (test de Barlett), transformant les dades quan va ser necessari. Per a identificar en quins nivells del factor Localitat es trobaven les diferències es va recórrer al test de Tukey a posteriori del ANOVA.

Quant als descriptors de biomassa, pH i potencial RedOx es va ometre el factor Lloc, ja que només hi havia una rèplica en aquest nivell. Per això el model lineal en aquests descriptors va ser:

$$X_{ijn} = \mu + L_i + \text{Residual}_{n(i)}$$

Per últim, es va dur a terme un anàlisi de Components Principals (PCA) amb les variables biòtiques i abiòtiques mesurades per a la caracterització de les localitats amb la finalitat de calcular la contribució de cada descriptor a les diferències entre aquestes variables.

Per als diferents anàlisi es van emprar els software estadístic R i els paquets “sciplo” i “sjar”.

### 3. Resultats

#### 3.1. Densitat i cobertura de la praderia

Els resultats de ANOVA per a la cobertura de *C. nodosa* van mostrar diferències significatives entre les tres estacions de Guardamar i els dos controls, Albufereta i Tabarca (Tabla 1). Els valors van ser superiors en el cas dels controls, arribant al 60% (Figura 6).

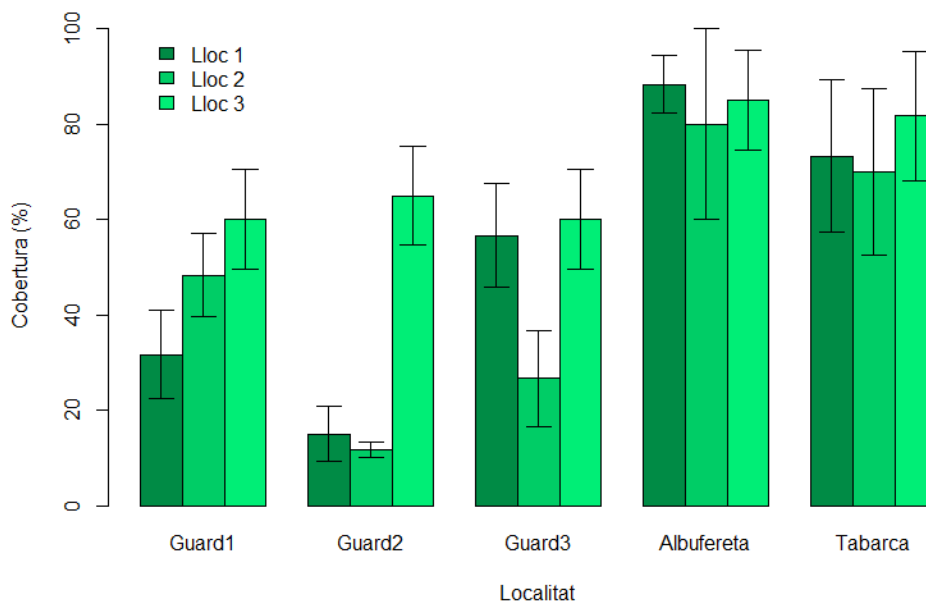


Figura 6: Valors del percentatge de cobertura de *C. nodosa*

Els valors de densitat també van permetre agrupar les estacions de Guardamar, ja que no es van trobar diferències entre elles (Tabla 1), oscil·lant entre 150 i 380 feixos/m<sup>2</sup>. Quant als controls, en Tabarca la densitat va ser significativament major que en la resta de

localitats (700 feixos/m<sup>2</sup>), i Albufereta va mostrar valors entre 350 i 600 feixos/m<sup>2</sup>, també superiors als de les localitats impactades (Figura 7).

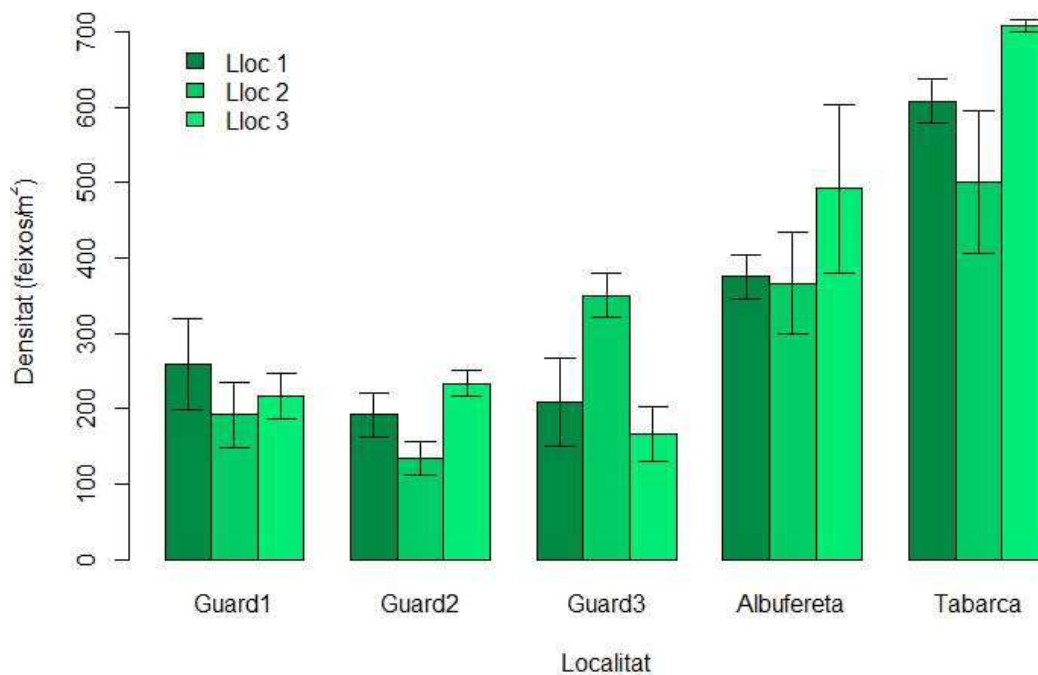


Figura 7: Valors de densitat de feixos per metre quadrat de *C. nodosa*

Tabla 1: Resultats del ANOVA dels descriptors de densitat i cobertura. Es representen els graus de llibertat (GL), la suma de quadrats (SC), els quadrats medis (CM), el valor de F i el p-valor. Valors estadísticament significatius quan p-valor<0.05

| Descriptor                       | Factors         | GL | SC      | CM     | F      | p-valor  |
|----------------------------------|-----------------|----|---------|--------|--------|----------|
| Cobertura (%)                    | Localitat       | 4  | 17714   | 4429   | 10.86  | 1.45E-05 |
|                                  | Localitat: Lloc | 10 | 8917    | 892    | 2.187  | 0.0478   |
|                                  | Residuals       | 30 | 12233   | 408    |        |          |
| Densitat(feixos/m <sup>2</sup> ) | Localitat       | 4  | 1103194 | 275799 | 33.096 | 1.32E-10 |
|                                  | Localitat: Lloc | 10 | 171806  | 17181  | 2.062  | 0.0615   |
|                                  | Residuals       | 30 | 250000  | 8333   |        |          |

### 3.2. Biomassa i fenologia

Quant a la biomassa total, ambdós controls (Albufereta i Tabarca) van reflectir pesos significativament superiors a les praderies impactades, destacant la estació Guar3 pels

valors més baixos d'aquesta mètrica (Figura 8). Per tant, aquest descriptor sí que va revelar diferències significatives entre les estacions de Guardamar, i els controls.

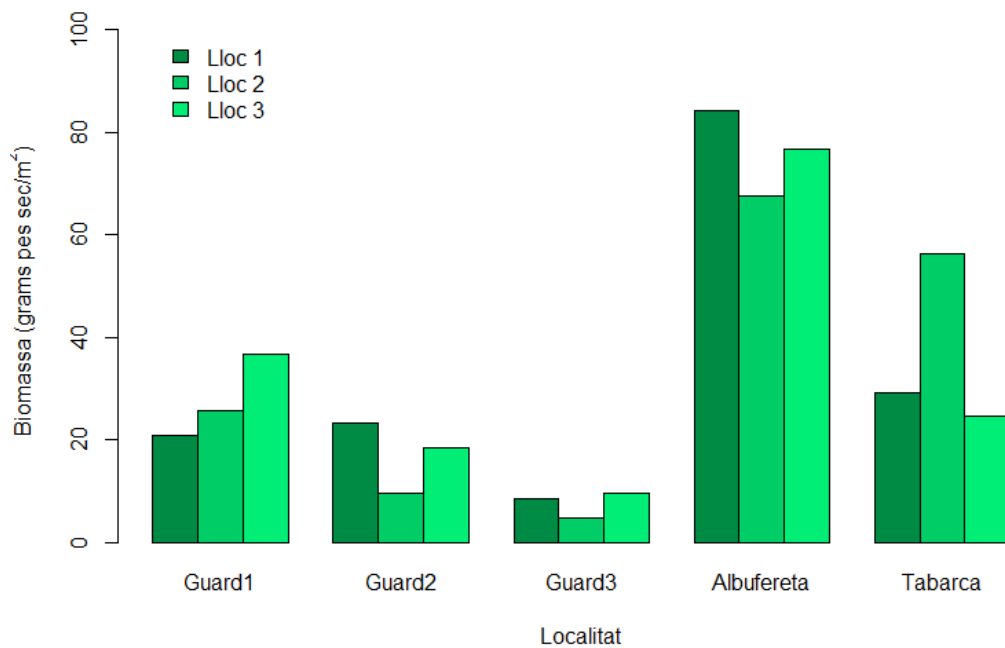


Figura 8: Valors de biomassa total per localitat

En el cas de la biomassa epigea, els resultats van ser similars. D'aquesta manera, els valors de les estacions de Guardamar van ser significativament menors als controls, molt similars entre ells (Figura 9).

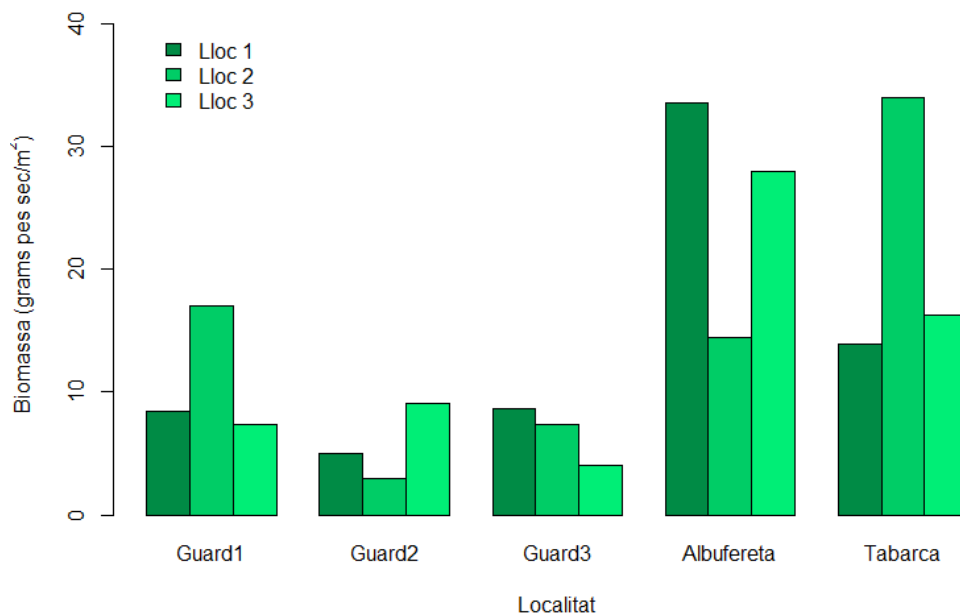


Figura 9: Valors de biomassa epigea per localitat

Pel que fa als valors de biomassa epifítica, Albufereta va presentar els valors significativament més elevats, mentre que en Tabarca es van obtenir valors baixos i similars a Guardamar.

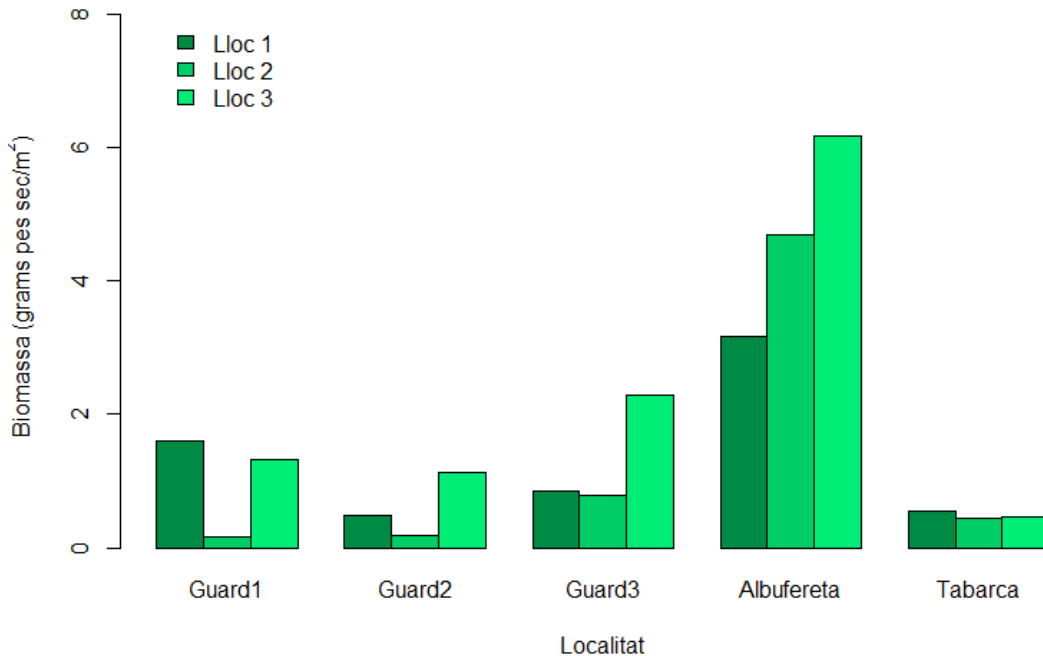


Figura 10: Valors de biomassa d'epífits per localitat.

Els resultats de la fenologia van ser diferents en funció del descriptor analitzat. En el cas del número de fulles per feix de *C. nodosa*, no es van trobar diferències significatives per a les diferents estacions. En tots els casos la majoria dels valors van ser d'entre una i dos fulles per feix (Figura 11).



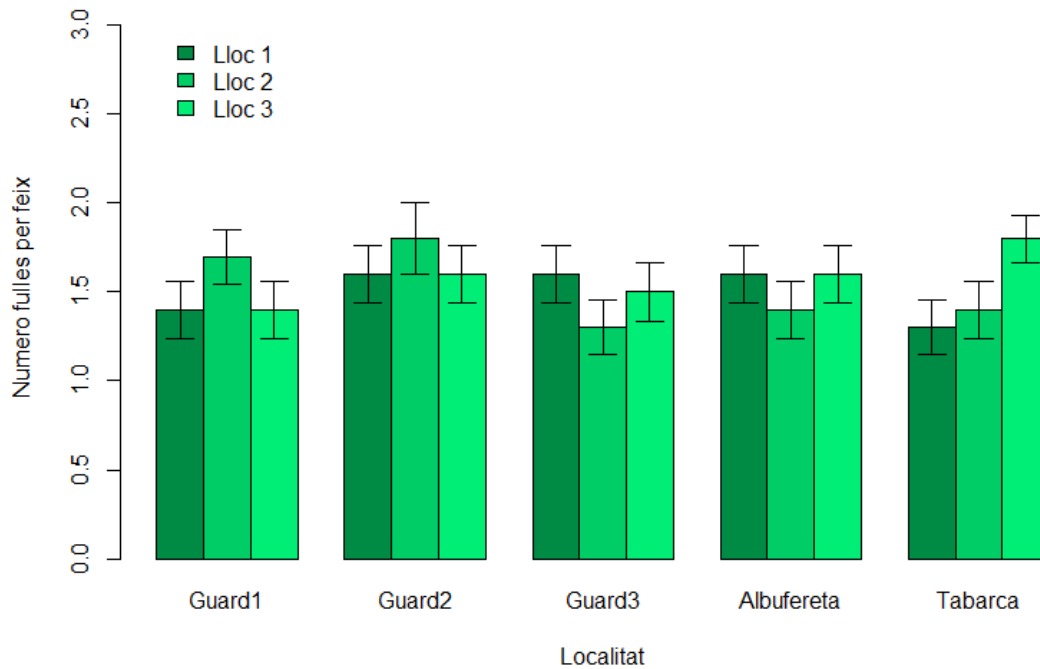


Figura 11: Valors del número de fulles per feix de *C. nodosa* en cada localitat.

La superfície foliar ( $\text{cm}^2/\text{feix}$ ) va presentar resultats homogenis dins de les localitats de Guardamar i una tendència inversa per a cada control. Per un costat, Albufereta es va diferenciar degut als valors significativament superiors ( $4\text{-}6 \text{ cm}^2$ ), mentre que Tabarca presentava una superfície foliar significativament inferior a la resta d'estacions ( $1\text{-}3 \text{ cm}^2$ ) (Figura 12).

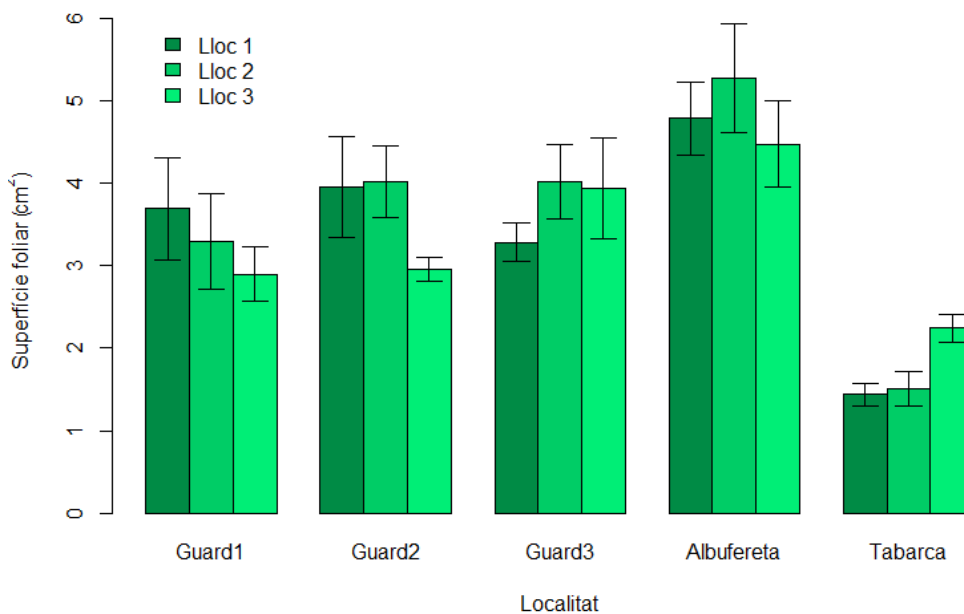
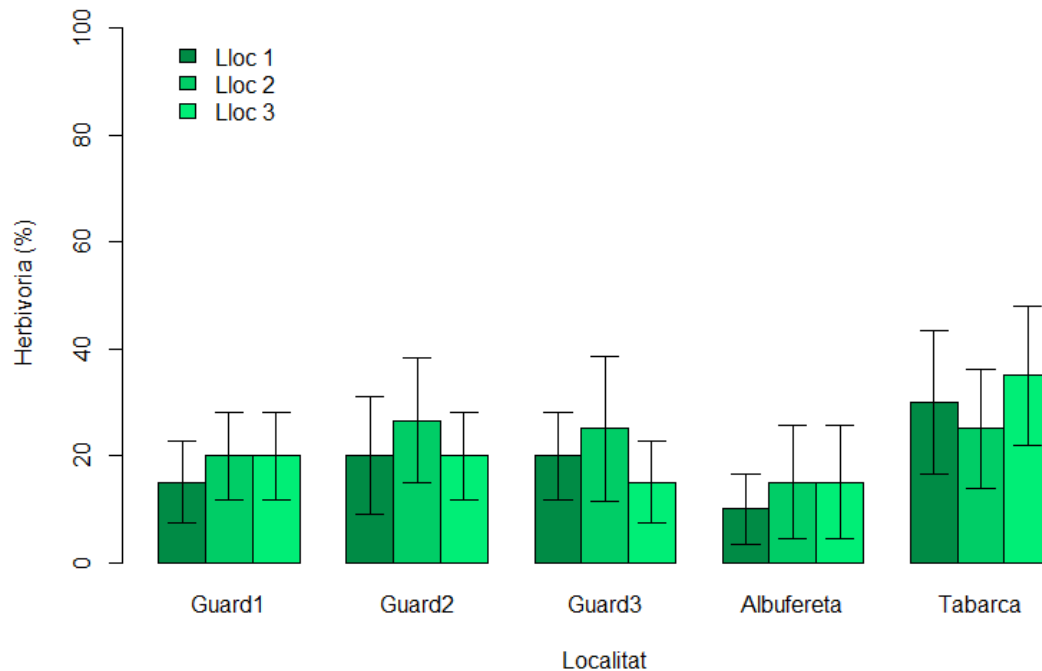


Figura 12: Valors de superfície foliar per localitat.

El percentatge d'herbivoria va reflectir valors propers al 20% en la majoria de les localitats i, malgrat l'absència de diferències significatives (Tabla 2), es pot apreciar que en Tabarca aquest descriptor presenta els valors més elevats respecte a la resta d'estacions (Figura 13).



*Figura 13: Valors de percentatge d'herbivoria per localitat.*

Quant al percentatge de fulles amb necrosi, les mostres de la praderia de Guardamar presenten homogeneïtat entre elles i amb el control d'Albufera, encara que aquest mostra valors més elevats (Figura 14). En Tabarca, els valors van ser significativament inferiors a la resta d'estacions (Tabla 2).

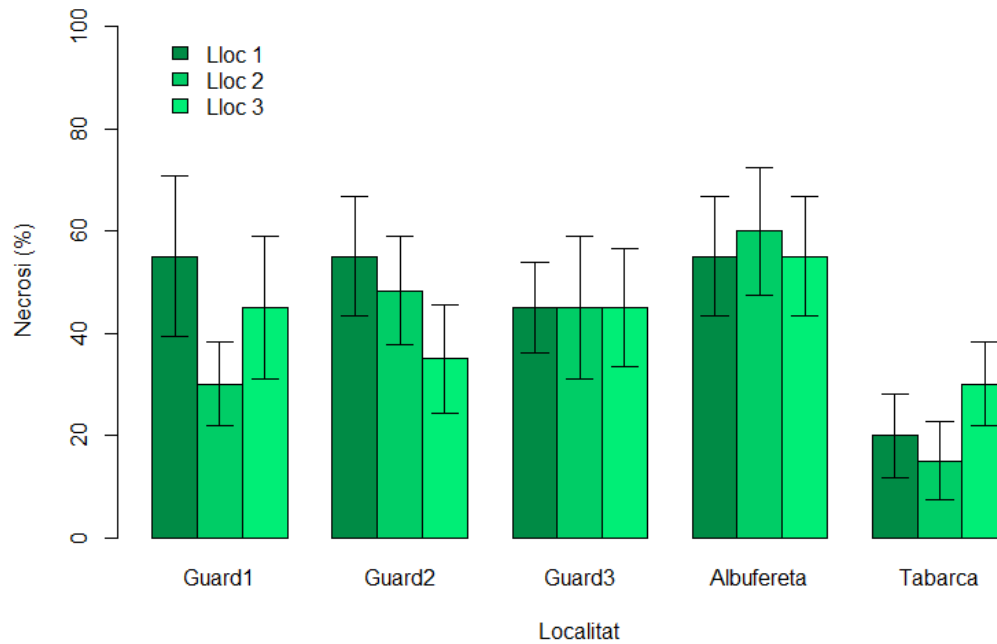


Figura 14: Valors del percentatge de fulles amb necrosi per localitat.

Tabla 2: Resultats del ANOVA dels descriptors de fenologia i biomassa. Es representen els graus de llibertat (GL), la suma de quadrats (SC), els quadrats medis (CM), els valors de F i el p-valor. Valors estadísticament significativament quan  $p\text{-valor} < 0.05$

| Descriptor         | Factors        | GL  | SC     | CM     | F      | p-valor  |
|--------------------|----------------|-----|--------|--------|--------|----------|
| Biomassa total     | Localitat      | 4   | 8400   | 2100.1 | 13.329 | 0.00707  |
|                    | Residuals      | 5   | 788    | 157.6  |        |          |
| Biomassa epigea    | Localitat      | 4   | 945.5  | 236.38 | 2.445  | 0.177    |
|                    | Residuals      | 5   | 483.4  | 96.68  |        |          |
| Biomassa d'epífits | Localitat      | 4   | 2.6706 | 0.6677 | 13.732 | 0.00662  |
|                    | Residuals      | 5   | 0.2431 | 0.0486 |        |          |
| Nº de fulles       | Localitat      | 4   | 0.73   | 0.1833 | 0.688  | 0.601    |
|                    | Localitat:Lloc | 5   | 1.3    | 0.26   | 0.976  | 0.435    |
|                    | Residuals      | 140 | 37.3   | 0.2664 |        |          |
| Superfície foliar  | Localitat      | 4   | 9.296  | 2.3239 | 24.385 | 2.52E-15 |
|                    | Localitat:Lloc | 5   | 0.658  | 0.1317 | 1.382  | 0.235    |
|                    | Residuals      | 140 | 13.342 | 0.0953 |        |          |
| Herbivoria         | Localitat      | 4   | 4472   | 1118   | 1.101  | 0.359    |
|                    | Localitat:Lloc | 5   | 500    | 100    | 0.098  | 0.992    |
|                    | Residuals      | 140 | 142154 | 1015   |        |          |
| Necrosi            | Localitat      | 4   | 19638  | 4910   | 3.943  | 0.0046   |

|                |     |        |      |       |        |
|----------------|-----|--------|------|-------|--------|
| Localitat:Lloc | 5   | 3000   | 600  | 0.482 | 0.7894 |
| Residuals      | 140 | 174333 | 1245 |       |        |

### 3.3. Paràmetres del sediment

Els paràmetres del sediment analitzats van presentar diferències entre les localitats malgrat que la seua composició va ser molt similar. En tots els casos les arenes fines (0.064-0.125 mm) van ser la fracció més abundant del sediment, amb valors significativament majors en Guard1 i Guard2 en comparació a Tabarca. Pel que fa a la Albufereta, la fracció fangosa va ser superior a la resta d'estacions, amb diferències significatives respecte a Guard1 i Guard3 (Tabla 3).

Les arenes mitjanes (>0.125mm) van destacar en Tabarca pels valors significativament superior a la resta d'estacions (Figura 15).

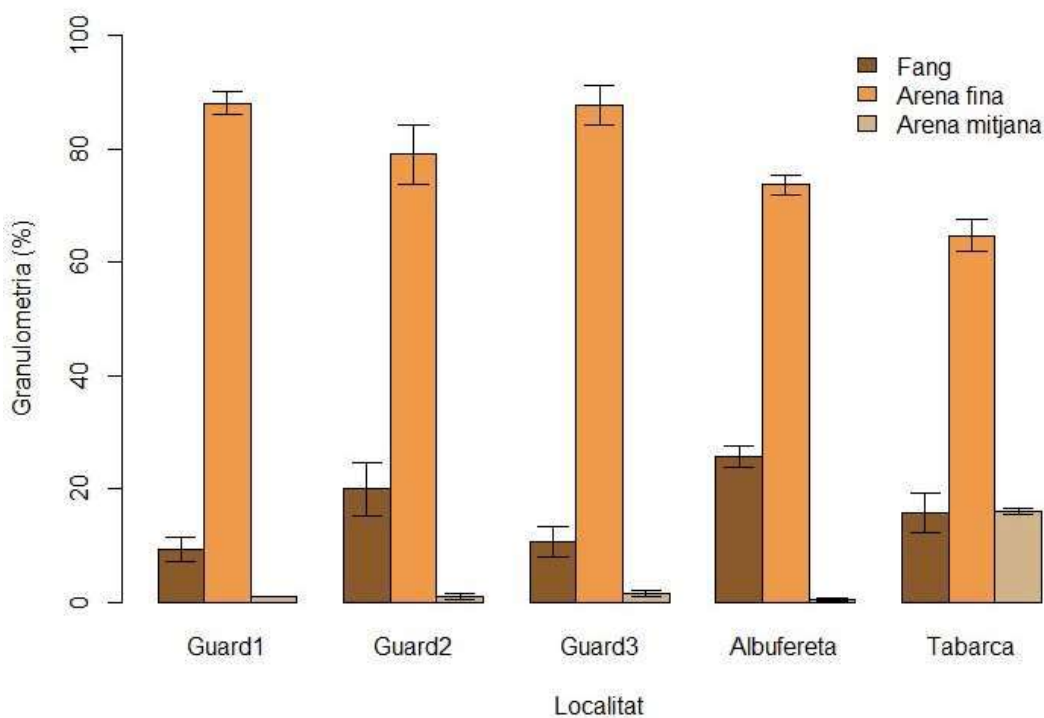


Figura 15: Proporcions granulomètriques del sediment de les praderies estudiades.

Per altra banda, el potencial RedOx va presentar valors negatius en quasi la totalitat del punts estudiats, a excepció dels llocs 1 i 2 de Guard1. El control de la Albufereta va presentar valors significativament més negatius que les altres estacions (Figura 16).

Mentre, en Guardamar i Tabarca els valors es van quedar per damunt del -200mV, i en Albufereta es va arribar a -356 mV.

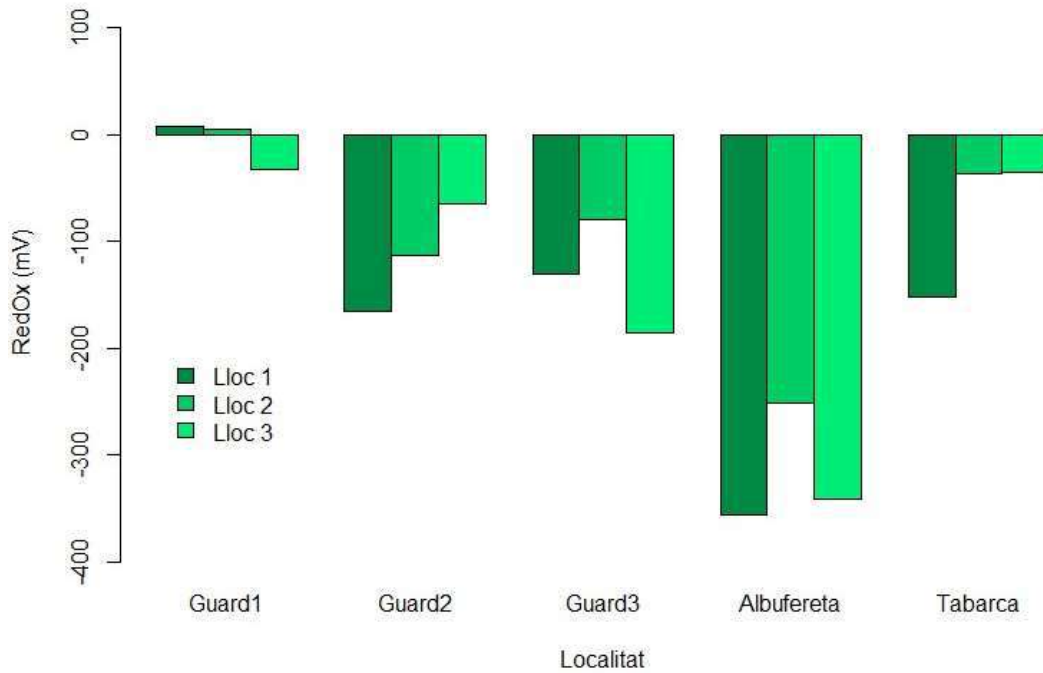
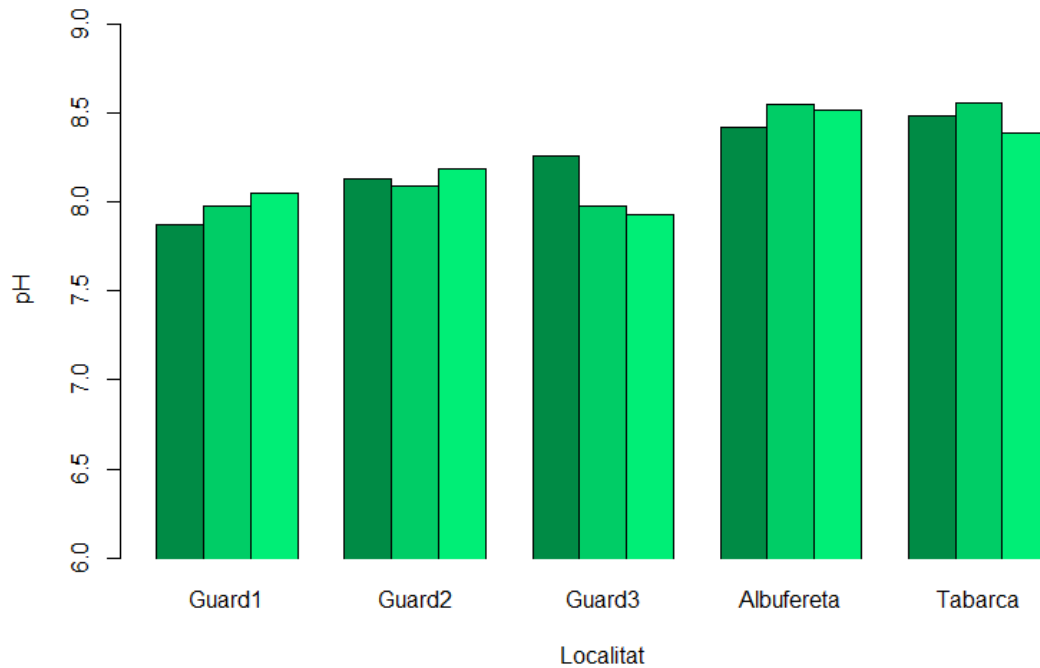


Figura 16: Valors de potencial RedOx per localitat.

Els valors de pH, van estar en tots els casos pròxims a 8, amb valors significativament inferiors en les localitats impactades (Figura 16). D'aquesta manera, queden estadísticament diferenciats els sediments de Guardamar dels controls (Tabla 3).





*Figura 17: Valors de pH per localitat.*

El percentatge de matèria orgànica del sediment va presentar homogeneïtat entre les localitats de Guardamar i el control de la Albufereta, amb valor del 1-2.5%, mentre que els valors de Tabarca són significativament superiors, arribant a superar el 4% de porció de matèria orgànica (Figura17) (Tabla 3).

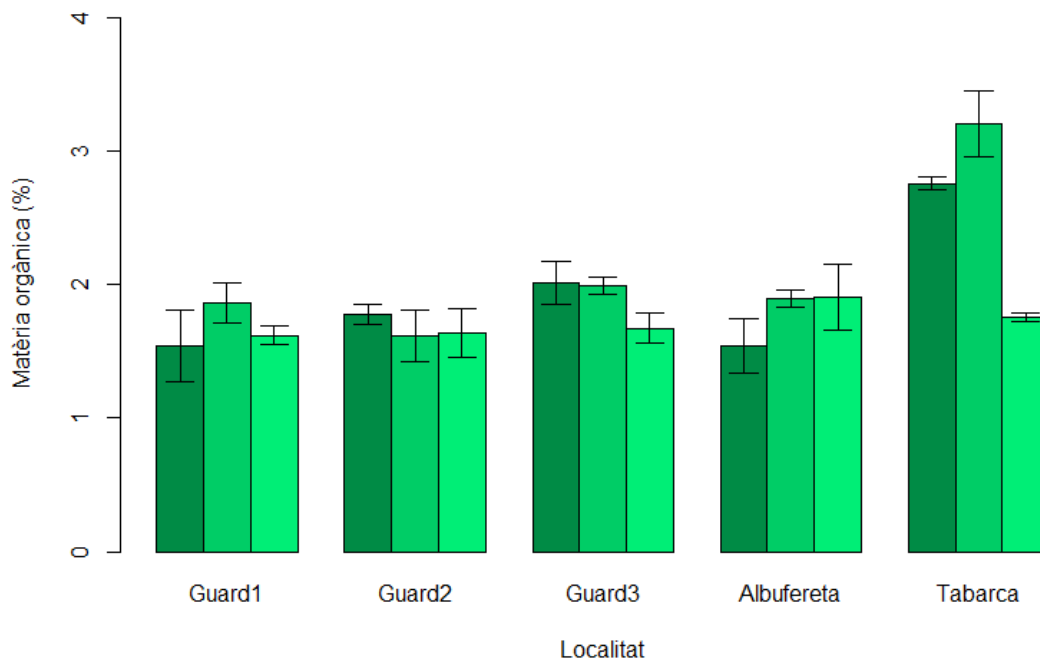


Figura 18: Valors del percentatge de matèria orgànica per localitat.

Tabla 3: Resultats del ANOVA dels descriptors del sediment. Es representen els graus de llibertat (GL), la suma de quadrats (SC), els quadrats medis (CM), els valors de F i el p-valor. Valors estadísticament significativament quan  $p\text{-valor} < 0.05$

| Descriptor       | Factors        | GL | SC     | CM      | F      | p-valor  |
|------------------|----------------|----|--------|---------|--------|----------|
| Fangs            | Localitat      | 4  | 546.3  | 136.57  | 4.603  | 0.0229   |
|                  | Residuals      | 10 | 296.7  | 29.67   |        |          |
| Arena fina       | Localitat      | 4  | 1168   | 291.9   | 8.792  | 0.0026   |
|                  | Residuals      | 10 | 332    | 33.2    |        |          |
| Arena mitjana    | Localitat      | 4  | 547.7  | 136.9   | 227.2  | 9.07E-10 |
|                  | Residuals      | 10 | 6      | 0.6     |        |          |
| Potencial RedOx  | Localitat      | 4  | 159453 | 39863   | 14.56  | 0.000356 |
|                  | Residuals      | 10 | 27378  | 2738    |        |          |
| pH               | Localitat      | 4  | 0.725  | 0.18126 | 16.68  | 0.000201 |
|                  | Residuals      | 10 | 0.1087 | 0.01087 |        |          |
| Matèria orgànica | Localitat      | 4  | 0.4804 | 0.12009 | 12.855 | 3.28E-06 |
|                  | Localitat:Lloc | 10 | 0.3822 | 0.03822 |        |          |
|                  | Residuals      | 30 | 0.2802 | 0.00934 |        |          |

### 3.4. Isòtops estables

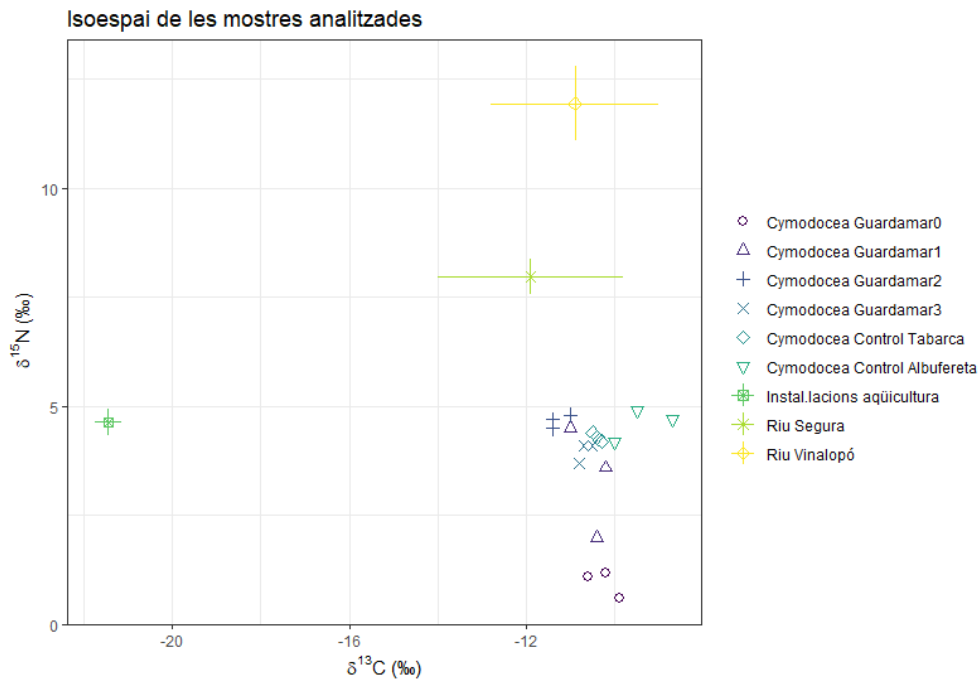


Figura 19: Valors de  $\delta^{15}\text{N}$  i  $\delta^{13}\text{C}$  per a les mostres de *C. nodosa* i les fonts de contaminació analitzades.

Els resultats dels isòtops estables indiquen una clara diferència entre la composició de les diferents fonts de contaminants considerades (Riu Segura, Riu Vinalopó i pinsos d'aqüicultura). No obstant això, aquestes diferències no es van observar en les diferents localitats, ja que com s'observa en la figura hi ha entrecruament entre els controls i algunes estacions impacte (Figura 19).

Pel que respecta a les variables biòtiques estudiades (Figura 20), es pot apreciar una alta homogeneïtat entre les 3 localitats de Guardamar que, a més, queden clarament diferenciades dels controls, Albufereta i Tabarca. Les localitats de Guardamar es caracteritzen per valors baixos de biomassa (total i epigea), superfície foliar, densitat i cobertura. Pel contrari, Albufereta va resultar ser una praderia amb elevats valors per a tots els descriptors prèviament mencionats. Per últim, Tabarca destaca per un major percentatge d'herbivoria però una baixa taxa de necrosi i, igual que Albufereta, presenta alts valors de densitat i cobertura, però la superfície foliar va ser significativament menor.

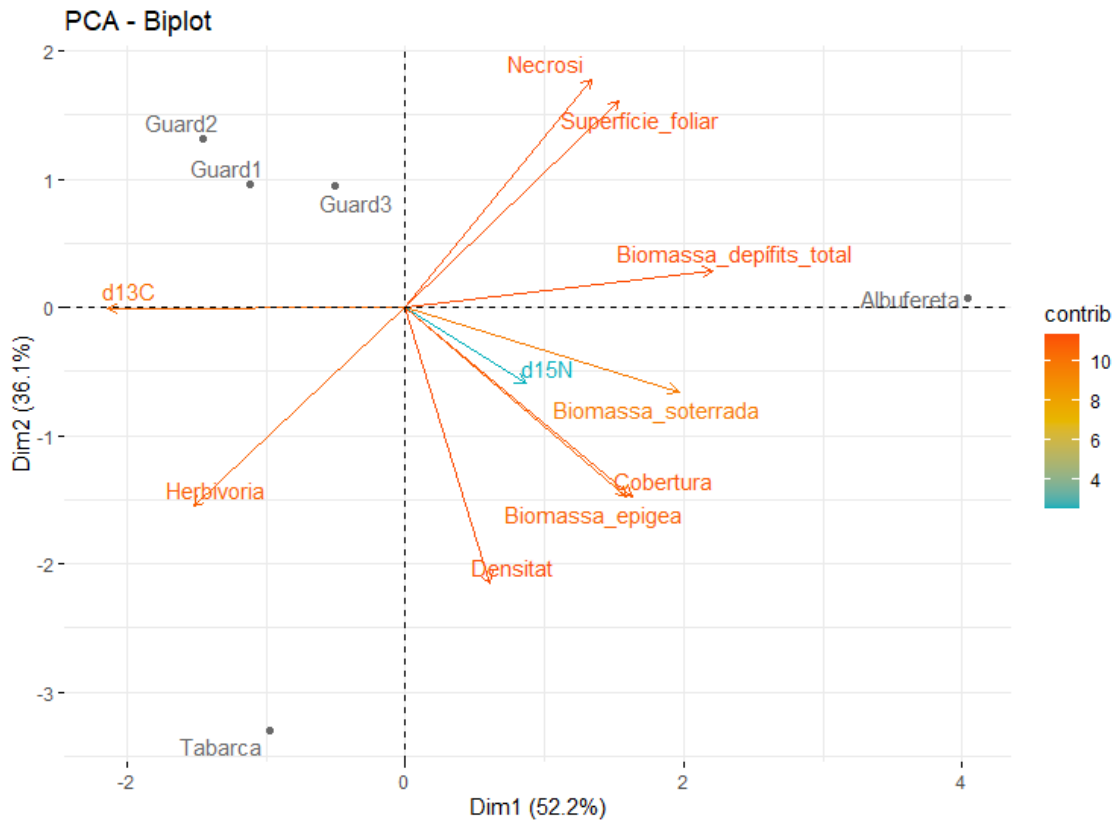


Figura 20: Representació del PCA sobre les variables biòtiques i ubicació de les localitats mostrejades.

Quant als paràmetres abiòtics analitzats (Figura 21), les estacions impacte han estat diferenciades dels controls. Els sediments de la zona de Guardamar es van caracteritzar per elevats percentatges d'arena fina, baixa matèria orgànica, un RedOx positiu i un pH lleugerament àcid. En Tabarca, els sediments van destacar per un elevat contingut d'arenes mitjanes i un percentatge de matèria orgànica major que la resta de localitats. Per últim, en el cas de l'Albufereta, el sediment va ser principalment fangós, amb un RedOx negatiu i un pH bàsic, pel que es diferencia notablement de la resta de localitats.

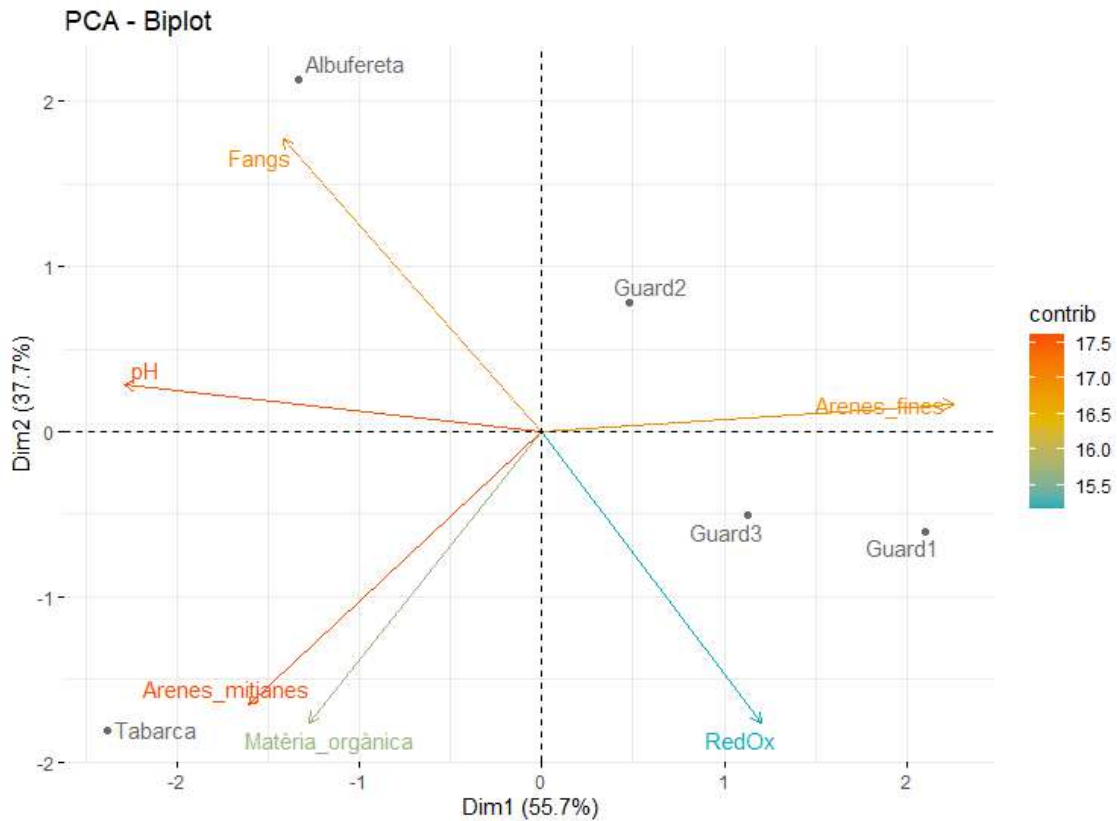


Figura 21: Representació del PCA sobre les variables abiòtiques i ubicació de les localitats mostrejades.

## 4. Discussió

Els resultats obtinguts revelen una clara diferenciació entre les praderies de les localitats de Guardamar, amb major influència de cursos fluvials i altres contaminants antròpics, i les praderies dels controls de Tabarca i Albufereta.

Condicions adverses desfavorables com l'afluència de possibles contaminants o la terbolesa de l'aigua han condicionat l'estat de les praderies de Guardamar, desenvolupant individus de menor biomassa i superfície foliar en comparació amb els controls. Aquesta homogeneïtat generalitzada per als descriptors de la praderia de Guardamar no han permès distingir l'efecte del gradient de contaminació dins de la zona impactada. Això pot estar donat pel fet de que el grau d'impacte o degradació de l'ecosistema es similar dins de l'àrea estudiada, donant lloc a pocs canvis en la comunitat malgrat la distància a les principals fonts de contaminació.



Ambdós controls també han estat ben diferenciats pel que fa als paràmetres biòtics i abiòtics estudiats. La diferència en la composició del sediment, Albufereta amb un sòl més fangós i Tabarca amb unes d'arenes més grosses, pot suposar un condicionament per al desenvolupament de la praderia. A més, en Albufereta també es van trobar valors més elevats de biomassa, superfície foliar i RedOx més negatius, fet que coincideix amb estudis previs, en els quals es va destacar la colonització de *C. nodosa* en sediments anòxics amb elevada càrrega de matèria orgànica (Belando et al., 2021). Per altra banda, treballs anteriors en la zona han pogut mostrar que l'Albufereta s'ha vist influenciada amb diferent intensitat per l'activitat humana al llarg del temps (Sánchez-Lizaso et al., 2019). Açò podria suposar una entrada de nutrients de manera difusa que afavoriria el creixement i colonització de *C. nodosa* en comparació a la praderia de Tabarca.

Quant al major percentatge d'herbivoria en el cas de Tabarca, aquest pot estar degut a la proximitat al límit d'una Reserva Marina d'Interès Pesquer, traduint-se en una major abundància d'espècies que s'alimenten de *C. nodosa* degut a l'efecte d'exportació d'ictiofauna des de l'àrea protegida (Martínez-Crego et al., 2021; Raventos et al., 2009).

Per últim, els resultats d'isòtops estables van revelar una elevada capacitat en *C. nodosa* per a discriminar nutrients. Malgrat que en alguns estudis la proximitat a la font de contaminació d'origen antròpic es correlacionava amb una major proporció de l'isòtop pesat del nitrogen i, per tant, una major  $\delta^{15}\text{N}$  (Kamermans et al., 2002; Lepoint et al., 2004; Sánchez-Lizaso et al., 2020; Yamamuro et al., 2003); altres estudis han trobat tendències inverses (Udy et al., 1999; Udy & Dennison, 1997; Walton et al., 2016). Aquest últim cas pot explicar-se degut als diferents mecanismes cel·lulars que fan que l'organisme seleccione aquells compostos conformats per isòtops lleugers (Fry, 2006). Aquest fraccionament isotòpic per part de *C. nodosa* evidencia la seua capacitat de gestionar la presència de contaminants de procedència antròpica i, per tant, la necessitat de conèixer els mecanismes de discriminació i assimilació d'espècies nitrogenades per a poder utilitzar els AIE en praderies d'aquesta espècie de fanerògama marina.

La menor contribució dels marcadors isotòpics en la diferenciació de les praderies estudiades no ha permès determinar la font de contaminants assimilats per *C. nodosa*, però obri la possibilitat de realitzar estudis en mesocosmos que ajuden a calcular d'una manera més precisa el fraccionament isotòpic d'aquesta espècie.

## 5. Conclusions

- La utilització de múltiples descriptors biòtics i abiòtics es fonamental per a la adequada determinació i caracterització de l'impacte de la contaminació marina en les praderies de fanerògames.
- La praderia de *C. nodosa* de Guardamar del Segura ha presentat valors menors de la majoria dels descriptors analitzats en comparació als controls, indicant un desenvolupament més pobre de la praderia degut, possiblement, a la influència antròpica sobre l'ecosistema.
- No s'ha pogut observar un efecte del gradient de contaminació entre les estacions de Guardamar, indicant la possibilitat de que l'escala espacial de la influència dels possibles estressors pot ser major a la regió mostrejada.
- L'anàlisi d'isòtops estables no ha revelat diferències segons l'estat ecològic de les praderies estudiades. Açò pot estar degut, possiblement, al fraccionament en l'assimilació de nutrients per part de *C. nodosa*.
- Futures investigacions que permeten determinar el grau de fraccionament en l'assimilació per part de les fanerògames marines en el medi natural serien de gran utilitat per a poder entendre i interpretar correctament els resultats obtinguts amb els AIE.

## 6. Bibliografia:

- Belando, M. D., Bernardeau-Esteller, J., Paradinas, I., Ramos-Segura, A., García-Muñoz, R., García-Moreno, P., Marín-Guirao, L., & Ruiz, J. M. (2021). Long-term coexistence between the macroalga *Caulerpa prolifera* and the seagrass *Cymodocea nodosa* in a Mediterranean lagoon. *Aquatic Botany*, 173(June), 103415. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2021.103415>
- Boesch, D. (2001). Factors in the Decline of Coastal Ecosystems. *Science*, 293(5535), 1589c – 1591. <https://doi.org/10.1126/science.293.5535.1589c>
- Bonanno, G., & Borg, J. A. (2018). Comparative analysis of trace element accumulation in seagrasses *Posidonia oceanica* and *Cymodocea nodosa*: Biomonitoring applications and legislative issues. *Marine Pollution Bulletin*, 128(June 2017), 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.013>
- Bonanno, G., Veneziano, V., Raccuia, S. A., & Orlando-Bonaca, M. (2020). Seagrass *Cymodocea nodosa* and seaweed *Ulva lactuca* as tools for trace element biomonitoring. A comparative study. *Marine Pollution Bulletin*, 161(July), 111743. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111743>
- Buchanan, J. B. (1984). *Sediment analysis. En: Methods for the Study of Marine Benthos*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. <https://doi.org/10.1002/9781118542392>
- Crain, C. M., Kroeker, K., & Halpern, B. S. (2008). Interactive and cumulative effects of multiple human stressors in marine systems. *Ecology Letters*, 11(12), 1304–1315. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01253.x>

- Egea, L. G., Jiménez-Ramos, R., Vergara, J. J., Hernández, I., & Brun, F. G. (2018). Interactive effect of temperature, acidification and ammonium enrichment on the seagrass *Cymodocea nodosa*. *Marine Pollution Bulletin*, 134(February 2017), 14–26. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.02.029>
- Fry, B. (2006). *Stable Isotope Ecology*. Springer US.
- Kamermans, P., Hemminga, M. A., Tack, J. F., Mateo, M. A., Marbà, N., Mtolera, M., Stapel, J., Verheyden, A., & Daele, T. Van. (2002). Groundwater effects on diversity and abundance of lagoonal seagrasses in Kenya and on Zanzibar Island (East Africa). *Marine Ecology Progress Series*, 231(Johannes 1980), 75–83.
- Kendall, C., Elliott, E. M., & Wankel, S. D. (2007). Tracing Anthropogenic Inputs of Nitrogen. *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*, 375–449.
- Lepoint, G., Dauby, P., & Gobert, S. (2004). Applications of C and N stable isotopes to ecological and environmental studies in seagrass ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, 49(11–12), 887–891. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.07.005>
- Lotze, H. K., Lenihan, H. S., Bourque, B. J., Bradbury, R. H., Cooke, R. G., Kay, M. C., Kidwell, S. M., Kirby, M. X., Peterson, C. H., & Jackson, J. B. C. (2006). Depletion degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas. *Science*, 312(5781), 1806–1809. <https://doi.org/10.1126/science.1128035>
- Mancinelli, G., & Vizzini, S. (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>
- Marín-Guirao, L., Atucha, A. M., Barba, J. L., López, E. M., & García Fernández, A. J. (2005). Effects of mining wastes on a seagrass ecosystem: Metal accumulation and bioavailability, seagrass dynamics and associated community structure. *Marine Environmental Research*, 60(3), 317–337. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2004.11.002>
- Martínez-Crego, B., Prado, P., Marco-Méndez, C., Fernández-Torquemada, Y., Espino, F., Sánchez-Lizaso, J. L., de la Ossa, J. A., Vilella, D. M., Machado, M., & Tuya, F. (2021). Driving factors of biogeographical variation in seagrass herbivory. *Science of the Total Environment*, 758, 143756. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143756>
- Martínez-Crego, B., Vergés, A., Alcoverro, T., & Romero, J. (2008). Selection of multiple seagrass indicators for environmental biomonitoring. *Marine Ecology Progress Series*, 361, 93–109. <https://doi.org/10.3354/meps07358>
- McClelland, J. W., & Valiela, I. (1998). Linking nitrogen in estuarine producers to land-derived sources. *Limnology and Oceanography*, 43(4), 577–585. <https://doi.org/10.4319/lo.1998.43.4.0577>
- McClelland, J. W., Valiela, I., & Michener, R. H. (1997). Nitrogen-stable isotope signatures in estuarine food webs: A record of increasing urbanization in coastal watersheds. *Limnology and Oceanography*, 42(5 I), 930–937. <https://doi.org/10.4319/lo.1997.42.5.0930>
- Navarro-Pedreño, J., Almendro-Candel, M. B., Gómez-Lucas, I., Jordán-Vidal, M. M., Meléndez-Pastor, I., & Gallego-Moreno, C. (2020). PROYECTO DE INVESTIGACIÓN APLICADA A RECURSOS HÍDRICOS EN LA COMUNITAT VALENCIANA 2020. *Generalitat Valenciana*. [http://agroambient.gva.es/documents/163005665/172953582/%28PDF%29-UMH\\_1\\_Memoria+de+actuaciones+AGUAS+2020.pdf/90e097e0-912c-4f39-9b90-796c0ffec0e9](http://agroambient.gva.es/documents/163005665/172953582/%28PDF%29-UMH_1_Memoria+de+actuaciones+AGUAS+2020.pdf/90e097e0-912c-4f39-9b90-796c0ffec0e9)
- Perez, M., Duarte, C. M., Romero, J., Sand-Jensen, K., & Alcoverro, T. (1994). Growth plasticity in *Cymodocea nodosa* stands: the importance of nutrient supply. *Aquatic Botany*, 47(3–4), 249–264. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(94\)90056-6](https://doi.org/10.1016/0304-3770(94)90056-6)
- Raventos, N., Ferrari, B., & Planes, S. (2009). Differences in population parameters and behaviour of the herbivorous fish *Sarpa salpa* between protected and unprotected seagrass meadows in the north-western Mediterranean. *Journal of the Marine*

- Biological Association of the United Kingdom*, 89(6), 1153–1159.  
<https://doi.org/10.1017/S0025315409000423>
- Roca, G., Alcoverro, T., Krause-Jensen, D., Balsby, T. J. S., Van Katwijk, M. M., Marbà, N., Santos, R., Arthur, R., Mascaró, O., Fernández-Torquemada, Y., Pérez, M., Duarte, C. M., & Romero, J. (2016). Response of seagrass indicators to shifts in environmental stressors: A global review and management synthesis. *Ecological Indicators*, 63, 310–323. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.12.007>
- Romero Gil, I., Cambroner Arribas, P., González Escrivá, J. A., Molines Llodra, J. M., Aguas Vivas Pachés Giner, M., Martínez Guijarro, R., Serra Peris, J., Pulido Velázquez, M. R., & Barat Baviera, R. (2020). Estado ecológico de la masa de agua costera C017: Santa Pola-Guardamar del Segura, dinámica litoral, fuentes de contaminación y sus medidas de gestión. *Generalitat Valenciana*, 0–40.  
[http://agroambient.gva.es/documents/163005665/172953582/UPV\\_Informe+2020+GVA+Recursos+Hidricos.pdf/4ceee99b-d918-4d96-9a1a-40a88f46a4bb](http://agroambient.gva.es/documents/163005665/172953582/UPV_Informe+2020+GVA+Recursos+Hidricos.pdf/4ceee99b-d918-4d96-9a1a-40a88f46a4bb)
- Sánchez-Lizaso, J. L., Aguilar-Escribano, J., Blanco-Murillo, F., Varela, M., Sola, I., & del-Pilar-Ruso, Y. (2020). Efectos de la eutrofización en masas de agua costeras de la provincia de Alicante. *Generalitat Valenciana*, 1–52.  
<http://agroambient.gva.es/documents/163005665/172953582/%28PDF%29-INFORME+FINAL+CONVENIO+UA.pdf/>
- Sánchez-Lizaso, J. L., Del-Pilar-Ruso, Y., Fernández-Torquemada, Y., Carratalá-Giménez, A., Blanco-Murillo, F., & Ramos-Esplá, A. A. (2019). Estudio sobre la afección del vertido de la EDAR del Rincón de León en la zona marítima localizada al sur de del puerto de Alicante y posibles alternativas. *Conselleria d'Agricultura, Desenvolupament Rural, Emergència Climàtica i Transició Ecològica*, 8(5), 55.
- Udy, J. W., & Dennison, W. C. (1997). Growth and physiological responses of three seagrass species to elevated sediment nutrients in Moreton Bay, Australia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 217(2), 253–277.  
[https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(97\)00060-9](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(97)00060-9)
- Udy, J. W., Dennison, W. C., Lee Long, W. J., & McKenzie, L. J. (1999). Responses of seagrass to nutrients in the Great Barrier Reef, Australia. *Marine Ecology Progress Series*, 185(Kuhlman 1988), 257–271. <https://doi.org/10.3354/meps185257>
- Viana, I. G., & Bode, A. (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, 167–176. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.019>
- Walton, M. E. M., Al-Maslamani, I., Haddaway, N., Kennedy, H., Castillo, A., Al-Ansari, E. S., Al-Shaikh, I., Abdel-Moati, M., Al-Yafei, M. A. A., & Le Vay, L. (2016). Extreme  $^{15}\text{N}$  Depletion in Seagrasses. *Estuaries and Coasts*, 39(6), 1709–1723.  
<https://doi.org/10.1007/s12237-016-0103-3>
- Yamamuro, M., Kayanne, H., & Yamano, H. (2003).  $\delta^{15}\text{N}$  of seagrass leaves for monitoring anthropogenic nutrient increases in coral reef ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, 46(4), 452–458. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00463-0](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00463-0)