

## Ciclos biogeoquímicos en humedales con diferente grado de eutrofización y su relación con factores de cambio climático: resultados experimentales en mesocosmos

M.C. Tercero-Gómez<sup>(1)</sup>, J. Álvarez-Rogel<sup>(1)</sup>, M.N. González-Alcaraz<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Departamento de Ciencia y Tecnología Agraria. Área de Edafología y Química Agrícola. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica-UPCT. Paseo Alfonso XIII, 48, Cartagena, 30203 Murcia, España. [carmen.tercero@upct.es](mailto:carmen.tercero@upct.es)

<sup>(2)</sup> Department of Ecological Science Faculty of Earth and Life Sciences VU University, De Boelelaan 1085 1081, HV Amsterdam, The Netherlands.

### RESUMEN

La presente propuesta de Tesis se centra en el estudio de procesos microbiológicos y biogeoquímicos ligados a ciclos del carbono y nutrientes en el sistema planta-suelo-agua de humedales afectados por aguas con diferente grado de eutrofización, a fin de determinar en qué medida la presencia o no de planta, la carga de nutrientes y los periodos de inundación-desección influyen en la capacidad de estos sistemas para secuestrar carbono y actuar, al mismo tiempo, como filtros verdes y si esta función afecta a la producción de gases de efecto invernadero ( $N_2O$ ,  $CO_2$  y  $CH_4$ ). El experimento se realizará en mesocosmos experimentales sometidos a periodos de inundación-desección con dos aguas de diferente composición, una con alta carga de nutrientes y otra con baja carga. Se harán tres repeticiones por tratamiento: sin planta+baja carga de nutrientes; sin planta+alta carga de nutrientes; con planta+baja carga de nutrientes y con planta+alta carga de nutrientes. La utilizada elegida será *Phragmites australis*. Se medirá regularmente Eh, pH y temperatura del suelo y paralelamente se extraerá la solución edáfica para el análisis de N, P, C y metales. Se tomaran muestras de suelo para el análisis químico y microbiológico. Se cogerán muestras de los gases emitidos desde la superficie para la determinación de las concentraciones de  $N_2O$  y  $CH_4$  y se medirá "in situ" el  $CO_2$  desprendido. Además, se cuantificaran y analizarán los drenajes, recogidos tras cada período de inundación, y también se estudiará la descomposición de hojarasca mediante bolsitas de hojarasca.

**Palabras clave:** Filtros verdes; gases efecto invernadero; *Phragmites australis*; desnitrificación

### 1. Introducción

El papel que desempeñan los humedales frente a la contaminación por excesos de nutrientes en suelos y aguas es objeto de investigación desde hace décadas. Los suelos, generalmente de textura fina, la elevada biomasa vegetal y las reducidas tasas de mineralización de la materia orgánica a causa de la hidromorfía y la salinidad, confieren a estos ambientes una elevada capacidad de fijación de sustancias. Numerosas experiencias han demostrado su efectividad en la retención de excesos de nutrientes, por lo que los humedales se han considerado como filtros naturales, al depurar las aguas antes de que se viertan a los cauces principales o al mar, lo que proporciona evidentes beneficios sin que se requieran más inversiones que la adecuada conservación y manejo del propio ecosistema (de

ahí que muchas veces se les denomine *filtros verdes*).

Pero hay que tener en cuenta que los humedales son una de las principales fuentes emisoras de gases de efecto invernadero ( $N_2O$ ,  $CH_4$  y  $CO_2$ ). Por un lado, cuando los suelos están saturados los procesos de respiración anaerobia de los microorganismos llevan a la emisión de  $N_2O$  y  $CH_4$ , siendo escasa la emisión de  $CO_2$ . Por el contrario, cuando los humedales se drenan se produce la estimulación de la respiración aerobia y como consecuencia se dan picos de emisión de  $CO_2$ . En este sentido, conocer el balance de carbono fijado como  $CO_2$  frente al emitido como  $CO_2$  y como  $CH_4$  ayuda a valorar si los humedales están actuando como sumideros o emisores de carbono. Igualmente, conocer el balance entre la cantidad de  $NO_3^-$  y fósforo retirados de un agua eutrofizada y el  $N_2O$  emitido en los procesos de

respiración anaerobia ayuda a valorar en qué medida los aspectos negativos de estos sistemas pueden verse o no compensados por los positivos.

La Marina del Carmolí, un saladar perteneciente al término municipal de Cartagena (Murcia), es el mayor humedal de la costa del Mar Menor. A él van a parar diversos cauces cuyas aguas están eutrofizadas por exceso de nutrientes [1] que se van perdiendo al fluir a través del humedal [2,3], de manera que cuando llega al Mar Menor está prácticamente depurada. Estudios realizados en condiciones controladas han demostrado que la desnitrificación es el principal mecanismo por el que los nitratos son retirados del agua [4] jugando la vegetación un papel secundario.

El objetivo general de este trabajo es estudiar los procesos microbiológicos y biogeoquímicos ligados a los ciclos del N, P y C en el sistema planta-suelo-agua de humedales afectados por aguas con diferente grado de eutrofización, a fin de determinar en qué medida la presencia o no de planta (*Phragmites australis*), la carga de nutrientes y los periodos de inundación-desección influyen en la capacidad de estos sistemas para secuestrar C y actuar, al mismo tiempo, como filtros verdes y si esta función afecta a la producción de N<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub>.

Los objetivos específicos se concretan en:

1. Determinar en qué medida los humedales actúan como depuradores de altas concentraciones de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>.
2. Determinar en qué medida la descomposición del "litter" procedente de *Phragmites australis* está influenciada por la presencia de elevados contenidos en N, P y carbono orgánico disuelto en el agua.
3. Determinar en qué medida la actividad microbiológica del suelo está influenciada por la presencia de elevados contenidos en N, P y carbono orgánico disuelto en aguas eutrofizadas y si esto está relacionado con la presencia o ausencia de planta.
4. Determinar en qué medida el desprendimiento del N<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> está influenciado por la presencia de elevados contenidos en N, P y carbono orgánico disuelto en aguas eutrofizadas y si esto está relacionado con la presencia o no de planta.
5. Determinar el impacto que puede causar sobre el balance de C orgánico, N y P en el sistema planta-suelo-agua de los humedales el hecho de

que éstos reciban agua eutrofizada y en qué medida dicho efecto puede estar condicionado por la presencia o no de planta.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1 Montaje de los mesocosmos

Los mesocosmos se fabricarán con metacrilato de 1 cm de espesor, de dimensiones 100x50x50 cm. Cada mesocosmos dispondrá de un grifo en uno de los laterales para poder ser drenados cuando corresponda. Se recubrirán con un plástico negro para simular la oscuridad del perfil del suelo.

### 2.2 Toma de muestras en el campo y su colocación en los mesocosmos

Los mesocosmos se rellenarán con suelo, arena y plantas de *Phragmites* recogidos en la Marina del Carmolí. Se colocará primero una capa de unos 15 cm de arena y encima de ella unos 25 cm del suelo, y en los tratamientos con carrizo, las plantas. De esta forma se tendrá: abajo un horizonte C arenoso y arriba un horizonte A de textura fina. El experimento se realizará en la ESEA de la ETSIA.

### 2.3 Equipamiento de los mesocosmos

Cada mesocosmos se equipará con:

- 3 electrodos de pH, y 3 de Eh, en el horizonte C y 3 de cada en el A.
- 6 sondas Rhizon® para la extracción de la solución edáfica en el horizonte C y 6 en el A.
- 2 anillos de PVC Ø10 y 5 cm de profundidad, insertados en la superficie para el posterior acoplamiento de cámaras para la recogida de los gases emanados desde el suelo.
- en cada uno se colocarán 32 bolsas de nylon con 2,5 g de hojarasca de *Phragmites* para estudiar su descomposición.

### 2.4 Desarrollo del experimento

#### 2.4.1 Tratamientos

El trabajo consistirá en someter a los mesocosmos a periodos de inundación-desección con 2 aguas de diferente carga de nutrientes y similar salinidad a lo largo de unos 12 meses, de manera que tengamos 6 períodos completos de inundación-desección. Las fases de inundación durarán unas 3-4 semanas y las de secado de 2 a 3 semanas.

La composición del agua con alta carga de nutrientes será:  $\text{NO}_3^- \sim 200 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $\text{PO}_4^{3-} \sim 10 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $\text{COD} \sim 100 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $\text{Cl}^- \sim 2500 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $\text{SO}_4^{2-} \sim 1000 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $\text{Ca}^{2+} \sim 300 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $\text{K}^+ \sim 100 \text{ mg L}^{-1}$  y  $\text{Na}^+ \sim 1500 \text{ mg L}^{-1}$ . La composición del agua con baja carga de nutrientes será en cuanto a  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  y COD unas diez veces menor que la anterior y en cuanto a sales, similar al agua con alta carga de nutrientes.

#### 2.4.2 Parámetros a monitorizar durante el experimento.

- Regularmente en la solución del suelo. Valores de pH, Eh, CE,  $T^a$  y contenidos de nitrógeno y carbono disueltos totales (NDT y COS, respectivamente),  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , Fe, Mn, Pb y Zn.
- Regularmente en los drenajes. Valores de pH, CE y contenidos de NDT, COS,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , Fe, Mn, Pb y Zn.
- Regularmente en el suelo. Se determinará el carbono de la biomasa microbiana del suelo (CBM) y se monitorizarán diversas actividades enzimáticas: fenol oxidasa,  $\beta$ -glucosidasa, proteasa, quitinasa y deshidrogenasa.
- Al inicio y al final en el suelo. Los contenidos en carbono orgánico, nitrógeno y fósforo totales. Se hará una extracción secuencial de P para determinar en qué forma éste es retenido.
- Regularmente en los gases emanados desde el suelo. Se medirá el  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ .
- Regularmente en la hojarasca. Los contenidos en C, N, P y Fe, Mn, Pb y Zn.
- Al inicio y al final en la vegetación. La biomasa aérea y subterránea de *Phragmites*, así como los contenidos en C, N, P y Fe, Mn, Pb y Zn.

#### 2.4.3 Procedimientos para la toma de datos y muestras

- Medida de las condiciones físico-químicas. El pH y Eh se medirán, para cada profundidad, por medio de los electrodos instalados en los mesocosmos. La  $T^a$  se medirá en el horizonte A mediante termómetros insertados en el suelo en el momento de los muestreos.
- Recogida de la solución del suelo. Las muestras de la solución se recogerán por medio de los muestreadores Rhizon® acoplados a jeringas de succión.

- Recogida de los drenajes. Al finalizar cada fase de inundación se abrirán los grifos de los mesocosmos y se recogerán los drenajes en contenedores de plástico. Se cuantificará el volumen recogido y se tomarán las muestras para su análisis.

- Recogida de muestras de suelo. Al inicio y al final del experimento se recogerán muestras de suelo y arena para identificar los cambios en los contenidos de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo totales. Para las muestras de superficie se extraerá un volumen conocido, a fin de determinar la densidad aparente y poder calcular los stocks totales de C, N y P en cada tratamiento. Además, cada vez que finalice un ciclo de inundación y un ciclo de secado también se recogerán muestras de suelo superficial para hacer el seguimiento de los parámetros microbiológicos.

- Recogida de los gases emanados desde el suelo. Para el muestreo de gases se utilizarán las cámaras de PVC descritas en el apartado 2.3. A primera hora de la mañana se acoplarán las cámaras sobre los anillos instalados en los mesocosmos. Con ayuda de una jeringa, se inyectarán en ellas unos 100 mL de acetileno, para bloquear la transformación del  $\text{N}_2\text{O}$  en  $\text{N}_2$  [5] y así poder detectar el primero de los gases en caso de que estuviera presente en la atmósfera de la cámara. Tras 2 horas se extraerán 10 mL de aire de las cámaras, que se inyectarán en un vacutainer para su posterior análisis. A las 4 h y a las 6 h se sacarán de nuevo muestras.

- Recogida de la hojarasca. Cada vez que finalice una fase de inundación y una de secado se recogerán 2 bolsas de hojarasca por cada mesocosmos. Se lavará, se secará a  $50^\circ\text{C}$  y se pesará para su cuantificación.

- Al final del experimento se recolectará toda la biomasa aérea de carrizo. Para cuantificar la biomasa subterránea se extraerá un volumen de suelo conocido de cada mesocosmos. Los resultados se presentarán como a biomasa seca la  $50^\circ\text{C}$ .

#### 2.4.4 Análisis

NDT y COS. Analizador TOC-VCSH Shimadzu.  $\text{NO}_3^-$ . Según [6],  $\text{NH}_4^+$  según [7] y  $\text{PO}_4^{3-}$  según [8].  $\text{N}_2\text{O}$  y  $\text{CH}_4$  con un cromatógrafo de gases.  $\text{CO}_2$ . Se medirá "in situ" utilizando el equipo CIRAS-2. Carbono orgánico y nitrógeno totales. Analizador automático. Fósforo total por Fluorescencia de Rayos-X. Extracción secuencial de P según [9] y

[10]. Actividades enzimáticas y carbono de biomasa microbiana. Según [11] y [12] y [13].

### 3. Resultados Esperados y Discusión

Los resultados esperados del experimento serían los siguientes:

El potencial redox se espera que caiga en las inundaciones debido a condiciones de anoxia y que aumente en los periodos de secado al producirse condiciones óxicas.

Cabe esperar que *Phragmites* favorezca el intercambio gaseoso en el entorno rizosférico así como la movilidad de los solutos disueltos homogeneizando.

Se espera mayor actividad microbiana en los tratamientos con agua eutrofizada.

Se espera que la dinámica de los metales solubles esté ligada a los cambios en las condiciones redox.

Se espera una alta efectividad en la capacidad de depuración de los humedales independientemente del tratamiento. No obstante se espera un comportamiento diferente en cuanto al desprendimiento de gases de efecto invernadero y los procesos asociados con el comportamiento biogeoquímico y microbiológico: en los tratamientos con agua eutrofizada se espera una mayor emisión de N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>.

En cuanto al balance de carbono, se espera que los sistemas altamente eutrofizados probablemente tengan una respuesta distinta a los menos eutrofizados. El balance entre las tasas de descomposición y la acumulación de biomasa determinará su papel como sumideros de carbono.

### 4. Agradecimientos

Proyecto financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación. Referencia: CGL2010-20214

### 5. Referencias bibliográficas

[1] González-Alcaraz, M. N., Egea C., Jiménez-Cárceles, F. J., Párraga, I., María-Cervantes, A., Delgado, M. J., and Álvarez-Rogel, J. 2012. Storage of organic carbon, nitrogen and phosphorus in the soil-plant system of *Phragmites australis* stands from a eutrophicated Mediterranean salt marsh. *Geoderma* 185-186, 61-72.

[2] Álvarez-Rogel, J., Jiménez-Cárceles, F. J., Roca, M. J y Ortiz, R. 2007b. Changes in soils and vegetation in a Mediterranean coastal salt marsh impacted by human activities. *Estuar. Coast. Shelf S.*, 73, 510-526.

[3] Jiménez-Cárceles, F. J. y Álvarez-Rogel, J., 2008. Phosphorus fractionation and distribution in salt marsh soils affected by mine wastes and eutrophicated water: a case study in SE Spain. *Geoderma* 144, 299-309.

[4] González-Alcaraz, M. N., Conesa, H. M., Álvarez-Rogel, A., 2013. Nitrate removal from eutrophic wetlands polluted by metal-mine wastes: Effects of liming and plant growth. *J. Environ. Manage.* 128, 964-972.

[5] Groffman, P.M., Holland, E.A., Myrold, D.D., Robertson, G.P., Zou, X. 1999. Denitrification. En: Robertson, G.P., Coleman, D.C., Bledsoe, C.S., Sollins, P. (Eds.), *Standard soil methods for long-term ecological research*. Oxford University Press, New York. Pp. 272-288.

[6] A.O.A.C. 1975. Official methods of analysis. 12<sup>th</sup> edition. AOAC International. Arlington, Virginia, EEUU.

[7] NEIKER. 2005. Determinación del contenido de amonio en aguas, lixiviados y extractos. PEC/EN/A-059.

[8] Murphy, J. y Riley, J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem.* 42, 1011-1026.

[9] Paludan, C. y Jensen, H.S. 1995. Sequential extraction of phosphorus in freshwater wetland and lake sediments: significance of humic acids. *Wetlands* 15, 365-373.

[10] Paludan, C. y Morris, J.T. 1999. Distribution and speciation of phosphorus along a salinity gradient in intertidal marsh sediments. *Biogeochemistry* 45, 197-221.

[11] Ladd, J. N., Brisbane, P. G., Butler, J. H. A., 1976. Studies on soil fumigation. 3. Effects on enzyme-activities, bacterial numbers and extractable ninhydrin reactive compounds. *Soil Biol. Biochem.* 8:255-260.

[12] Ravit, B., Ehrenfeld, J. G., Haggblom, M. M., 2003. A comparison of sediment microbial communities associated with *Phragmites australis* and *Spartina alterniflora* in two brackish wetlands of New Jersey. *Estuaries* 26(2B):165-474.

[13] Vance, E. D., Brookes, P. C., Jenkinson, D., 1987. An extraction method for measuring microbial biomass carbon. *Soil Biol. Biochem.* 19: 703-707.