

EFECTO DE LA PERMEABILIZACIÓN DE LA MARISMA DEL PARQUE NACIONAL DE DOÑANA SOBRE LA ESTRUCTURA BIOGEOQUÍMICA DE SUS ECOSISTEMAS ACUÁTICOS

EMMA HUERTAS¹, SUSANA FLECHA¹, MERCEDES DE LA PAZ²,
GABRIEL NAVARRO¹ Y FIZ F. PEREZ²

RESUMEN

Este trabajo resume la investigación llevada a cabo para examinar el efecto de la entrada de los aportes del Guadiamar y del estuario del Guadalquivir sobre la dinámica de los procesos biogeoquímicos en las marismas del Parque Nacional de Doñana, tras la conexión entre estos ambientes interrumpida desde 1998 hasta 2014. El análisis de datos históricos reveló que, durante la etapa de aislamiento, el ciclo hidrológico determinaba el grado de heterotrofia de los sistemas inundados de la marisma. Ciclos muy húmedos favorecían una elevada heterotrofia que causaba condiciones de hipoxia y elevada producción de CO₂, mientras que ciclos secos disminuían la exportación de carbono pero desembocaban en sequía prolongada. Tras la conexión con los cauces fluviales, se apreció un gradiente espacio-temporal de salinidad en las marismas inundadas debido a la variabilidad del ciclo mareal y su efecto sobre el estuario y al patrón meteorológico, distinguiéndose dos grupos de marismas: polihalinas y oligo-mesohalinas. Los aportes fluviales fertilizaron las marismas, con la consiguiente proliferación de fotoautótrofos, que fue superior en las mesohalinas. La producción biológica contribuyó a que las marismas adyacentes al estuario actuaran como sumideros de CO₂ atmosférico. Así mismo, la retirada de compuestos nitrogenados disueltos provocó la disminución de procesos de nitrificación/denitrificación y de generación de N₂O. Las marismas inundadas brindaron un nuevo servicio ecosistémico actuando como secuestradores de este gas de potente efecto invernadero. Aunque la acumulación de materia orgánica disuelta, tanto alóctona como autóctona, se relacionó con un incremento en la metanogénesis, las condiciones termohalinas fueron los principales factores reguladores del proceso, apreciándose un descenso en los niveles de metano en las marismas polihalinas bajo influencia del estuario. Los patrones observados sugieren mantener una conexión continua para evitar en la Marisma posibles episodios de eutrofización durante ciclos secos y de heterotrofia e hipoxia durante ciclos húmedos.

Palabras clave: biogeoquímica acuática, estuario del Guadalquivir, marismas inundadas, flujos de gases de efecto invernadero agua-atmósfera

¹ Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC), c/Polígono Río San Pedro s/n, 11519, Puerto Real, Cádiz. (emma.huertas@icman.csic.es).

² Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC), c/Eduardo Cabello 6, Vigo.

EFFECT OF THE PERMEABILIZATION OF THE SALT MARSHES OF DOÑANA NATIONAL PARK ON THE BIOGEOCHEMICAL STRUCTURE OF ITS AQUATIC ECOSYSTEMS

SUMMARY

This work summarizes the research carried out to examine the effect of the river inputs from the Guadamar and the Guadalquivir estuary on the dynamics of the biogeochemical processes in the saltmarshes of Doñana National Park (Marisma), after allowing the connection between both systems that had been interrupted from 1998 to 2014. Analysis of previous data revealed that during the isolation period, the hydrological cycle determined the level of heterotrophy in the flooded saltmarshes. Humid cycles favored a high heterotrophy that caused hypoxia and high CO₂ production, whereas dry cycles led to a marked reduction in the carbon export and emissions although also, to a prolonged drought. Connecting the Marisma with its historic catchments caused a spatio-temporal salinity gradient in the inundated marshes adjacent to the estuary, which was due to the variability of the tidal cycle in the estuary and variations in the meteorological pattern. According to the salinity values observed, the saltmarshes were classified in two groups: polyhaline and oligo-mesohaline systems. Fluvial inputs fertilized the inundated marshes, which led to a subsequent proliferation of photoautotrophs that was higher in the mesohaline systems. Biological production contributed to the withdraw of atmospheric CO₂, particularly in the marshes flooded by the estuary. Likewise, the removal of dissolved nitrogen compounds caused a decrease in nitrification/denitrification reactions and hence, in the N₂O generation. In fact, the marshes provided a new ecosystem service by acting as a sink of this powerful greenhouse gas. Although the accumulation of both allochthonous and autochthonous dissolved organic matter was associated to an increase in methanogenesis, thermohaline conditions were the main drivers of this process, with a decrease in methane levels being observed in the polyhaline marshes. The observed patterns suggest to maintain a continuous connection between the rivers and the Marisma to avoid events of eutrophication during dry cycles and the heterotrophy and hypoxia observed during wet cycles under the previous isolation period.

Keywords: aquatic biogeochemistry, Guadalquivir estuary, flooded saltmarshes, air-water greenhouse gases exchange.

INTRODUCCIÓN

Los humedales de Doñana constituyen una de las zonas protegidas de Europa más emblemáticas por su rica biodiversidad y por su importancia singular para las aves silvestres (ČÍŽKOVÁ *et al.* 2013). Cuentan con el grado más alto de protección medioambiental en España, categoría de Parque Nacional (P.N.), fueron declarados Reserva de la Biosfera por la UNESCO en 1980, Sitio de Humedal de Importancia Internacional

por la Convención Ramsar en 1982 (entrada en el Registro de Montreux de sitios Ramsar amenazados en 1990), y Patrimonio de la Humanidad por la UNESCO en 1994. Gran parte de la región circundante fue declarada Parque Natural, con objeto de minimizar el impacto humano sobre el P.N. propiamente dicho, constituyendo ambos entornos el Espacio Natural de Doñana (END). En la región pueden encontrarse una gran diversidad de sistemas acuáticos, incluido el gran estuario del Guadalquivir, pequeños ríos y arro-

vos como el Guadimar, La Rocina y El Partido, y charcas y lagunas permanentes o temporales (Fig. 1). En el pasado, el END formaba parte de las marismas del Guadalquivir, cuya extensión a finales del siglo XIX era superior a las 185.000 hectáreas. Dado que el terreno es esencialmente plano, la morfología original del estuario (y sus marismas) comprendía una gran cantidad de meandros y ramificaciones. Esta fisonomía del paisaje no era muy conveniente para la navegación comercial hasta el puerto de Sevilla, y en el siglo XVIII se ejecutó la primera de las actuaciones humanas a gran escala sobre el río Guadalquivir, que consistió en cortocircuitar la entrada de agua a los meandros y así reducir en 50 km la longitud de la ruta desde la desembocadura hasta el puerto; en la actualidad, esta distancia es de 84 km. En el siglo XX, la presión social por aumentar el uso agrícola del suelo provocó el drenaje generalizado de las marismas y, con ello, alteraciones masivas en el régimen de agua dulce. Se ha estimado que entre los años 1918 y 2006 el 70,5% de las marismas del entorno Doñana quedaron transformadas en sistemas de cultivo y áreas artificiales, mientras que el 29.5% restante permaneció inalterado o fue restaurado, la mayor parte de ellas dentro del P.N. (ZORRILLA-MIRAS *et al.* 2014). La creciente demanda de la agricultura durante el siglo XX también propició la instalación de numerosos embalses a lo largo de todo el cauce del Guadalquivir. La presa más cercana a la desembocadura está situada a 110 km de ésta en la localidad de Alcalá del Río y ha dado lugar a gran una distorsión en la dinámica de las mareas en el estuario. Desde su construcción en 1930, las entradas de agua dulce han disminuido en un 60% en promedio, desde aproximadamente $5.000 \text{ hm}^3 \text{ año}^{-1}$ durante el periodo 1931-1981 hasta $2.000 \text{ hm}^3 \text{ año}^{-1}$ entre los años 1981 y 2000, con una mayor reducción de los aportes durante los años secos (RUIZ *et al.* 2015). En 1998, el vertido de lodos tóxicos generado por las minas de Aznalcóllar al río Guadimar provocó la construcción de un dique sobre el terraplén aluvial y el Brazo de la Torre, con el fin de impermeabilizar las marismas de Doñana frente al avance de los lodos contaminados. Este dique fue una prolongación del conocido como la “montaña del río” que había sido levantado entre los años 1983-1985, y en su totalidad ejerció un efecto crucial en la dinámica de inundación

de las marismas, que pasaron de recibir las aguas de una cuenca de 360.000 hectáreas a absorber apenas 205.000 hectáreas. A partir de la ampliación de la montaña, los arroyos de la Rocina y el Partido constituyeron los principales aportes superficiales de agua al P.N. junto con las precipitaciones y los flujos subterráneos provenientes del acuífero 05-51+04-14 (antiguo número 27 de acuerdo a la clasificación del Instituto Geológico y Minero, CUSTODIO *et al.* 2009). El sistema se alimentaba pues de agua superficial y subterránea, aportando la primera caudales que inundaban las marismas durante una parte del año, mientras que la segunda causaba la existencia interrumpida de lagunas y charcas. Por ello, tras la interrupción de los aportes fluviales desde sus cauces vertientes naturales, la Marisma experimentó un ciclo anual de funcionamiento, de tal modo que su llenado ocurría con las primeras lluvias, normalmente hacia octubre-noviembre, y continuaba progresivamente hasta alcanzar un máximo, que solía suceder entre diciembre y abril. Al iniciarse el estiaje, las pérdidas por evaporación o evapotranspiración desecaban progresivamente la Marisma, hasta que a final del verano solamente las zonas más deprimidas (ojos, lucios y quebradas) retenían algo de agua, culminando así un ciclo de inundación/desecación. Por ello, aunque la construcción del dique divisorio impidió de manera efectiva la llegada de lodos contaminados de Aznalcóllar, su permanencia en el tiempo condicionó la cobertura acuática de la Marisma que experimentaba notables fluctuaciones interanuales en función del ciclo hidrológico (URDIALES *et al.* 2010; DIAZ-DELGADO *et al.* 2016). El nivel de inundación y la disminución de drenaje hacia el estuario influenciaban considerablemente la dinámica de los procesos biogeoquímicos en sus ecosistemas acuáticos (MORRIS *et al.* 2013).

Con el fin de restaurar (al menos parcialmente) la morfología histórica natural muy alterada tras la impermeabilización, el proyecto Doñana 2005 (1998-2006) estableció una serie de actuaciones encaminadas a recuperar las cuencas hidrográficas y cauces vertientes a las marismas. Dichas actuaciones se ejecutaron por la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir (CHG) a lo largo del año 2014. Puesto que la demolición total del dique permitiría inundaciones periódicas de la Marisma

con avenidas pluviales y/o marinas con las mareas, se acordó permeabilizar la montaña en cuatro tramos a través de vados construidos desde el final del tramo Entremuros hasta la compuerta de Brenes y otras obras de drenaje transversal localizadas en cauces naturales. Se trataba de un sistema de compuertas para poder controlar la intensidad de las inundaciones, evitar la entrada de agua potencialmente contaminada y controlar la salinización de las marismas. En conjunto, estas medidas pretendían mejorar la deficiencia en los aportes desde los cauces superficiales que nutren a la Marisma y el aislamiento provocado en la zona de Entremuros, favoreciendo su conexión con el estuario, y recuperando parcialmente el ciclo de inundación natural. En el año 2015 se había ejecutado la recuperación del cauce natural del caño del Travieso para mejorar la conectividad en Entremuros, por lo que durante el ciclo hidrológico 2014/2015 el río Guadiamar volvió a penetrar en la Marisma aunque de manera controlada.

Así mismo, entre el canal del Buentiro (conocido como caño del Cherry) y el caño de Brenes se procedió a la construcción de vados que rebajaron la altura de la montaña del río y permitieron la entrada de aguas del estuario del Guadalquivir con la marea (Fig. 2).

Con el fin de evaluar el efecto de las actuaciones de conexión con los cauces sobre la dinámica de los procesos biogeoquímicos en las marismas inundadas se diseñó el proyecto "Efecto de la permeabilización de la Marisma del Parque Nacional de Doñana sobre la estructura biogeoquímica de sus ecosistemas acuáticos" (1539/2015) que fue financiado por el Organismo Autónomo de Parques Nacionales (OAPN) en su convocatoria de 2015. La investigación realizada en el marco del proyecto examinó las consecuencias de la interacción Marisma-estuario a corta escala, tomando como casos de estudio las zonas conectadas. En este trabajo se presentan los principales

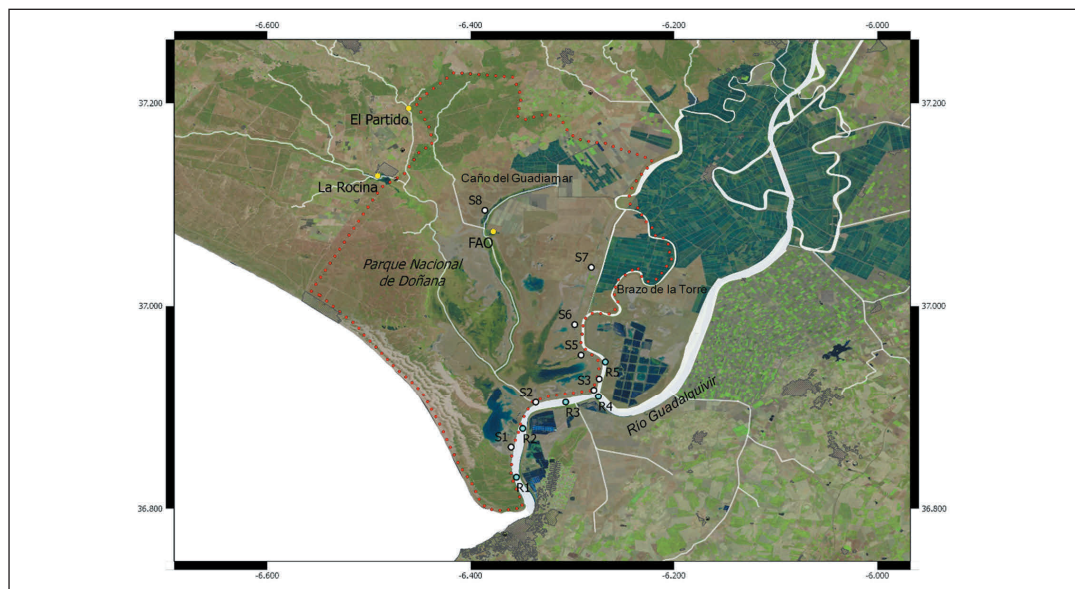


Figura 1. Mapa del P.N. de Doñana y del estuario del Guadalquivir donde se muestran también los cauces del Guadiamar, La Rocina, El Partido y del acuífero subterráneo en la F.A.O. La posición de las estaciones de muestreo en la Marisma y en el estuario se indican con los símbolos blancos y azules respectivamente (R1: desembocadura; R2: Los Rompidos; R3: Boya Brenes; R4: Brazo de la Torre aguas abajo; R5: Brazo de la Torre aguas arriba; S1: Marismas Los Rompidos; S2: Caño de Brenes; S3: Caño de las Nuevas; S4: Lucio de Sevilla; S5: Caño del Buen Tiro; S6: Caño del Cherry; S7: Lucio del Cangrejo Grande; S8: Marismas del Guadiamar).

Figure 1. Map of Doñana NP and the adjacent Guadalquivir estuary. Position of Guadiamar, La Rocina and El partido streams are also shown. Sampling sites at the saltmarshes and the estuary are indicated with white and blue symbols, respectively. (R1: desembocadura; R2: Los Rompidos; R3: Boya Brenes; R4: Brazo de la Torre aguas abajo; R5: Brazo de la Torre aguas arriba; S1: Marismas Los Rompidos; S2: Caño de Brenes; S3: Caño de las Nuevas; S4: Lucio de Sevilla; S5: Caño del Buen Tiro; S6: Caño del Cherry; S7: Lucio del Cangrejo Grande; S8: Marismas del Guadiamar).



Figura 2. Sistema de tubos y canalizaciones construidos por la CHG para la recuperación del Caño del Travieso, que ha permitido la conexión entre el río Guadamar y la Marisma en la zona de Entremuros (foto superior izquierda), y detalle de la entrada del mismo (superior derecha) sobre la cara externa de la canalización. Ambas imágenes fueron tomadas en junio de 2015 así como las fotos centrales que muestran los vados construidos entre los caños del Cherry (izquierda) y de Brenes (derecha) para bajar el nivel de la montaña del río y permitir la conexión entre el estuario y la Marisma. Nótese la proximidad del río, indicada por el barco que asciende sobre del cauce (izquierda). Las imágenes inferiores corresponden a los mismos vados en marzo de 2018, con las marismas inundadas por las aguas estuarinas.

Figure 2. System of pipes and canalizations built by the CHG to allow the recovery of the Caño del Travieso to facilitate the connection between the Guadamar river and the Marisma in the Entremuros area (upper left photo) and fluvial waters coming from the Guadamar (upper right photo) on the external side of the pipeline. Both images were taken in June 2015 as well as the central photos that show the fords built between the Cherry (left) and Brenes (right) creeks to lower the level of the river's mountain and allow the connection between the estuary and the saltmarshes. Note the proximity of the river, indicated by the boat ascending over the channel (left). The images below correspond to the same fords in March 2018, with the marshes flooded by estuarine waters.

resultados del análisis efectuado en el contexto de dicha iniciativa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estaciones y estrategia de muestreo

Para caracterizar el estado biogeoquímico de las aguas que penetraban en la Marisma se realizaron 16 muestreos entre marzo de 2016 y marzo de 2018 a lo largo del tramo de estuario del Guadalquivir adyacente a esta zona del P.N. bajo diferen-

tes condiciones meteorológicas y de marea (Fig. 1 y Tabla 1). En paralelo y de manera sinóptica, se recogieron muestras en las zonas inundadas de las marismas de Doñana susceptibles de recibir aportes hídricos directos del estuario y del cauce del Guadamar (Fig. 1). Las estaciones de muestreo en la Marisma se seleccionaron teniendo en cuenta el gradiente de salinidad presente en el estuario, que puede variar desde 34 en la desembocadura del río hasta aproximadamente 0 en el límite superior de la franja adyacente a la ribera considerada en nuestro estudio (RUIZ *et al.* 2015). Todos los muestreos se realizaron cuando el es-

tuario estaba bajo la influencia de mareas vivas y altas, ya que estudios en marismas y manglares evidencian una fuerte señal de la marea en la química del agua (CALL *et al.* 2015). Además, esas condiciones hidrodinámicas aseguraban el desbordamiento de las aguas fluviales en la Marisma y la presencia de un nivel de agua en ella significativo (altura mínima de 0,1 m) que permitiera el muestreo. Éste se realizó a pie y en ciertas ocasiones con pértiga para minimizar al máximo la perturbación física de los sedimentos. Los datos meteorológicos se obtuvieron de la estación de Lebrija (36°58'35" N, 06°07'34" O) de la red de Estaciones Agroclimáticas de la Junta de Andalucía, y las descargas de la presa de Alcalá del Río a través del Sistema Automático de Información Hidrológica de la cuenca del Guadalquivir.

Considerando registros históricos y actuales de velocidad del viento en la región (Tabla 1), y profundidad promedio de la columna de agua,

el cálculo del número de Richardson indicó que la superficie inundada correspondía a cuerpos de agua bien mezclados. Estas condiciones de mezcla, permitieron asumir que los valores de las variables biogeoquímicas obtenidos en cada estación eran representativos de la zona inundada en la que se hallaba dicha estación. Durante los meses de verano la cobertura acuática en la Marisma se redujo considerablemente, por lo que en algunas estaciones no se dispone de datos durante la estación seca. Por ello, la variabilidad temporal de los procesos analizados se ha examinado durante los períodos en los que existen observaciones.

En todas las estaciones se midieron salinidad (S), temperatura (T) y pH (en escala NBS) con una sonda multiparamétrica Yellow Spring (YSI, YS6820v2) calibrada para el pH con tampones a valores 4 y 7, y se recogieron muestras de agua superficial para la determinación de las siguientes

Fecha	Temperatura atmosférica	Viento	Rango de salinidad	Coficiente de marea	Descarga de la presa	Precipitación
	(°C)	(m s ⁻¹)			(m ³ s ⁻¹)	(mm)
18/03/2016	11,7	2,36	8-28	56	14	22
21/04/ 2016	15,5	2,93	3-26	84	27	70
19/05/ 2016	18,4	3,05	0,5-9	74	47	153
23/06/2016	22,6	2,11	12-33	111	46	144
14/11/2016	12,8	2,41	5-36	78	28	0
13/12/2016	11	1,83	2-18	103	44	85
20/01/2017	7,7	1,74	3-17	41	15	25
07/02/2017	11,9	2,26	5-19	70	28	55
24/03/2017	13,3	2,43	7-25	67	43	82
25/04/2017	16,7	2,36	14-36	105	22	66
09/05/2017	19,8	2,18	5-37	82	25	14
22/06/2017	24,1	2,07	17-34	94	24	0
24/07/2017	24,5	2,37	17-32	99	28	1
20/09/2017	22,6	1,96	13-31	99	14	0
01/12 2017	9,4	2,24	5-18	92	21	23
22/03/2018	13	3,91	0,7-5	70	420	164

Tabla 1. Principales condiciones físico-químicas y meteorológicas en la región del estuario del Guadalquivir y marismas del P.N. de Doñana durante los muestreos efectuados entre marzo de 2016 y marzo de 2018.

Table 1. Main physico-chemical and meteorological conditions in the Guadalquivir estuary region and Doñana saltmarshes during the field samplings carried out between March 2016 and March 2018.

tes variables: clorofila (Chl a), oxígeno disuelto (DO), alcalinidad total (TA), nutrientes inorgánicos (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} y SiO_4^{4-}), carbono orgánico disuelto (DOC), nitrógeno total disuelto (TDN), material particulado en suspensión (TSM) y gases traza (CH_4 y N_2O).

Técnicas analíticas

El análisis de Chl a se realizó filtrando volúmenes conocidos de agua a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F, que se sumergieron en acetona (90%) y en oscuridad 12 horas, midiéndose el extracto posteriormente por fluorimetría mediante un fluorómetro Turner Designs 10-AU Model calibrado con estándar puro de *Anacystis nidulans* (Sigma Chemical Company). Las concentraciones de DO se determinaron mediante el método de Winkler por titulación potenciométrica utilizando un Titroprocesador Metrohm 794. Los valores de saturación se calcularon según BENSON & KRAUSE (1984) y la Utilización Aparente de Oxígeno (AOU) se estimó como la diferencia entre la concentración de oxígeno en saturación y la obtenida en las muestras. Para la determinación de TA, se recogieron 500 ml de agua en botellas de borosilicato que se preservaron con 100 μl de una solución acuosa saturada de HgCl_2 y se almacenaron hasta su análisis en el laboratorio por titulación según MINTROP *et al.* (2000). La precisión ($\pm 5 \mu\text{mol kg}^{-1}$) se verificó periódicamente mediante medidas de material de referencia procedente de la Scripps Institution of Oceanography (lote 147, proporcionado por el profesor Andrew Dickson). La presión parcial de CO_2 ($p\text{CO}_2$) en agua se calculó a partir de TA y pH_{NBS} aplicando el programa CO2SYS.xls (LEWIS *et al.* 1998), con las constantes de CAI & WANG (1998) y DICKSON (1990) para carbono y sulfato, respectivamente. El error propagado en los datos de $p\text{CO}_2$ fue de $\pm 3\%$, usando un error estimado para las medidas de pH de ± 0.01 unidades, de $\pm 2 \mu\text{mol kg}^{-1}$ para las de TA y $\pm 0.1^\circ\text{C}$ para las de temperatura. Los nutrientes inorgánicos se obtuvieron en muestras de agua filtrada (5 mL, por filtros Whatman GF/F) y congeladas (-20°C) que se analizaron en un Analizador de Flujo Continuo siguiendo los protocolos descritos por GRASSOFF *et al.* (1983). Las concentraciones de DOC y TDN en las muestras se determinaron en

un analizador Shimadzu (TOC-VCPH) mediante oxidación catalítica a alta temperatura (720°C) y quimioluminiscencia respectivamente, según ÁLVAREZ-SALGADO & MILLER (1998). La TSM se obtuvo por el método de pérdida por ignición sobre filtros (Whatman GF/F) tarados y combustiónados a través de los cuales se filtraron volúmenes conocidos de agua, que posteriormente se desecaron a 60°C durante 48 horas y se quemaron totalmente a 450°C durante 5 h. Las muestras para medir las concentraciones de CH_4 y N_2O en los ecosistemas acuáticos se recolectaron en viales de 120 ml, se fijaron con HgCl_2 , se sellaron y se almacenaron boca abajo en oscuridad. El análisis se realizó por cromatografía de gases (GC) mediante el método de espacio de cabeza utilizando un GC Agilent 7890 equipado con un detector de ionización de llama (FID) para CH_4 (DE LA PAZ *et al.* 2015; HUERTAS *et al.* 2018). La precisión del método estimada a partir del coeficiente de variación basado en el análisis replicado fue del 0,6%. Los valores de saturación para ambos gases (expresados como porcentaje) se calcularon como la relación entre la concentración del gas medida en la muestra y su concentración de equilibrio con la atmósfera, que se estimó utilizando las expresiones de solubilidad propuestas por WIESENBURG & GUINASSO (1979) y WEISS & PRICE (1980) para el CH_4 y N_2O respectivamente, mientras que los niveles atmosféricos anuales promediados se obtuvieron de la estación más cercana del World Data Center for Greenhouse Gases (<http://ds.data.jma.go.jp/gmd/wdcgg>).

Intercambio de gases atmósfera-agua

El flujo de un gas determinado entre la atmósfera y el agua (F , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$) se calculó como:

$$F = k (C_w - C_a) \text{ Eq. (1)}$$

donde C_w y C_a corresponden, a las concentraciones del gas disuelto y en equilibrio respectivamente, mientras que k (cm h^{-1}) es la tasa de transferencia gaseosa en función de la velocidad del viento a 10 m de altura (U_{10}), calculada a partir de k normalizado a un número de Schmidt (Sc) de 600 (k_{600}) según:

$$k = k_{600} \sqrt{600} \text{ Eq. (2)}$$

Sc se obtuvo utilizando las formulaciones dadas por WANNINKHOF (1992) interpoladas a la salinidad *in situ*, y k_{600} se calculó a partir de U_{10} según COLE & CARACO (1998).

$$k_{600} = 2.07 + 0.215 U_{10}^{1.7} \text{ Eq. (3)}$$

donde U_{10} se estimó de acuerdo a Smith (1988) con U_z medida en la estación meteorológica.

Estadística

Para realizar análisis estadísticos se utilizó el programa MATLAB. La distribución de probabilidad de las variables se examinó mediante una prueba de Shapiro-Wilk. Para probar correlaciones significativas entre variables se aplicó la correlación de Pearson (PPMC). Los niveles de significancia se establecieron en $p < 0,05$, $p < 0,01$ y $p < 0,0001$. Los datos contenidos en este trabajo están disponibles para su descarga en Digital.CSIC. el repositorio institucional del CSIC (doi:10.20350/digitalCSIC/8588, doi:10.20350/digitalCSIC/8528).

RESULTADOS

Durante el periodo de estudio, la temperatura atmosférica promedio mensual en el valle del Guadalquivir osciló entre un mínimo de alrededor de 8 y un máximo de 24,5 °C en enero de 2017 y julio de 2017, respectivamente (Tabla 1). Las precipitaciones fueron bastante variables (Tabla 1),

típico de la región climática mediterránea caracterizada por una estación lluviosa (generalmente de octubre a marzo) y una estación seca (de junio a septiembre) con lluvias casi inexistentes. El patrón de precipitación interanual en esta área geográfica también es bastante fluctuante, lo que afecta el régimen de inundación de la Marisma. En particular, entre marzo de 2016 y marzo de 2018, periodo que corresponde a 3 años hidrológicos (a partir del 1 de septiembre de 2015), la precipitación anual total fue de 493 mm de septiembre de 2015 a agosto de 2016, 539 mm de septiembre de 2016 a agosto de 2017 y 500 mm de septiembre de 2017 a marzo de 2018. Estos valores se aproximan a la precipitación media anual en la región equivalente a 550 mm (SERRANO *et al.* 2008), lo que representa ciclos hidrológicos normales. Las precipitaciones promediadas mensualmente durante el período de muestreo variaron desde mínimos de 0 mm registrados durante los meses de junio y septiembre de 2017 hasta máximos de alrededor de 150 mm en la primavera de 2016 y 2018 y otoño de 2016 (Tabla 1). El coeficiente de mareas en la desembocadura del estuario durante las fechas de muestreo osciló entre 41 y 111, correspondientes a enero de 2017 y noviembre de 2016, respectivamente (Tabla 1). El promedio mensual de la velocidad horizontal del viento a 10 m sobre la superficie estuvo comprendido entre 1,8 en enero de 2017 y 4,5 m s^{-1} en marzo de 2018, con un valor medio de 2,5 m s^{-1} (Tabla 1). Las condiciones biogeoquímicas de las aguas del bajo Guadalquivir que penetraron en la Marisma durante el periodo de estudio estu-

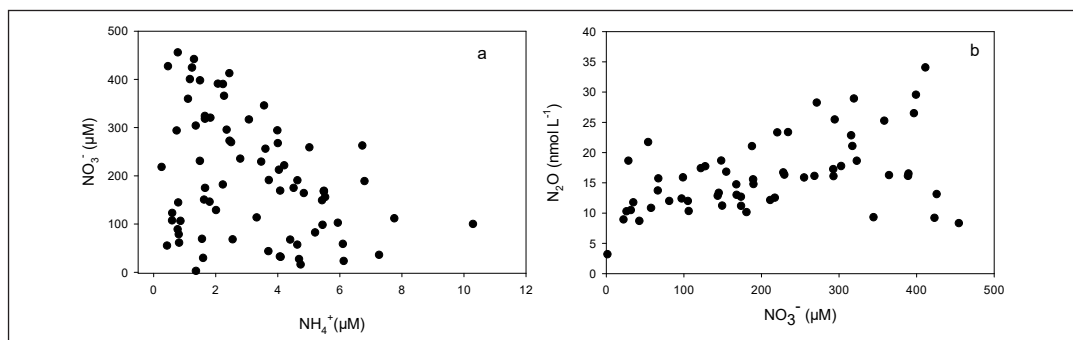


Figura 3. (a) Concentración de nitrato disuelto en relación a la concentración de amonio y (b) óxido nítrico frente a nitrato en el transecto del estuario del Guadalquivir considerado en este estudio.

Figure 3. (a) Dissolved nitrate vs. dissolved ammonium and (b) Dissolved nitrous oxide concentration vs. nitrate in the Guadalquivir estuary transect.

vieron gobernadas por la relación entre el patrón de precipitaciones y el flujo mareal que regulan la dinámica de procesos en el cauce. El estuario es un sistema mesomareal en el que la influencia de las mareas se detecta hasta 100 km aguas arriba de la desembocadura. No obstante, descargas elevadas de agua dulce de la presa de Alcalá del río durante la temporada de lluvias interfieren con el efecto de las mareas y provocan cambios drásticos en la salinidad, como se apreció durante el periodo de estudio (Tabla 1). La relación entre los principales compuestos nitrogenados evidenció que en el estuario dominaron las reacciones de nitrificación (Fig. 3a) que causaron una elevada carga de nitrato, dando como subproducto N_2O (Fig. 3b), y siendo este proceso dependiente del balance entre la descarga de agua dulce y la intrusión de la lengua salina. Descargas desde la presa mayores de $40 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ asociadas a las precipitaciones provocaron la disminución del contenido en DO en el cauce y el aumento en las concentraciones de DOC, TDN (Figs. 4 y 5a, c) y producción (y emisión) de CO_2 y CH_4 (Fig. 5b, d). Por el contrario, cuando el estuario estuvo hidrodinámicamente dominado por la marea, el sistema se oxigenó, descendió la heterotrofia (Figs. 5a-c), y se redujeron igualmente la metano-

génesis (Fig. 5d) y la nitrificación, y con ello, las emisiones de gases de efecto invernadero desde el cauce.

Por su parte, el rango de variación de las variables biogeoquímicas medidas en las marismas inundadas se recoge en la Tabla 2. Debido a la variabilidad meteorológica estacional y a los cambios en el flujo mareal, la salinidad cambió notablemente en estos sistemas. Durante periodos de lluvias intensas y prolongadas, la salinidad a lo largo del estuario experimentó grandes disminuciones, mientras que durante el período seco (70% del año hidrológico) el bajo estuario estuvo dominado por las mareas ya que sólo se produjeron descargas para compensar pérdidas por evaporación (Tabla 1 y Figs 4-5; DÍEZ-MINGUITO et al. 2013). En consecuencia, las marismas ubicadas más cerca de la desembocadura del río (S1:S4) fueron generalmente de naturaleza salobre y presentaron mayores salinidades que las ubicadas en la franja de tierra aguas arriba del estuario (S5:S7). Con la excepción de un valor único de 33,6 en marzo de 2016, la salinidad siempre se mantuvo por debajo de 5 en la estación S7. Considerando los valores de salinidad encontrados, S1:S4 (Los Rompidos, Caño de Brenes, Caño de las Nuevas y el Lucio de Sevilla) se

Rango de variación	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
Salinidad	3,6-52,6	1,1-21,2	1,4-44	4,4-35,8	1,2-10,4	0,9-16,8	0,7-33,6	0,27-3,33
Chla ($\mu\text{g l}^{-1}$)	1-64	2-49	0,5-34	0,8-53	3,3-815	1-342	0,03-457	1,3-256,3
DO (mg l^{-1})	6-15	6-20	9-20	8-20	5-17	9-18	8-23	5-24
pCO2 (μatm)	62-1003	85-3526	0,4-225	4-1700	202-4427	1-665	41-1405	102-12598
pH (NBS)	8,03-9,6	7,7-8,9	8,6-10,5	7,8-9,7	7,9-9,0	8,3-10,8	7,73-9,52	7,41-9,12
DOC (mg l^{-1})	4,9-36,2	2,8-22,3	7,9-44,5	9,6-40,6	6,9-60,9	5,8-65,4	8,5-56,8	8,1-38,9
TDN (mg l^{-1})	0,4-3,1	0,8-3,9	0,6-3,7	1-3	0,7-4,9	0,4-4,7	0,5-5,6	0,52-2,6
DIN ($\mu\text{mol l}^{-1}$)	3,4-46,1	29-339	6-142	5-67	55,3-277,1	7,8-99	1,8-369,4	0,63-6,73
PO4 ³⁻ ($\mu\text{mol l}^{-1}$)	0,03-3,1	0,2-4,5	0-0,8	0-0,4	0-9,3	0,16-17	0,2-8,3	0,35-10,9
TSM (mg l^{-1})	52-2013	29-338	18-443	39-706	24-1095	17-362	4-460	4-187
CH4 (nmol l^{-1})	5,7-22,4	46,3-675,6	13,1-319,3	12,7-113,5	33,5-12290	10,9-2500	9,5-3069	166-7697
N2O (nmol l^{-1})	6,7-22,8	5,9-53,02	0,1-12,1	1,4-10,9	6,3-30,7	6,2-12,9	4,7-23	2-10,7

Tabla 2. Rango de variación de las variables biogeoquímicas medidas en las marismas inundadas del P.N. de Doñana durante los 16 muestreos llevados a cabo entre marzo de 2016 y marzo de 2018. (DIN corresponde a la totalidad de los compuestos nitrogenados inorgánicos disueltos).

Table 2. Variation range of the biogeochemical variables measured in the flooded marshes of Doñana NP during the 16 samplings carried out between March 2016 and March 2018. (DIN denotes dissolved inorganic nitrogen compounds).

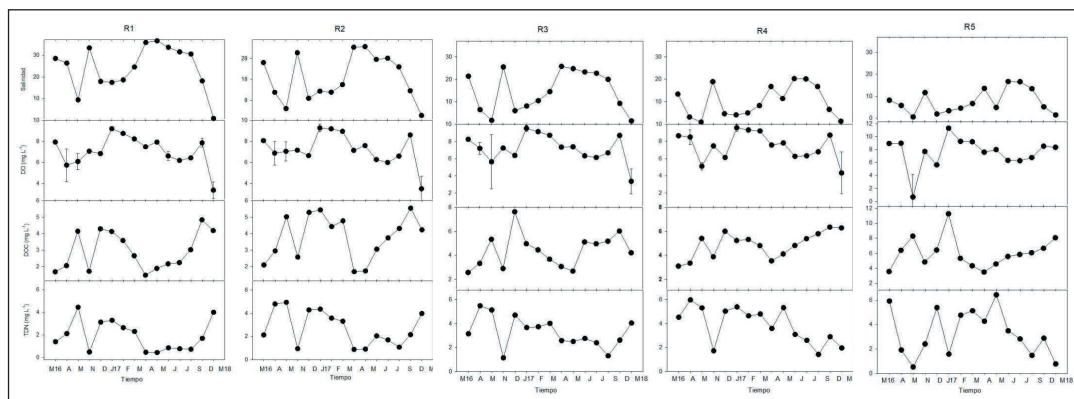


Figura 4. Variación temporal de la salinidad y de las concentraciones de oxígeno disuelto (DO), carbono orgánico disuelto (DOC) y nitrógeno total disuelto (TDN) en las estaciones del estuario durante los muestreos llevados a cabo entre marzo de 2016 y marzo de 2018. Nótese que la escala del eje Y varía para ciertas variables en las distintas estaciones.

Figure 4. Temporal variation of salinity and concentration of dissolved oxygen, organic carbon and total dissolved nitrogen, at the sites sampled along the estuary during the surveys conducted between March 2016 and March 2018. Note that Y axis scale for several parameters varies for several parameters and for different sites.

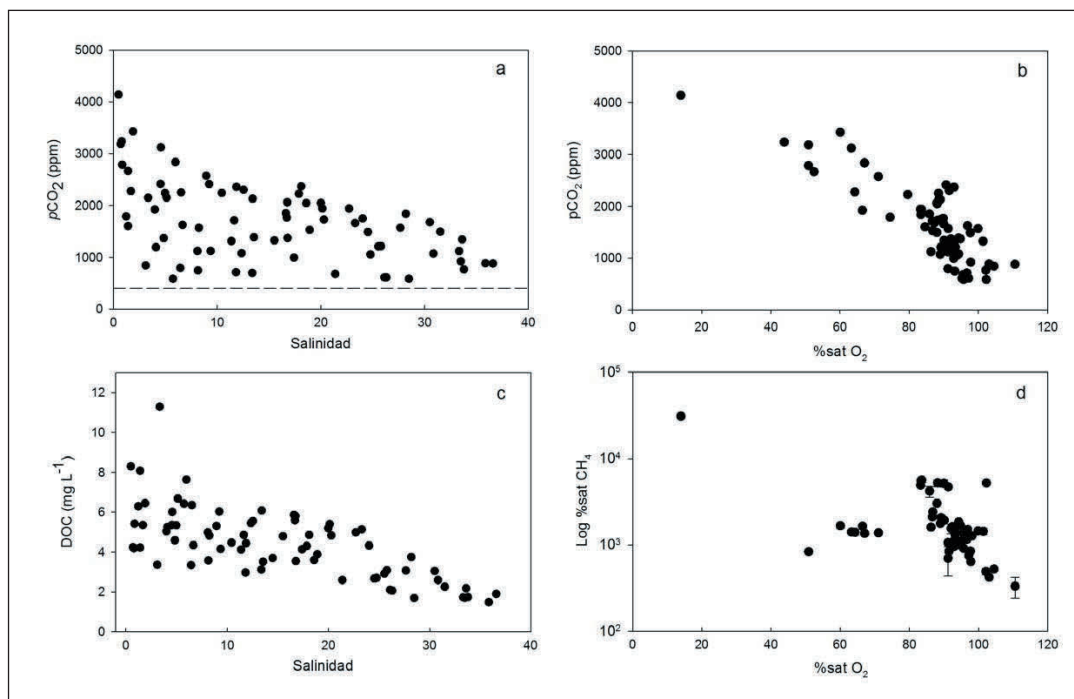


Figura 5. Dióxido de carbono disuelto ($p\text{CO}_2$) frente a salinidad (a) y al porcentaje de saturación de oxígeno disuelto ($\% \text{satO}_2$) (b), carbono orgánico disuelto (DOC) frente salinidad (c) y logaritmo(10) del porcentaje de saturación de metano disuelto ($\text{Log} \% \text{satCH}_4$) frente a $\% \text{satO}_2$ (d) en el transecto del estuario del Guadalquivir considerado en este estudio.

Figure 5. Dissolved carbon dioxide ($p\text{CO}_2$) vs. salinity (a) and vs. percent dissolved O_2 saturation ($\% \text{satO}_2$) (b), dissolved organic carbon (DOC) vs. salinity (c) and \log_{10} percent dissolved methane saturation ($\text{Log} \% \text{satCH}_4$) vs. ($\% \text{satO}_2$) in the Guadalquivir estuary transect.

	CH ₄	N ₂ O	T	S	Chl _a	TSM	DOC	TDN	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	PO ₄ ³⁻	NO ₃ ⁻	pCO ₂	AOU
CH ₄		-0,13	0,35***	-0,11	0,86***	0,28**	0,50***	0,34***	-0,01	0,08	0,43***	-0,08	0,31**	-0,16
N ₂ O			-0,36***	-0,03	-0,14	-0,02	-0,4***	0,19*	0,15	0,29**	-0,06	0,82***	-0,04	0,07
T				0,14	0,40***	0,24*	0,47***	0,29**	-0,14	-0,04	0,35**	-0,13	0,08	-0,35***
S					0,00	0,40***	0,34***	0,38***	-0,08	-0,04	-0,13	0,04	-0,24*	-0,09
Chl _a						0,43***	0,64***	0,51***	0,00	0,15	0,6***	-0,08	0,06	-0,29**
TSM							0,42***	0,43***	-0,05	0,05	0,25**	0,07	-0,07	0,06
DOC								0,69***	0,03	0,04	0,50***	-0,30**	-0,02	-0,31**
TDN									0,40***	0,48***	0,40***	0,39***	-0,06	-0,25*
NH ₄ ⁺										0,76***	0,06	0,22*	-0,02	0,02
NO ₂ ⁻											0,20	0,43***	0,02	0,02
PO ₄ ³⁻												0,04	0,01	-0,04
NO ₃ ⁻													0,07*	0,14
pCO ₂														0,50***

*Correlaciones significativas a 0,01<p<0,05.

**Correlaciones significativas a 0,001<p<0,01.

***Correlaciones significativas a p<0,0001.

Tabla 3. Matriz de correlación Pearson entre las variables biogeoquímicas medidas en las marismas inundadas durante los 16 muestreos llevados a cabo entre marzo de 2016 y marzo de 2018. Las abreviaturas se indican en el texto.

Table 3. Pearson correlation matrix for biogeochemical variables measured in Doñana salt marshes. The values were obtained with the database collected in the flooded marshes during the 16 surveys conducted between March 2016 and March 2018. Abbreviations are indicated in the text.

categorizaron como marismas polihalinas, mientras que S5:S7 (Caños del Buen Tiro, del Cherry y Lucio del Cangrejo Grande) formaron un grupo de marismas oligo-mesohalinas. Por su parte, las marismas bañadas por el Guadiamar (S8) fueron netamente de carácter oligohalino (Tabla 2). También se observaron claras variaciones temporales en la mayoría del resto de variables en todas las estaciones durante los diferentes muestreos (Tabla 2). En función de los valores de Chl_a, las marismas polihalinas se comportaron como mesotróficas mientras que las oligo-mesohalinas como eutróficas (Tabla 2). En el caso de DOC y nutrientes (PO₄³⁻ y nitrogenados), también se encontraron niveles mayores en S5:S7. Las marismas inundadas siempre estuvieron bien oxigenadas y no se detectó hipoxia durante los muestreos, manteniéndose los niveles de DO por encima de 5 mg l⁻¹ (Tabla 2), lo cual puede atribuirse a la presencia de la elevada biomasa de fitoplancton. De hecho, los resultados de la matriz de correlación de Pearson realizada con el conjunto de datos completo de las variables medidas en las marismas (Tabla 3) confirmaron que la concentración de Chl_a se correlacionó negativa y significativamente con el AOU y, por tanto, se

relacionó directamente con la concentración de DO. Además, las correlaciones encontradas entre la concentración de clorofila y los niveles de fosfatos, y DOC indicaron una eficiente producción primaria en estos ambientes (Tabla 3). Puesto que, aparte de la precipitación, el único aporte de agua a esta zona de la Marisma es el estuario, el aumento de la salinidad refleja la entrada efectiva de las aguas del estuario por las mareas, como ya se puso de manifiesto visualmente (Fig. 2). Por otra parte, las relaciones entre la salinidad y TSM, DOC y TDN fueron positivas y estadísticamente significativas, lo que sugiere que la materia disuelta y suspendida en las marismas pudo tener, al menos parcialmente, un origen fluvial (Tabla 3). La productividad biológica contribuyó a que las marismas aledañas al río actuaran como sumideros de CO₂ atmosférico durante una gran parte del periodo de estudio (Fig. 6a).

La acumulación de materia orgánica disuelta, con independencia de su origen, se relacionó con un incremento en los niveles de metano disuelto (Tabla 3), posiblemente debido a su efecto potenciador sobre la metanogénesis sedimentaria, aunque la temperatura fue el princi-

pal factor regulador de este proceso (Tabla 3 y Fig. 6b). De hecho, a pesar de que se detectaron

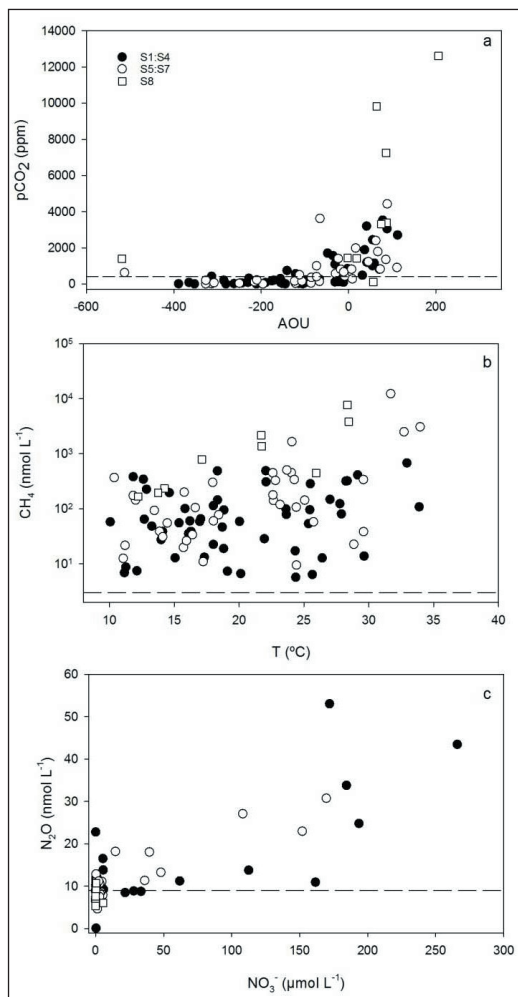


Figure 6. Dióxido de carbono disuelto ($p\text{CO}_2$) frente a utilización aparente de oxígeno (AOU) (a), concentración de metano disuelto frente a temperatura (b), y concentración de óxido nítrico disuelto frente a concentración de nitrato (c) en las marismas inundadas del P.N. de Doñana (círculos negros: polihalinas, círculos blancos: oligomesohalinas, cuadrados blancos: inundadas por el Guadamar). Las líneas horizontales corresponden al promedio de la concentración de cada gas disuelto en equilibrio con la atmósfera durante el periodo de estudio. Más detalles en el texto.

Figure 6. Dissolved carbon dioxide ($p\text{CO}_2$) vs. apparent oxygen utilization (AOU) (a), dissolved methane concentration vs. temperature (b), and dissolved nitrous oxide concentration vs. nitrate (c) in inundated saltmarshes of Doñana NP. The dash lines denote the average concentration of each dissolved gas in equilibrium with the atmosphere during the sampling period. More details are given in the text.

emisiones de CH₄ desde las marismas inundadas durante todos los meses de muestreo, los flujos más elevados se observaron en verano. Por otro lado, la magnitud de las emisiones fue cinco órdenes superior en las marismas oligo-mesohalinas que en las polihalinas, como consecuencia directa de mayores aportes de biomasa fitoplanctónica y del efecto inhibitorio del ion sulfato procedente de las aguas salinas entrantes por el flujo mareal (Fig. 6b). Por el contrario, las concentraciones de N₂O fueron, en general, más moderadas que en el caso del CH₄ y de manera global, los ecosistemas considerados estuvieron subsaturados en este gas en relación a los niveles atmosféricos (Figs. 6c). Las marismas bañadas por el cauce del Guadamar (S8) incluso actuaron de manera casi permanente como sumideros de N₂O (Fig. 6c y Tabla 2). Estas bajas concentraciones de N₂O (Fig. 6c) pueden relacionarse directamente con mecanismos de oxidación de compuestos nitrogenados en ambientes anóxicos como la reducción disimilatoria del nitrato a amonio (RDNA), que compete con la denitrificación por un sustrato común, el nitrato, pero que en lugar de retirar N del sistema en forma de N₂O y N₂, lo regenera en una forma biodisponible como es el amonio. En los sistemas con una concentración de N₂O mayor que la atmosférica, la relación significativa y positiva entre NO₃⁻ y N₂O (Tabla 3) indica reacciones de nitrificación. Niveles elevados de nitratos se detectaron en los caños de entrada directa del estuario (S2 y S5) (Fig. 6c y Tabla 2) y durante picos de descargas de agua dulce desde la presa. En esos momentos, se apreciaron las concentraciones más altas de N₂O (particularmente en los caños de Brenes y Buen Tiro, Fig. 6c), en concordancia con el proceso diagnosticado en el estuario.

DISCUSIÓN

El análisis de observaciones previas recopiladas antes de la ejecución de las acciones de permeabilización permitió concluir que durante la etapa de aislamiento de la Marisma, las características del ciclo hidrológico determinaban el grado de heterotrofia de los sistemas inundados (HUERTAS *et al.* 2017). Así, cuando el balance entre el patrón de precipitación y la evapotranspiración

governaba el nivel de inundación, al no existir drenaje al estuario, ciclos muy húmedos favorecerían la elevada acumulación de nutrientes con la consiguiente proliferación de autótrofos acuáticos. El confinamiento prolongado del agua provocaba la degradación gradual de la materia orgánica tanto alóctona como la generada durante floraciones de fitoplancton, que desembocaba en condiciones de hipoxia y elevadas emisiones de CO₂ a la atmósfera. Durante ciclos secos, los procesos metabólicos de producción y consumo de materia orgánica disminuían y, por tanto, la exportación de carbono se reducía significativamente (en 1/5 aproximadamente) (HUERTAS *et al.* 2017). Sin embargo, a pesar de que las condiciones biogeoquímicas acuáticas mejoraban en los sistemas parcialmente inundados, periodos prolongados de sequía conducían a la práctica desaparición de zonas húmedas en las marismas adyacentes al estuario, con el consiguiente perjuicio ecológico para el conjunto del ecosistema.

La penetración efectiva de las aguas del Guadiamar y del estuario del bajo Guadalquivir en la Marisma se apreció visualmente a lo largo del desarrollo del proyecto, lo cual puso de manifiesto a la efectividad de las acciones de permeabilización, al menos bajo condiciones de mareas vivas (Fig. 2). Las entradas fluviales causaron variaciones claras en la salinidad de las marismas inundadas (Tabla 2) y se evidenciaron en las huellas isotópicas del nitrógeno medidas en plantas halófilas, cuyos valores indicaban aportes asociados a residuos de carácter antropogénico (ver ROMAGNOLI 2018), coincidiendo con las conclusiones de un estudio coetáneo (PAREDES *et al.* 2019). La llegada de los aportes a la Marisma desde los cauces vertientes adyacentes también se reflejó en una evidente variabilidad espacio-temporal de las propiedades biogeoquímicas analizadas en los sistemas inundados (Tabla 2).

La evaluación de la dinámica de procesos biogeoquímicos en estuarios y en ambientes bajo su influencia (marismas y manglares) resulta compleja debido a la marcada variabilidad de los mecanismos que en ellos se desarrollan (fluctuaciones mareales, niveles de inundación, patrones meteorológicos, etc), los cuales afectan a la distribución del carbono y nitrógeno y, por ende, a los ciclos de estos elementos (WELTI *et al.* 2017). No

obstante, la estrategia observacional implementada en el marco del proyecto permitió abarcar diversas fuentes de variabilidad, y obtener una aproximación lo suficientemente robusta sobre el estado ecosistémico de las marismas inundadas durante el periodo de muestreo. A través de investigaciones previas, se tenía constancia de que los procesos biogeoquímicos en el estuario del Guadalquivir estaban gobernados por la relación entre el patrón de precipitaciones y el flujo mareal que regulan la hidrodinámica del sistema y su estado metabólico (RUIZ *et al.* 2015; FLECHA *et al.* 2015). El estudio efectuado en el estuario en el marco del proyecto confirmó las conclusiones de dichos trabajos (Figs. 4-5) pero además demostró que en el cauce dominan reacciones de nitrificación que causan la elevada carga de nitratos presente en las aguas del estuario (Fig. 3), siendo este mecanismo igualmente dependiente del balance entre la descarga de agua dulce y la intrusión de la lengua salina (HUERTAS *et al.* 2018). Este análisis fue fundacional puesto que permitió caracterizar por primera vez la distribución espacio-temporal de gases de efecto invernadero distintos al CO₂ en el estuario. Esto llevó a identificar al sistema como un potente emisor de metano a la atmósfera y como una fuente moderada de óxido nitroso, siendo las condiciones termohalinas y la concentración de nitratos los principales reguladores de la metanogénesis y nitrificación respectivamente (Figs. 3-4 y HUERTAS *et al.* 2018).

La penetración de las aguas del estuario y del Guadiamar en las marismas de Doñana adyacentes a ambos cauces supuso una fertilización de las mismas, según indicaron los niveles de nutrientes encontrados (Tabla 3) y las huellas isotópicas del carbono y nitrógeno (ROMAGNOLI 2018). Estas entradas favorecieron los procesos de producción primaria por parte de la comunidad fotoautótrofa acuática, con la consiguiente oxigenación de la columna de agua (Tabla 3) y el descenso de heterotrofia en relación a la descrita previamente a la permeabilización durante ciclos hidrológicos similares (HUERTAS *et al.* 2017). Así mismo, los aportes fluviales contribuyeron posiblemente a la disminución de reacciones de metanogénesis y nitrificación (Figs. 5-6). La degradación de la materia orgánica, tanto de origen autóctono generada por el fitoplancton (según se desprende de la asociación encontrada entre la Chl a, DOC y PO₃⁴⁻

, Tabla 3) como la autóctona proveniente del estuario (según la relación entre S, DOC y TSM, Tabla 3), reguló la dinámica metabólica en las marismas inundadas. El acoplamiento observado entre $p\text{CO}_2$, S, AOU, y CH_4 (Tabla 3 y Fig. 6) apoya esta conclusión y coincide con la tendencia descrita en humedales costeros influenciados por la marea (WELTI *et al.* 2017; BORGES *et al.* 2017; UPSTILL-GODDARD *et al.* 2017). De hecho, la asociación encontrada entre el dióxido de carbono y el metano es bastante frecuente (BORGES *et al.* 2018; ROSENTERETER *et al.* 2018) y denota un sustrato común y una dinámica de producción similar, ya que ambos gases se originan a través de la respiración de compuestos orgánicos. Las elevadas temperaturas presentes durante los últimos meses de la primavera y el verano provocaron posiblemente un aumento de la actividad microbiana y una mayor producción primaria (Chl a y T se correlacionaron positiva y significativamente, Tabla 3), lo que condujo a altos niveles de materia orgánica, y con ello, a una mayor disponibilidad de sustrato para su posterior degradación. La elevada carga de material en suspensión que posee el estuario (FLECHA *et al.* 2015) y parte de la cual accedió a las marismas, también proporcionaría una mayor deposición de limo, el cual favorece la generación y emisión de metano desde los sedimentos. El patrón entre TSM, S y CH_4 apoya esta asunción, particularmente en las marismas mesohalinas (HUERTAS *et al.* 2019). No obstante, la entrada periódica de aguas salobres, aparte del efecto físico sobre la dilución de compuestos, causó oxigenación e inhibición de metanogénesis.

Por ello, las acciones de permeabilización potenciaron el servicio ecosistémico de la Marisma en el intercambio de CO_2 con la atmósfera, ya que las nuevas condiciones biogeoquímicas disminuyen las emisiones de este gas desde sistemas inundados. Por otra parte, los resultados confirman la noción clásica que atribuye a las marismas el papel de filtradores naturales de las aguas que reciben. En este caso, se redujo la carga de nutrientes (fundamentalmente la de los compuestos nitrogenados) en los aportes fluviales, que fueron incorporados por los autótrofos acuáticos (incluidas plantas superiores, ROMAGNOLI 2018; PAREDES *et al.* 2019) o depositados junto al material en suspensión. La contribución a la retirada de nutrientes y su almacenamiento definitivo en

los sedimentos no se ha cuantificado en nuestro estudio, ya que requeriría un análisis exhaustivo del compartimento bentónico. Sin embargo, el secuestro de componentes nitrogenados disueltos desde la fase acuática al sedimento se ha descrito en otros sistemas similares a las marismas de Doñana (JORDAN *et al.* 2003; SADERNE *et al.* 2020) y, por tanto, su presencia en ellas es factible. Pero, además, las zonas que recibieron los aportes desde el estuario y el cauce del Guadiamar brindan ahora un nuevo servicio ecosistémico al convertirse en sumideros de N_2O (Fig. 6c), gas con mayor poder radiativo que el CO_2 (IPCC, 2014). Las elevadas concentraciones de oxígeno junto con los niveles de DIN y de TDN, substancialmente más bajos que los detectados en el estuario, restaron disponibilidad de sustratos nitrogenados desencadenando mecanismos microbiológicos para suplir la demanda de N del ecosistema y que disminuyen la presencia de N_2O . Entre estos mecanismos se encuentran la desnitrificación o la RDNA que pueden operar simultáneamente aunque su importancia relativa está condicionada por factores ambientales. Así, la RDNA se halla favorecida por elevadas concentraciones de DOC, disminución en la disponibilidad de NO_3^- y temperaturas altas (MARCHANT *et al.* 2014). Los ecosistemas en los que predomina la RDNA tienen una menor pérdida de N, y como resultado una mayor preservación de este elemento en el sistema (GIBLIN *et al.* 2013). El estudio de estos mecanismos hasta ahora se había centrado en relación al ciclo del nitrato en sedimentos y su significado ecológico en la conservación de N en el ecosistema, pero recientemente, gracias al desarrollo de técnicas en continuo de análisis de N_2O y su composición isotópica en la columna de agua, se ha puesto de manifiesto su contribución a la retirada de N_2O desde la atmósfera en manglares inundados periódicamente por el flujo mareal (MAHER *et al.* 2016). El escalado regional de la tendencia observada en nuestro estudio puede convertir a la Marisma de Doñana en un considerable secuestrador de este gas.

Por tanto, la penetración de aguas del estuario del Guadalquivir tanto por rebosamiento como a través de compuertas y del Guadiamar, han redundado en una mejora sobre las condiciones de heterotrofia de las marismas inundadas con respecto a la etapa previa de aislamiento. Los

eventos puntuales de eutrofización que se detectaron en el interior de los caños y en momentos concretos, coincidieron con un aumento en los aportes de agua dulce desde el estuario (Figs. 4 y 6 y HUERTAS *et al.* 2019). No obstante, es preciso tener en cuenta que el proyecto se ha desarrollado durante ciclos hidrológicos normales-secos. Durante ciclos húmedos, las tendencias encontradas indican que debe mantenerse un flujo de agua saliente desde la Marisma al río que permita un eficiente drenaje de la misma. Ello evitaría el desarrollo de los procesos heterotróficos como los registrados en el pasado, que incluso puedan verse exacerbados ahora por la llegada de grandes avenidas desde los cauces del Guadiamar y Guadalquivir, fundamentalmente desde este último en el que dominan la heterotrofia e hipoxia ante elevadas descargas desde la presa de Alcalá del Río (RUIZ *et al.* 2015).

Los humedales de Doñana se encuentran bajo la amenaza del cambio climático y de factores locales asociados a actividades antropogénicas (GREEN *et al.* 2017). En la región climática mediterránea se han proyectado temperaturas mínimas más altas, eventos de temperaturas elevadas extremas en verano y menos precipitaciones para fines del siglo XXI (IPCC 2014). No es posible anticipar cómo el calentamiento y sequías esperados afectarán la dinámica de los procesos biogeoquímicos en el complejo de

ecosistemas formado por el estuario y las marismas. El aumento de las temperaturas puede acelerar la producción biológica, afectando así a la fijación y generación de C a diferentes ritmos, pero un aumento en la intrusión salina asociada al incremento del nivel del mar puede así mismo influenciar en gran medida los ciclos del N y C. Se requiere por ello, observaciones precisas sostenidas en el tiempo sobre la evolución de la biogeoquímica de las marismas inundadas y que aporten conocimiento científico sólido a las instituciones responsables de la gestión de este emblemático humedal costero, con el fin de minimizar el impacto global del cambio climático y el local asociado a actividades humanas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al OAPN la financiación de los proyectos 1539/2015 y 049-2010 y al personal del END su asistencia logística. Maria Ferrer Marco, Antonio Moreno, Marta Riera y Manuel Arjonilla participaron activamente en la recolección y análisis de muestras. MdP agradece la financiación del proyecto CTM2015-74510-JIN del Ministerio de Economía y Competitividad. Las instituciones financiadoras no jugaron ningún papel en el diseño del estudio, la recolección de datos y su análisis, publicación o preparación del manuscrito.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁLVAREZ-SALGADO, X. A., & MILLER, A. E. J. 1998. Simultaneous determination of dissolved organic carbon and total dissolved nitrogen in seawater by high temperature catalytic oxidation: conditions for precise shipboard measurements. *Marine Chemistry* 62 (3–4), 325–333.
- BENSON, B. B. & KRAUSE, D. 1984. The concentration and isotopic fractionation of oxygen dissolved in freshwater and seawater in equilibrium with the atmosphere. *Limnology and Oceanography* 29(3), 620–632.
- BORGES, A. V., SPEECKAERT, G., CHAMPENOIS, W., SCRANTON, M. I. & GYPENS, N. 2017. Productivity and temperature as drivers of seasonal and spatial variations of dissolved methane in the southern bight of the North Sea. *Ecosystems* doi: 10.1007/S10021-017-0171-7
- BORGES, A. V., ABRIL, G., & BOUILLON, S. 2018. Carbon dynamics and CO₂ and CH₄ outgassing in the Mekong delta. *Biogeochemistry* 15, 1093–1114.
- CAI, W. J. & WANG, Y. 1998. The chemistry, fluxes, and sources of carbon dioxide in the estuarine waters of the Satilla and Altamaha Rivers, Georgia. *Limnology and Oceanography* 43(4): 657–668.
- CALL, M., MAHER, D. T., SANTOS, I. R., RUIZ-HALPERN, S., MANGION, P., ET AL. 2015. Spatial and temporal variability of carbon dioxide and methane fluxes over semi-diurnal and spring–neap–spring timescales in a mangrove creek. *Geochimica Cosmochimica Acta* 150, 211–225.
- ČÍŽKOVÁ, H., KVĚT, J., COMÍN, F. A., LAIHO, R., POKORNÝ, J., & PITHART, D. 2013. Actual state of European wetlands and their possible future in the context of global climate change. *Aquatic Sciences* 75(1), 3–26.
- COLE, J. J. & CARACO, N. F. 1998. Atmospheric exchange of carbon dioxide in a lowwind oligotrophic lake measured by the addition of SF₆. *Limnology and Oceanography* 43(4): 647–656.
- CUSTODIO, E., MANZANO, M., & MONTES, C. 2009. Las aguas subterráneas en Doñana: aspectos ecológicos y sociales. Sevilla, Spain: Agencia Andaluza del Agua, Consejería de Medio Ambiente.
- DE LA PAZ, M., HUERTAS, I. E., FLECHA, S., RÍOS, A. F. & PÉREZ, F. F. 2015. Nitrous oxide and methane in Atlantic and Mediterranean waters in the Strait of Gibraltar: Air-sea fluxes and inter-basin exchange. *Progress in Oceanography* 138, Part A, 18–31.
- DÍAZ-DELGADO, R., ARAGONÉS, D., AFÁN, I., & BUSTAMANTE, J. 2016. Long-Term Monitoring of the Flooding Regime and Hydroperiod of Doñana Marshes with Landsat TimeSeries (1974–2014). *Remote Sensing* 8(9):775.
- DICKSON, A. G. 1990. Standard potential of the reaction: $\text{AgCl(s)} + 1/2\text{H}_2\text{(g)} = \text{Ag(s)} + \text{HCl(aq)}$, and the standard acidity constant of the ion HSO_4^- in synthetic sea water from 273.15 to 318.15 K. *Journal of Chemical Thermodynamics* 22, 113–127.
- DÍEZ-MINGUITO, M., CONTRERAS, E., POLO, M. J., & LOSADA, M. A. 2013. Spatio-temporal distribution, along-channel transport, and post-riverflood recovery of salinity in the Guadalquivir estuary (SW Spain). *Journal of Geophysical Research: Oceanography* 118(5), 2267–2278.
- FLECHA, S., HUERTAS, I. E., NAVARRO, G., MORRIS, E. & RUIZ, J. 2015. Air–water CO₂ fluxes in a highly heterotrophic estuary. *Estuaries and Coasts* 38(6), 2295–2309.
- GIBLIN, A. E., TOBIAS, C. R., SONG, B., WESTON, N., BANTA, G. T., & RIVERA-MONROY, V. H. 2013. The importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) in the nitrogen cycle of coastal ecosystems. *Oceanography* 26(3), 124–131. doi:10.5670/oceanog.2013.54.
- GRASSHOFF, K., ERHARDT, M., & KREMLING, K. 1983. *Methods of Seawater Analysis*. 2. *Acta hydrochimica hydrobiologica* 14(1), 79–80. doi:10.1002/ahch.19860140112.
- GREEN, A. J., ALCORLO, P., PEETERS, E. T. H. M., ET AL. 2017. Creating a safe operating space for wetlands in a changing climate. *Frontiers in Ecology and the Environment* doi:10.1002/fee.1459.
- HUERTAS, I. E., FLECHA, S., FIGUEROLA, J., COSTAS, E. & MORRIS, E. P. 2017. Effect of hydroperiod on CO₂ fluxes at the air–water interface in the Mediterranean coastal wetlands of Doñana. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* doi: 10.1002/2017JG003793.
- HUERTAS, I. E., FLECHA, S., NAVARRO, G., PÉREZ, F. F., & DE LA PAZ, M. 2018. Spatio-temporal variability and controls on methane and nitrous oxide in the Guadalquivir Estuary, Southwestern Europe. *Aquatic Sciences* doi: 10.1007/s00027-018-0580-5.
- HUERTAS, I. E., DE LA PAZ, M., NAVARRO, G., PÉREZ, F. F., & FLECHA, S. 2019. Methane emissions from the salt marshes of Doñana wetlands: spatio-temporal variability and controlling factors. *Frontiers in Ecology and Evolution* doi:10.3389/fevo.2019.00032.
- IPCC, 2014. *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Core Writing Team, R. K. Pachauri and L. A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.
- JORDAN, T. E., WHIGHAM, D. F., HOFMOCKEL, K. H., & PITTEK, M. A. 2003. Nutrient and sediment removal by a restored wetland receiving agricultural runoff. *Journal of Environmental Quality* 32, 1534–1547.

- LEWIS, E., WALLACE, D., & ALLISON, L. J. 1998. Program developed for CO₂ system calculations. Carbon Dioxide Information Analysis Center, managed by Lockheed Martin Energy Research Corporation for the US Department of Energy.
- MAHER, D., SIPPO, J., TAIT, D., HOLLOWAY, C. & SANTOS, I. R. 2016. Pristine mangrove creek waters are a sink of nitrous oxide. *Scientific Reports* 6, 25701.
- MARCHANT, H. K., LAVIK, G., HOLTAPPELS, M., & KUYPERS, M. M. M. 2014. The Fate of Nitrate in Intertidal Permeable Sediments *PLOS ONE* 9(8), e104517.
- MINTROP, L., PEREZ, F. F., GONZALEZ-DAVILA, M., SANTANA-CASIANO, J. M. & KORTZINGER, A. 2000. Alkalinity determination by potentiometry: Intercalibration using three different methods. *Ciencias Marinas* 26:23–27.
- MORRIS, E. P., FLECHA, S., FIGUEROA, J., COSTAS, E., NAVARRO, G., ET AL. 2013. Contribution of Doñana Wetlands to Carbon Sequestration. *PLoS ONE* 8(8): e71456. doi:10.1371/journal.pone.0071456.
- PAREDES, I., RAMÍREZ, F., FORERO, M. G., & GREEN, A. J. 2019. Stable isotopes in helophytes reflect anthropogenic nitrogen pollution in entry streams at the Doñana World Heritage Site. *Ecological Indicators* 97,130-140.
- ROSENRETER, J. A., MAHER, D. T., ERLER, D. V., MURRAY, R., & EYRE, B. D. 2018. Factors controlling seasonal CO₂ and CH₄ emissions in three tropical mangrove-dominated estuaries in Australia. *Estuarine Coastal and Shelf Sciences* 215, 69–82.
- ROMAGNOLI, B. 2018. Influence of Guadalquivir estuary on aquatic biogeochemistry and isotopic signature of the saltmarshes of Doñana National Park (SW Spain). Master Thesis. Universidad de Bolonia
- RUIZ, J., POLO, M. J., DIEZ-MINGUITO, M., NAVARRO, G., MORRIS, E. P., ET AL. 2015. The Guadalquivir estuary: A hot spot for environmental and human conflict. En: *Environmental Management and Governance: Advances in Coastal and Marine Resources*, Coastal Research Library 8, C. W. Finkl & C. Makowski (eds.), Springer International Publishing Switzerland.
- SADERNE, V., CUSACK, M., SERRANO, O., ALMAHASHEER, H., KRISHNAKUMAR, ET AL. 2020. Role of vegetated coastal ecosystems as nitrogen and phosphorous filters and sinks in the coasts of Saudi Arabia. *Environmental Research Letters* 15,034058. doi:10.1088/1748-9326/ab76da
- SERRANO MARTÍN, L., ESQUIVIAS SEGURA, M. P., & ZUNZUNEGUI, M. 2008. Long-term hydrological changes over a seventeen-year period in temporary ponds of the Doñana NP (SW Spain). *Limnetica* 27, 65–77.
- SMITH, S. D. 1988. Coefficients for sea surface wind stress, heat flux, and wind profiles as a function of wind speed and temperature. *Journal of Geophysical Research: Oceanography* 93(C12),15467-15472.
- UPSTILL-GODDARD, R. C., M. E. SALTER, P. J. MANN, J. BARNES, J. POULSEN, B. ET AL. 2017. The riverine source of CH₄ and N₂O from the Republic of Congo, western Congo Basin. *Biogeosciences* 14(9), 2267.
- URDIALES, C., GARCÍA DÍAZ, D., VALERO LANCHO, A., & FERNÁNDEZ PALACIOS, J. M. 2010. Seguimiento de la inundación en la marisma de Doñana: resultados del ciclo 2009/2010 y efecto del dique de la Montaña del Río en el proceso de inundación. En: Ojeda, J., Pita, M. F. y Vallejo, I. (Eds.), *Tecnologías de la Información Geográfica: La Información Geográfica al servicio de los ciudadanos*. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla. Sevilla. Pp. 1.146-1.156. ISBN:978-84-472-1294-1.
- WANNINKHOF, R. 1992. Relationship between wind speed and gas exchange. *Journal of Geophysical Research* 97(25), 7373-7382.
- WEISS, R. F. & PRICE, B. A. 1980. Nitrous oxide solubility in water and seawater. *Marine Chemistry* 8,347-359 doi:10.1016/0304-4203(80)90024-9.
- WELT, N., HAYES, M., & LOCKINGTON, D. 2017. Seasonal nitrous oxide and methane emissions across a subtropical estuarine salinity gradient. *Biogeochemistry* 132, 55–69. doi: 10.1007/s10533-016-0287-4.
- WIESENBERG, D. A., & GUINASSO JR, N. L. 1979. Equilibrium solubilities of methane, carbon monoxide, and hydrogen in water and sea water. *Journal of Chemical Engineering Data* 24 (4), 356–360.
- ZORRILLA-MIRAS, P., PALOMO, I., GÓMEZ-BAGGETHUN, E., MARTÍN-LÓPEZ, B., LOMAS, P. L. & MONTES, C. 2014. Effects of land-use change on wetland ecosystem services: A case study in the Doñana marshes (SW Spain). *Landscape and Urban Planning* 122, 160–174.