



**UNIVERSIDAD  
DE GRANADA**

---

**Facultad de Ciencias**

GRADO EN BIOLOGÍA

TRABAJO FIN DE GRADO

*Ceratophyllum demersum*  
**L. en la lucha contra la  
eutrofización por N y P  
en Charca de Suárez  
(Motril, Granada).**

Fecha: Julio, 2020.

Código: ECO-17

Presentado por:  
**D./D<sup>a</sup>. José Miguel Lora Rivera.**

Curso académico 2019/2020

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, agradecer a mi tutor, Juanma, la paciencia y ayuda dada durante el transcurso del trabajo sin lo cual el resultado final de este TFG hubiera sido bastante menos satisfactorio.

En segundo lugar, expresar mi gratitud al personal de la Charca de Suárez por su predisposición a facilitarnos todo lo necesario en los días que estuvimos trabajando allí en el experimento.

Y en último lugar, quiero agradecerle a toda mi familia su apoyo, en especial a mis padres y hermano cuyo apoyo incondicional ha sido la mayor ayuda durante los años de carrera; y también a todos aquellos amigos que han estado ahí para levantarme el ánimo cuando lo necesitaba, sobre todo a Marisa y Luis quienes me han tenido que soportar en los peores momentos del grado.

# ÍNDICE

## RESUMEN

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.	Eutrofización, un repaso a través de los años.....	1
1.2.	Causas de la eutrofización.....	2
1.3.	Problemas que conlleva la eutrofización.....	2
	Cuadro 1. Humedales y su importancia.....	5
	Cuadro 2. Charca Suárez.....	6
1.4.	Control de la eutrofización.....	7
1.4.1.	Reducción de nutrientes del sistema.....	7
1.4.2.	Bio-manipulación.....	8
1.4.3.	Biorremediación. Uso de macrófitos: <i>C. demersum</i> .....	8
2.	OBJETIVOS E HIPÓTEISIS.....	10
3.	METODOLOGÍA.....	10
3.1.	Área de estudio.....	10
3.2.	Diseño experimental.....	11
3.3.	Análisis estadísticos.....	16
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
4.1.	Fósforo.....	16
4.2.	Nitrógeno.....	18
5.	CONCLUSIONES.....	21
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	22
7.	ANEXOS.....	24

## RESUMEN

La eutrofización es una de las principales amenazas medioambientales a las que se enfrentan los ecosistemas acuáticos a nivel global, y que causa un grave deterioro de sus servicios ecosistémicos. Los efectos de la eutrofización, causada por una alta disponibilidad de nutrientes y mediada por el desarrollo explosivo del fitoplancton, pueden estar modulados por la presencia de macrófitos competidores con el fitoplancton por los nutrientes, y por la posible (co)limitación del fitoplancton y de los macrófitos por nitrógeno (N) y fósforo (P). En este trabajo se estudia la variación de la concentración final de N y P en el medio acuoso de microcosmos incubados *in situ*, tras una simulación experimental de entrada pulsada de N y P, solos o combinados, y en presencia vs. ausencia del macrófito *Ceratophyllum demersum* (diseño factorial completo  $4 \times 3$ ), como respuesta del plancton y del macrófito a la eutrofización. El experimento se llevó a cabo en la reserva natural concertada Charca de Suárez (Motril, Granada), humedal de un gran valor ecológico y faunístico, pero sujeto a entradas excesivas de N y P por la actividad agrícola circundante. Los resultados muestran una mayor capacidad del macrófito *Ceratophyllum demersum* que del plancton para retener P, mientras que el plancton retiene preferentemente N. Los resultados son compatibles con una colimitación del plancton por N y P, y una limitación de *C. demersum* por P. A partir de los resultados obtenidos, se sugieren procedimientos para disminuir los efectos de la eutrofización en Charca de Suárez.

**Palabras clave:** *Ceratophyllum demersum*, Charca de Suárez, Eutrofización, Fósforo, Nitrógeno, Colimitación.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Eutrofización, un repaso a través de los años

El término eutrófico y oligotrófico fue introducido por Weber en 1907 para calificar cenagales o embalses según su riqueza en nutrientes. Posteriormente Naumann (1919), lo utilizó para calificar lagos. En un origen su sentido era geográfico y referenciaba al grado de opacidad del agua y abundancia de plancton, pero con el tiempo se fueron considerando múltiples variables que hicieron entender la gran complejidad del fenómeno, siendo Thienemann y su escuela los que más contribuyeron en estos avances (Margalef, 1989). La paleolimnología se encarga de estudiar los sedimentos de los sistemas hídricos que conforman un registro histórico de cambios ambientales e impactos humanos (Brenner et al., 2002), y utiliza diversas metodologías, como el análisis de parámetros magnéticos para evaluar el grado de contaminación antrópica sobre estos sistemas (Sepúlveda et al., 2019). Gracias a los estudios de sedimentos lacustres se sabe que las actividades de las poblaciones humanas son las principales responsables del aumento de la eutrofia desde tiempos prehistóricos (Brenner et al., 2002).

En la actualidad el término eutrofización se usa en sistemas hídricos, sobre todo en aquellos con un flujo léntico (lagos, pantanos, etc.), que presentan un estado de tensión debido a un aumento de la concentración de nutrientes que excede a lo que puede asimilar el sistema y como consecuencia se genera una elevada producción primaria que llega a ser perjudicial. Al aumento en la abundancia de organismos productores primarios se le conoce como “blooms”, con un predominio de determinadas microalgas eucarióticas y cianobacterias (Anderson et al., 2002; Bhagowati & Ahamad, 2019).

Según Dokulil & Teubner (2010), la eutrofización es uno de los principales problemas medioambientales en el siglo XXI. En los países desarrollados, la eutrofización se ha convertido en un problema preocupante en las últimas décadas y tiene como consecuencia el deterioro de los ecosistemas acuáticos epicontinentales y de sus servicios ecosistémicos (Margalef, 1989; Bhagowati & Ahamad, 2019). Se estima actualmente que más del 40% de los sistemas hídricos terrestres sufren en cierto medida procesos de eutrofización (Nazari-Sharabian et al., 2018).

## **1.2. Causas de la eutrofización**

Hay una eutrofización natural, que tiene lugar sin acción del ser humano. Esta eutrofización está ligada al proceso de sucesión natural de los propios ecosistemas hídricos, que por transporte y depósito de materiales detríticos y sedimentos, el ecosistema se colmata y evoluciona hacia la formación de humedales y finalmente pasa a un sistema terrestre (Franco et al., 2010; Uruguay, 2010). Este proceso se da en una escala de tiempo geológico, aunque su duración varía dependiendo de múltiples factores, como el nivel hídrico del que parte el ecosistema (Le Moal et al., 2019) La eutrofización natural y antrópica no ocurren a una misma escala de tiempo, y por lo tanto los efectos ambientales de la eutrofización natural no son comparables con los de la antrópica (Le Moal et al., 2019).

Las fuentes más importantes que generan eutrofización derivadas de la actividad antrópica son: las aguas residuales domésticas e industriales, las aguas de regadío procedentes de la agricultura que están enriquecidas en nutrientes debido a que transportan una mayor cantidad de fertilizantes de los que el suelo puede retener (los nutrientes que no se retienen llegan a los sistemas acuáticos en forma de fosfatos y sales de nitrato y amonio), el agua de escorrentía después de la tala, incendios o del uso de herbicidas, que arrastran gran cantidad de nutrientes desde los ecosistemas circundantes hacia los sistemas hídricos, y el calentamiento global que favorece la generación de “blooms” algales como consecuencia de una mayor temperatura de los sistemas hídricos (Franco et al., 2010; FAO, 2015; Harke et al., 2016).

## **1.3. Problemas que conlleva la eutrofización**

La exceso de entrada de nutrientes a los ecosistemas afecta negativamente a su biodiversidad y a los servicios que ofrecen (Elser et al., 2007). Así, el enriquecimiento en nutrientes del sistema genera una proliferación excesiva o “blooms” de fitoplancton, que suele acompañarse del desarrollo de determinados macrófitos y de algas filamentosas flotantes (García Miranda & Miranda Rosales, 2018). El fitoplancton está compuesto por organismos unicelulares los cuales tienen una respuesta rápida a los cambios en las condiciones de los ecosistema, lo que explica estos “blooms” (Shukla & Kumar, 2019).

Durante las fases de “blooms”, los organismos productores primarios se desarrollan en las capas superiores de la columna de agua impidiendo a la luz solar penetrar a las capas profundas, e inhibiendo la fotosíntesis en estas capas. A esto se une el incremento de la respiración bacteriana del detritus procedente de la biomasa producida en las capas

superficiales, lo que conlleva un agotamiento de la reserva de oxígeno en las capas profundas de los lagos eutrofizados, especialmente en la fase de estratificación.. La anoxia resultante favorece el metabolismo de los microorganismos anaerobios que producen compuestos como sulfuro de hidrógeno, metano, óxido nitroso y anhídrido carbónico, entre otros (Dokulil & Teubner, 2010; Franco et al., 2010). Todo esto deriva en una disminución de la biodiversidad:

- Si se mantienen las condiciones de eutrofización en el tiempo, la biomasa de macrófitos sumergidos acaba disminuyendo a consecuencia de la menor cantidad de luz disponible debido a la turbidez así como por las condiciones anóxicas (Selman et al., 2008; Le Moal et al., 2019).

- La disminución de macrófitos sumergidos afecta negativamente a las poblaciones del zooplancton ya que se quedan sin el refugio de los macrófitos frente a los depredadores, lo que tiene como consecuencia un empeoramiento de la turbidez del sistema al disminuir la presión trófica del zooplancton sobre el fitoplancton (Franco. et al., 2010).

- Las condiciones anóxicas generan una gran mortandad en los peces, y la fauna bentónica acaba desapareciendo en los casos extremos de anoxia, afectando sobre todo a aquellas especies que son más sensibles a la anoxia (Margalef, 1989; Le Moal et al., 2019).

La eutrofización no afecta sólo negativamente sobre la biodiversidad, sino que también lo hace sobre los servicios ecosistémicos, generando un impacto tanto económico como en la salud humana (Sutton et al., 2011).

- Se produce una disminución de la calidad del agua por secreción de toxinas y compuestos orgánicos desde el fitoplancton que impiden el consumo o uso humano del agua. Si el deterioro de la calidad del agua no es muy severo, el aprovechamiento del agua necesita demás tratamientos, cada vez más complejos, lo que conlleva un mayor coste económico (Dokulil & Teubner, 2010, Bhagowati & Ahamad, 2019; Kelly & Hassall, 2018; Le Moal et al., 2019).

- La eutrofización disminuye la resiliencia del ecosistema frente a los efectos negativos derivados del cambio climático, que exacerbaban los efectos negativos de la eutrofización (Sutton et al., 2011; Le Moal et al., 2019).

- Está documentada la privación en el suministro de agua potable a núcleos urbanos debido a la eutrofización. Por ejemplo, la formación de “blooms” de algas tóxicas durante los veranos de los años transcurridos entre 1970 y 1989 en el Lago Erie, periodos en los que no se pudo abastecer de agua potable a 400000 personas utilizando los recursos hídricos de este lago (Smith et al., 2015).

- Los servicios ecosistémicos culturales y recreativos se ven negativamente afectados debido al mal aspecto que adquiere el ecosistema, y la insalubridad para el baño por las toxinas ya mencionadas. Además, dejan de poder ser utilizados como zonas de pesca debido a la muerte de peces por falta de oxígeno. Un claro ejemplo de esto lo tenemos en los frecuentes episodios de mortandad masiva de peces en el Mar Menor debido a la agudización de la eutrofización en los últimos años (Álvarez Rogel et al., 2016). La mortandad de peces y su descomposición, exagera el agotamiento de oxígeno y los malos olores provocados por los productos del metabolismo de las bacterias descomponedoras anaerobias (Franco et al., 2010; Le Moal et al., 2019).

A partir de los efectos ambientales, socio-económico-culturales y de salud humana expuestos, se deduce que la eutrofización constituye un problema de gran importancia tanto actual como para el futuro de la sociedad humana.



### **Cuadro 1. Humedales y su importancia**

Los humedales se pueden definir como superficies cubiertas de aguas de régimen natural o manejado, que pueden ser extensiones de otros ecosistemas acuáticos (como pantanos o turberas) y cuya profundidad no exceda de los 6 metros (Veas-Ayala et al., 2018). Los humedales se forman por descarga o afloramiento de sistemas acuíferos, por inundaciones superficiales debidas a la presencia de



Figura 1. Foto para ejemplificar un humedal. En este caso observamos una de las lagunas de la Charca de Suárez. Foto realizada el 13/3/2019.

capas impermeables que dificultan la infiltración, o por combinación de ambas causas (Rey Benayas et al., 1990). Dentro de los humedales se incluyen también a los criptohumedales, que son aquellos que carecen de una lámina de agua libre en superficie pero presentan una elevada humedad edáfica (Martínez et al., 2011).

Las zonas húmedas son ecosistemas que destacan por su gran valor e importancia ecológica (Keddy, 2000). Generan elevadas tasas de producción primaria (Brinson *et al.*, 1981; Veas-Ayala et al., 2018), albergan una gran diversidad de especies silvestres tanto de fauna como de vegetación (Castellanos, 2006; Galicia García et al., 2019), juegan un papel importante en ciclos biogeoquímicos y en la regulación hidrodinámica (Mitsch y Gosselink, 2000) y tienen un gran valor para las sociedades (Cruz-Pizarro *et al.*, 2003).

Los humedales son ecosistemas muy sensibles, siendo además escasos en nuestra región, por lo que debido a la presión a la que son sometidos es de vital importancia llevar a cabo una buena gestión de los mismos desde las administraciones y entidades científicas implicadas (Cruz-Pizarro *et al.*, 2003). Toda acción para la protección de la naturaleza pasa por realizar un inventario lo más exhaustivo posible de estos ecosistemas, que será la base de estudios de conservación y de impacto ambiental sobre los ecosistemas (Delgado *et al.*, 2003).

## Cuadro 2. La Charca de Suárez

La Charca de Suárez es un humedal declarado como Reserva Natural Concertada en el Acuerdo de 17 de febrero de 2009, del Consejo de Gobierno (BOJA núm. 49, de 12/03/2009), siendo el único humedal de carácter litoral de la provincia de Granada municipio de Motril, formando parte del acuífero Motril-Salobreña en su zona de descarga al mar (Coronas *et al.*, 2018).



Figura 2. Foto para enmarcar la situación de la Charca de Suárez. Imagen obtenida de la web Andalucía.org a las 19:00 en fecha 4/05/2020.

Tiene una extensión de 14,65 hectáreas y alberga 9 cuerpos de agua o lagunas. Está limitado por urbanizaciones y por el polígono de Alborán (Ayuntamiento de Motril: Charca de Suárez, 2020). Las lagunas son de aguas permanentes durante todo el año con un nivel de agua relativamente variable, que se recargan tanto de aportaciones superficiales (excedentes de regadío y aguas residuales) como de aguas subterráneas del acuífero (Coronas *et al.*, 2018). Por tanto, el grado de eutrofización del humedal viene condicionado por factores ligados a su ubicación.

La Charca de Suárez tiene una gran importancia ecológica por su gran biodiversidad y productividad. Su elevada productividad se explica por el elevado aporte de nutrientes que, junto a las excelentes condiciones térmicas e hídricas del humedal, hace que haya una elevada actividad biológica, como se puede apreciar en la alta biomasa que alcanzan, por ejemplo, los macrófitos sumergidos (Martín Moreno, 2014). Además, destaca por ser un lugar de invernada, nidificación y migración de aves acuáticas, albergando especies en peligro de extinción como *Fulica cristata* (focha moruna), así como un lugar ideal para la reproducción de anfibios (Coronas *et al.*, 2018). Desde 2018 se está acometiendo la reintroducción de *Aphanius iberus*, una especie de pez autóctono en peligro de extinción (Europa Press, 2019).

Los macrófitos sumergidos son de gran importancia en los humedales, siendo necesario un control de su crecimiento, debido a su atribuida efectividad en la retirada de nutrientes y la mitigación de la eutrofización (Pérez y Rojo, 2000).

## **1.4. Control de la eutrofización**

Entre los numerosos intentos de restauración de lagos a gran escala así como de zonas húmedas documentados hay muchos ejemplos de éxito y de fracasos (Cruz-Pizarro *et al.*, 2003). Cooke et al. (2016) resaltan que para obtener éxito en un proceso de restauración hay que ser lo más meticuloso posible tanto en el diagnóstico como en la evaluación antes de empezar a llevar a cabo las medidas adoptadas.

En todo proceso de restauración es preciso realizar una disminución de la carga de nutrientes que entran al sistema para obtener éxito a largo plazo en el proceso de eutrofización (Cruz-Pizarro *et al.*, 2003; Yanan et al., 2020).

Los principales métodos para controlar la eutrofización se exponen a continuación.

### **1.4.1. Reducción de nutrientes del sistema**

Para reducir los efectos de la eutrofización se debe tener en cuenta la posible existencia de colimitación, que tiene lugar cuando el crecimiento de los productores está limitado por más de un nutriente (ej. N y P) y su respuesta a ambos nutrientes es mayor que la respuesta a cada nutriente por separado (Allgeier et al 2011). Habiendo colimitación, hay que tener en cuenta las siguientes consideraciones: primero, el efecto mayor de eutrofización se da cuando hay una colimitación sinérgica de nutrientes como N más P (NP) y se produce la entrada de ambos nutrientes; la respuesta generada (ej., en el desarrollo del fitoplancton), que es común en sistemas de agua dulce y marinos, es de mayor magnitud que el efecto de ambos nutrientes por separado y que el efecto aditivo (Elser et al., 1990; Elser et al., 2007; Allgeier et al., 2011). Segundo, la colimitación sinérgica a N y P indica que un cambio en uno de los nutrientes de forma individual puede tener consecuencias no solo a nivel cuantitativo sino también a nivel cualitativo, repercutiendo por ejemplo en las interacciones interespecíficas entre los productores primarios del ecosistema (Elser et al., 2007). Sin embargo, la colimitación sinérgica de NP es típica de ecosistemas pobres en nutrientes., que no es la situación más habitual. Lo más frecuente es que haya un tercer elemento limitante, como un micronutriente o un factor físico. En este caso se suele dar una colimitación antagonista (Allgeier et al., 2011; Yanan et al., 2020). En la situación de colimitación antagonista el efecto de la adición NP es mayor que el efecto del N y del P por separado, pero menor que el efecto aditivo (Allgeier et al., 2011). Por tanto, el tipo de colimitación está influenciado por el tipo de ecosistema o hábitat (Elser et al., 2007).

Se concluye, por tanto, que los esfuerzos de gestión para disminuir la eutrofización mediante reducción de la carga de nutrientes deben de ir dirigidos a una reducción combinada de N y P (Elser et al., 2007; Allgeier et al., 2011). Los resultados que se obtengan permitirán elaborar modelos predictivos que pueden ayudar a los gestores y técnicos de medioambiente a tomar decisiones adecuadas para controlar sistemas eutrofizados (Allgeier et al., 2011).

#### **1.4.2. Biomanipulación**

La biomanipulación la definió Shapiro (1990) como “una serie de manipulaciones de la cima de la estructura trófica de lagos y sus hábitats para facilitar ciertas interacciones y resultados que consideremos como beneficiosos: reducir la biomasa algal y particularmente la de cianobacterias”, debido a una transmisión en cascada de los efectos a lo largo de toda la red trófica (Cruz-Pizarro *et al.*, 2003, Gulati et al. 2008).

La biomanipulación se ha usado para intentar restaurar distintos sistemas eutrofizados, obteniéndose resultados tanto positivos como negativos. Es un método que para dar resultados positivos se debe aplicar siempre precedido de un buen conocimiento de las interacciones tróficas del sistema así como de las conexiones entre la zona litoral y la zona pelágica (Cruz-Pizarro *et al.*, 2003).

#### **1.4.3. Biorremediación. Uso de macrófitos: *C. demersum***

La biorremediación es una de las técnicas más idóneas para tratar los problemas que conlleva la eutrofización, ya que elimina el exceso de nutrientes sin que se genere problemas secundarios medioambientales, y con un coste bajo (Ateia et al., 2016; Xu et al., 2019). Aunque el uso de macrófitos en biorremediación es prometedor, hace falta más investigación ya que la eficacia de la técnica difiere según el ecosistema en el que se implante y depende de la densidad y especie de macrófito que se use (Lawniczak-Malińska & Achtenberg, 2018; Song et al., 2018).

Los macrófitos son el conjunto de organismos fotosintéticos acuáticos observables a simple vista y que se desarrollan completamente o de forma parcial bajo la superficie del agua o en toda la columna de agua (Chambers *et al.*, 2008). Pueden ser plantas vasculares, briófitos y macroalgas (Cirujano *et al.*, 2005).

Con el término hidrófitos se hace referencia a aquellos macrófitos que completan su ciclo biológico si se encuentran sumergidas en el agua sus partes vegetativas total o parcialmente, (Cirujano y Medina, 2002). Según García Murillo et al. (2009) pueden ser de 3 tipos:

- Flotantes, sin adherirse al sustrato.
- Enraizado-flotantes, están enraizados al sustrato pero tienen hojas flotantes en superficie.
- Sumergidos, están completamente sumergidos en el agua.

Los macrófitos son de gran importancia en los ecosistemas acuáticos ya que estabilizan los sedimentos, retienen nutrientes, constituyen una fuente de alimentación para los organismos herbívoros y sirven como refugio a peces, zooplancton y macroinvertebrados (Hicks & Frost, 2011).

Los macrófitos compiten por los nutrientes (N y P) y la luz con el fitoplancton, por lo tanto se establece una relación de competencia entre ambos, que es la base del uso de los macrófitos para el control del fitoplancton. Además de la competencia, los macrófitos pueden afectar negativamente al fitoplancton, de forma directa al producir compuestos alelopáticos que inhiben el crecimiento del fitoplancton, y de forma indirecta al servir de refugio al zooplancton consumidor de fitoplancton (Mulder, 2007; Barrow et al., 2018; Lawniczak-Malińska & Achtenberg, 2018). Sin embargo, para la utilización de macrófitos en biorremediación hay que tener en cuenta que una alta densidad de macrófitos puede transformar el ecosistema lacustre en un cenagal, con una pérdida de servicios ecosistémicos.

*Ceratophyllum demersum* es un hidrófito vascular flotante que crece sin raíces, perteneciente a la familia Ceratophyllaceae (Cirujano et al., 2014). Es un macrófito subcosmopolita que crece en superficie de lagunas, canales y acequias tanto con aguas anuales como temporales, salobres o dulces, estancadas o de muy poca corriente (Martín Moreno, 2014). Además, este macrófito tiene una gran capacidad de retirar tanto N como P del medio, llegando incluso a cambiar el estado trófico del ecosistema (Song et al. 2018). *C. demersum* en latitudes bajas tiene una mayor capacidad de retirar P debido a las condiciones más cálidas de las aguas así como de mayor irradiancia, lo que le permite una mayor ocupación de aguas profundas, mientras que su capacidad de retener N se mantiene estable a lo largo de las latitudes (Song et al. 2018). También es conocido que los ecosistemas acuáticos someros, como es el caso de las lagunas de nuestro estudio, debido a que la radiación solar llega hasta el sedimento, son más

proclives a un mayor desarrollo de *C. demersum*, lo que hace que las aguas de estos ecosistemas no estén tan turbias debido a que *C. demersum* retira la mayor parte de los nutrientes, impidiendo blooms algales (Mjelde & Faafen, 1997).

A través de nuestro estudio, pretendemos determinar cómo influye la presencia de macrófitos (*C. demersum*) en las lagunas de la Charca de Suárez en la retirada de nutrientes disponibles para el fitoplancton generador de “blooms”, y conocer en qué medida puede ser beneficiosa una mayor o menor eliminación del macrófito de las lagunas para controlar el estado eutrófico del sistema. Esta información puede ser útil para los gestores de este espacio natural.

## **2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

Objetivos:

- Simular experimentalmente un proceso de eutrofización mediante una entrada pulsada de nutrientes disueltos N y P, tanto por separado como en combinación, en microcosmos incubados in-situ en presencia o ausencia de macrófitos (*C. demersum*).
- Cuantificar cómo varía la concentración de estos nutrientes en el medio acuoso de los distintos tratamientos experimentales, como respuesta del plancton y/o del macrófito (*C. demersum*) a la mayor disponibilidad de nutrientes (eutrofización).

La hipótesis de trabajo es que ante el aumento en la disponibilidad de los nutrientes N y P, solos o combinados, *C. demersum* retirará una significativa cantidad de éstos, haciéndolos menos disponibles para el plancton, por lo que la presencia de macrófitos puede ayudar al control de calidad del agua ante pulsos de nutrientes.

## **3. METODOLOGÍA**

### **3.1. Área de estudio**

El experimento se llevó a cabo en la reserva natural concertada Charca de Suárez. Las coordenadas geográficas del centroide del humedal se corresponden con: XTUM (Huso 30) YTUM (Huso 30) 451.796,933 4.064.700,187 (CMA, 2007). En concreto, el agua utilizada en los microcosmos se tomó de la Laguna del Lirio, que tiene una superficie de 1800 m<sup>2</sup> y una profundidad de 1,5 a 1,8 m (Martín Moreno, 2014), y que presentaba una elevada concentración de *C. demersum*. Sin embargo, la incubación se llevó a cabo en la Laguna del Junco debido a que la Laguna del Lirio es una zona de cría de focha cornuda (*F. cristata*),

especie catalogada en peligro de extinción, por lo que no estaba permitida la manipulación experimental en esta charca. La Laguna del Junco es una laguna temporal, por lo que sus dimensiones son variables (Martín Moreno, 2014), y en el momento del experimento su profundidad era cercana a 1 m. Se eligió esta laguna para la incubación por ser la más próxima y tener unas características limnológicas similares a la primera.

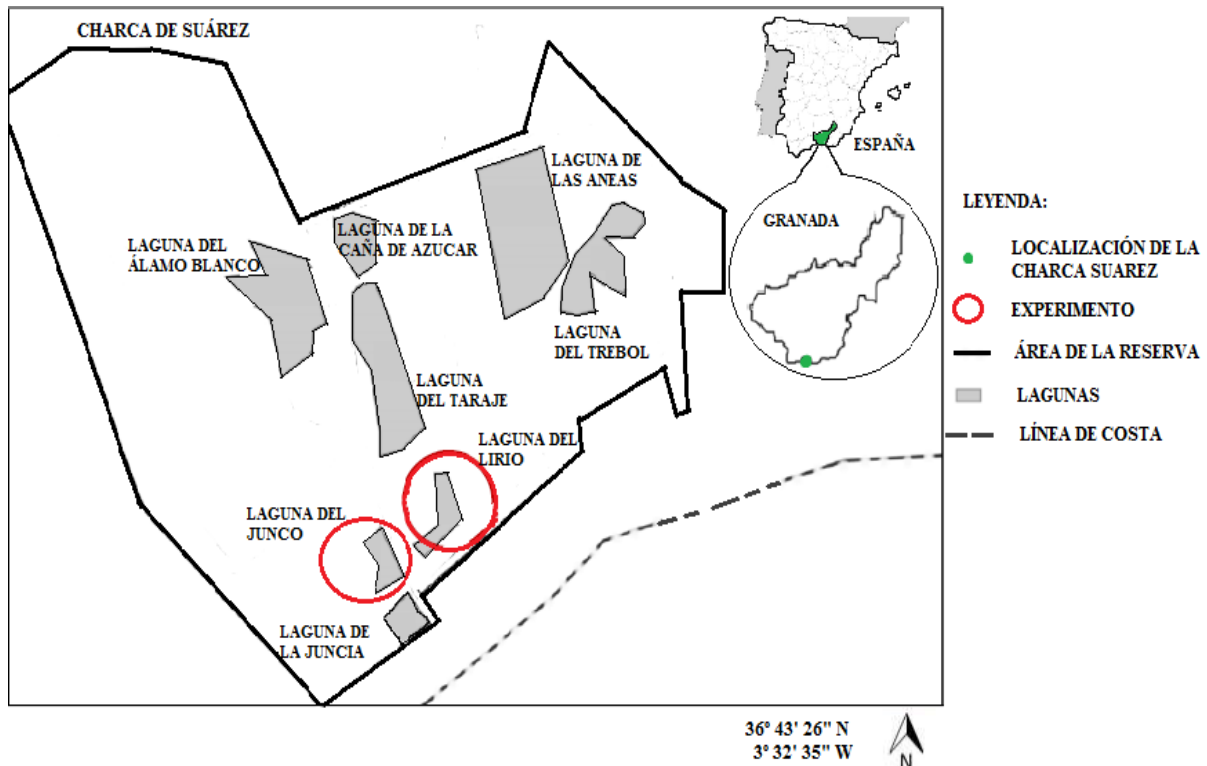


Figura 3. Imagen cartográfica de la Charca de Suárez. Rodeado en rojo las 2 lagunas donde se realizó el experimento: Laguna del Lirio y Laguna del Junco. Realización propia.

### 3.2. Diseño experimental

El experimento, realizado desde el 13 al 20 de marzo de 2019, fue un diseño experimental factorial completo ( $4 \times 2$ ) con un factor Nutrientes con 4 niveles: Control (C), adición de nitrógeno (+N), adición de fósforo (+P), adición de nitrógeno y fósforo (+NP), y un factor Macrófitos con 2 niveles: ausencia de *C. demersum* (-M) y presencia de *C. demersum* (+M), lo que resultó en 4 tratamientos, cada uno por triplicado. Se obtuvieron, por tanto, 24 unidades experimentales (Tabla 1).

Tabla 1. Esquema del diseño experimental. Las columnas representan los niveles del factor Nutrientes, y las filas los niveles del factor Macrófitos. R1 R2 y R3 son las abreviaturas de las réplicas 1, 2 y 3.

	C	+P	+N	+NP
+M	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3
-M	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3	R1 R2 R3

El experimento se completó en 2 fases, una primera fase que se desarrolló en la reserva natural concertada de la Charca de Suárez y una segunda fase de procesado de las de las muestras en el laboratorio AquaLab del Instituto del Agua (UGR).

Primera fase.

1. Preparación de los microcosmos. Los microcosmos consistieron en 24 botellas de plástico transparente PET de 1,5 L, rellenas con 1,4 L de agua tomada de la Laguna del Lirio, previamente filtrada a través de una malla de nylon de 100  $\mu\text{m}$  tamaño de poro para eliminar grandes partículas, y homogeneizada en un bidón de 50 L. El volumen de llenado de cada botella-microcosmos (1,4 L), a partir de la muestra homogénea del bidón, se midió con probeta. El volumen restante sin llenar (0,1 L) sirvió como burbuja de aire para favorecer la flotación horizontal de cada botella-microcosmos durante la incubación *in situ*, quedando todas las botellas expuestas a una irradiancia similar.

2. Elaboración de los tratamientos.

Los tratamientos +M fueron preparados de la siguiente forma: en cada botella-microcosmos se introdujo 10 g (peso fresco) de tallos de *C. demersum*, evitando su fragmentación, tomados de una muestra representativa de esta especie de macrófito de la Laguna del Lirio. Posteriormente las botellas se llenaron con 1,4 L de la muestra homogénea de agua del bidón. Por último se adicionó los nutrientes en los tratamientos correspondientes.

Para los tratamientos +N se añadió a cada réplica 1 mL de solución concentrada de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (80,04 mM), de forma que la concentración final de N en cada botella-microcosmos (1,4 L) fue de 1200  $\mu\text{g N/L}$ .

En los tratamientos +P se añadió a cada réplica 1 mL de otra solución concentrada de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (136,09 mM) de forma que la concentración final de P añadido en cada botella-microcosmos (1,4 L) fue de 100  $\mu\text{g P/L}$ .



A los tratamientos +NP se añadió a cada réplica 1 mL de las soluciones de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  de forma que la concentración final de N y P en cada botella-microcosmos (1,4 L) fue de 1200  $\mu\text{g N/L}$  y 100  $\mu\text{gP/L}$ , respectivamente.



Figura 4. Imagen que muestra el peso exacto en g de *C. demersum* que se introdujo en cada unidad experimental. Imagen de realización propia hecha el 13/3/ 2019.

3. Incubaciones *in situ*: Dos conjuntos de 12 botellas-microcosmos se dispusieron al azar sujetadas a sendos aros metálicos mediante bridas, de forma que todas las botellas quedaron orientadas hacia el exterior del aro durante la semana de incubación *in situ*. Los dos conjuntos de botellas-microcosmos fueron anclados para evitar su deriva durante el período de incubación.

En los dos días de experimentación (inicio y final del experimento) se midieron las variables físico-químicas de la columna de agua de la Laguna del Lirio, ecosistema de donde se tomó el agua para los experimentos (Anexo 1).



Figura 5. Imágenes que ilustran cómo se llevó a cabo la ejecución del experimento. Imágenes de realización propia hechas el 13/3/2019.

4. Tras la semana de incubación, se retiraron las botellas-microcosmos y durante su transporte al laboratorio se preservaron en oscuridad y frío (en neveras con hielo y acumuladores de frío) para ralentizar los procesos biológicos.

#### Fase de laboratorio.

1. El contenido acuoso de cada botella-microcosmos (obtenido tras la filtración de la fase acuosa por malla de nylon de 100  $\mu\text{m}$  de tamaño poro, para eliminar partículas de macrófitos) se dividió de la siguiente forma: 500 mL se introdujeron sin manipular en una botella PET (0,5 L) para la determinación de nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT) y otros 500 mL fueron filtrados a través de un filtro de fibra de vidrio GF/F (25 mm de diámetro, tamaño de poro de 0,7  $\mu\text{m}$ ) y recogidos en botellas PET (0.5 L) para la determinación de nitrógeno disuelto (ND) y fósforo disuelto (PD). Por tanto, se analizaron 48 sub-muestras.

2. Determinación de Nitrógeno. Se realizó siguiendo la metodología espectrofotométrica estándar (APHA, 2005). Una alícuota de 25 mL de cada muestra fue sometida a la oxidación de su contenido en N a  $\text{NO}_3^-$  con 3,5 mL de mezcla oxidante y digestión en autoclave (30 min a 120°C). La mezcla oxidante se preparó disolviendo 50 g de persulfato potásico ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ), 30

g de ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) y 14 g de hidróxido sódico ( $\text{NaOH}$ ) en 1 L de agua bi-destilada (Milli-Q). Tras la digestión, la alícuota se acidificó con la adición de 0,425 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) al 98% y se midió su absorbancia en el espectrofotómetro a 220 nm y 275 nm de longitud de onda. Se mide a estas dos longitudes de onda porque tanto los nitratos como la materia orgánica absorben a 220 nm, y la medición a 275 nm, donde solo absorbe la materia orgánica, se usa como medida de corrección de esta última. La absorbancia media de 3 blancos (preparados con 25 mL de agua destilada y sometidos al mismo tratamiento que las muestras) sirvió para corregir la absorbancia de las muestras. Todas las medidas de absorbancia fueron convertidas a valores de concentración de N a partir de la ecuación de ajuste absorbancia vs. concentración de N, obtenida de una curva de calibrado estándar de nitrato potásico ( $\text{NO}_3\text{K}$ ) con un rango de concentraciones que cubrió el rango de concentraciones de las muestras (Anexo 2).

3. Determinación de Fósforo. Se realizó siguiendo la metodología colorimétrica del molibdato ácido (APHA, 2005). Una alícuota de 25 mL de cada muestra fue sometida a la oxidación de su contenido en P a  $\text{PO}_4^{3-}$  con 3,5 mL de mezcla oxidante (descrita en el apartado anterior) y digestión en autoclave (30 min a  $120^\circ\text{C}$ ). Tras la digestión, se adicionó a la alícuota 0,75 mL de solución reductora (preparada con 17,5 g de ácido L-ascórbico [ $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ], 0,075 g de ácido etilendiaminotetraacético disódico [ $\text{EDTANa}_2$ ], y 1,5 mL de ácido fórmico [ $\text{CH}_2\text{O}_2$ ], en 250 mL de agua bidestilada Milli-Q), seguida (tras 2 minutos) de 0,75 mL de mezcla de reactivos (preparada con 0,1675 g de tartrato de antimonio y potasio [ $\text{KOOOC}(\text{CHOH}_2)$ ], 4,05 g de heptamolibdato amónico [ $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} + 4\text{H}_2\text{O}$ ] y 50 mL de ácido sulfúrico concentrado [ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 98% p/v], en 250 mL de agua bidestilada Milli-Q). El molibdato amónico y el tartrato de antimonio y potasio reaccionan en medio ácido con el P disuelto para formar un complejo de antimonio-fosfo-molibdato. El complejo se reduce con ácido ascórbico para generar un compuesto intensamente coloreado de azul, con una intensidad de color proporcional a la concentración de fósforo. Tras 20 minutos de reacción, se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a 882 nm de longitud de onda. La absorbancia media de 3 blancos (preparados con 25 mL de agua destilada y sometidos al mismo tratamiento que las muestras) sirvió para corregir la absorbancia de las muestras. Todas las medidas de absorbancia fueron convertidas a valores de concentración de P a partir de la ecuación de ajuste absorbancia vs. concentración de P, obtenida de una curva de calibrado estándar de fosfato potásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) con un rango de concentraciones que cubrió el rango de concentraciones de las muestras (Anexo 2).

### 3.3. Análisis estadísticos

Los efectos de los factores (nutrientes y macrófitos) y su interacción sobre las fracciones total (en la fase acuosa) y disuelta de N y P tras las incubaciones se testaron mediante ANOVA de 2 vías. Las diferencias entre tratamientos se examinaron mediante el test post-hoc Tukey HSD que tiene en cuenta todas las posibles comparaciones del diseño y es moderadamente conservativo frente al error (Frías-Navarro, 2016). Se validaron las asunciones de normalidad de los residuos y homogeneidad de varianza de los datos mediante el test de Shapiro y de Levene, respectivamente. Todos los test estadísticos se llevaron a cabo mediante el software R 3.6.1., con los paquetes “readxl”, “emmeans” y “lsmeans”. Los scripts y las tablas de resultados estadísticos se detallan en los Anexos 3 y 4.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Fósforo

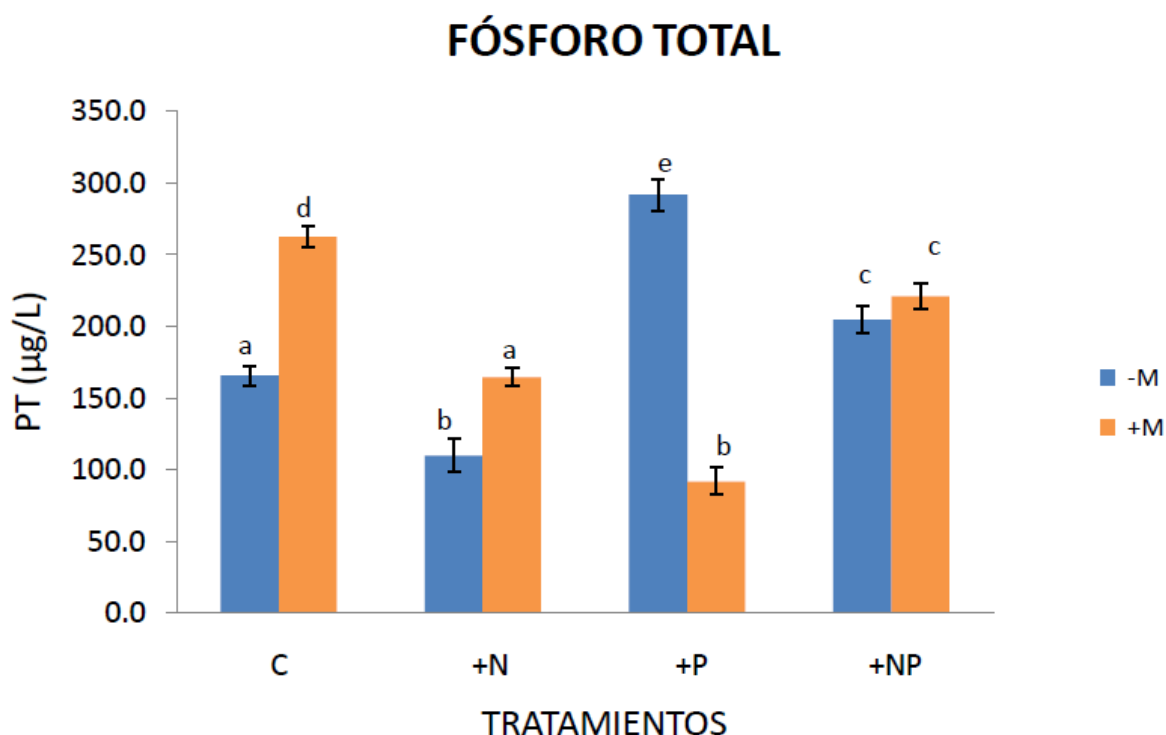


Figura 6. Concentración final de PT en los tratamientos experimentales. Las barras de error representan  $\pm 1$  desviación estándar. Letras diferentes sobre las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos según el análisis post hoc. Los datos por réplica se detallan en el Anexo 5. Abreviaturas: C, control; +N, adición de N; +P, adición de P; +NP, adición de N y P; +M: presencia del macrófito; -M: ausencia del macrófito.

## FÓSFORO DISUELTO

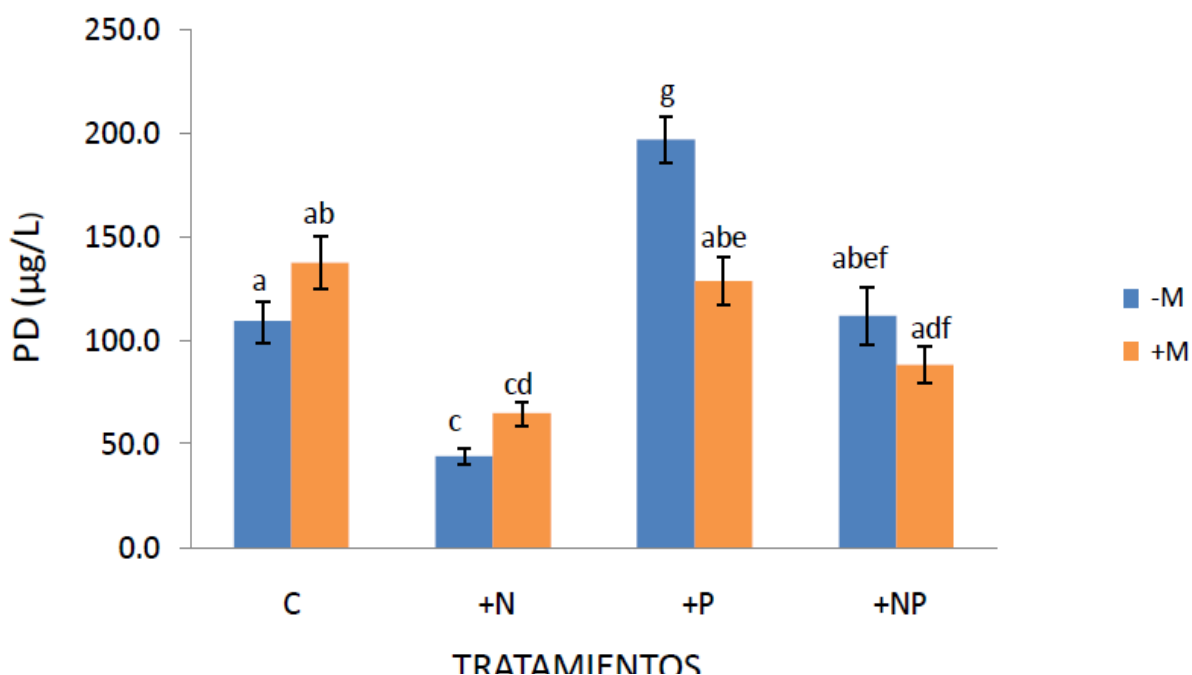


Figura 7. Concentración final de PD en los tratamientos experimentales. Las barras de error representan  $\pm 1$  desviación estándar. Letras diferentes sobre las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos según el análisis post hoc. Los datos por réplica se detallan en el Anexo 5. Abreviaturas: C, control; +N, adición de N; +P, adición de P; +NP, adición de N y P; +M: presencia del macrófito; -M: ausencia del macrófito.

Contrariamente a nuestra hipótesis, la concentración final de PT aumentó por la presencia del macrófito (+M vs. -M) en los tratamientos control C y +N (58.92% y 49.75%, respectivamente, Figura 10). Esto se podría explicar por una liberación de P al medio por parte del macrófito, aumentando su concentración en la fase acuosa. En este sentido, estudios previos muestran aportes efectivos de nutrientes al medio desde los macrófitos (Franco et al. 2010; Hicks & Frost, 2011). Los valores medios del PD mostraron la misma tendencia que el PT para los mismos tratamientos, pero las diferencias no fueron significativas (Figura 11). Este resultado no invalida la explicación anterior, ya que el P liberado como PD por el macrófito pudo ser rápidamente incorporado por el plancton que suele estar ávido por captar P, incluso como consumo de lujo (Solovchenko et al. 2019).

Por el contrario, y de acuerdo con nuestra hipótesis, la concentración final de PT y PD disminuyó por la presencia del macrófito (+M vs. -M) en el tratamiento +P (68.56% y 34.78% para PT y PD, respectivamente, Figuras 10 y 11). Este resultado sugiere que ante un aumento de la concentración de P en el sistema, el macrófito pudo retirar una significativa cantidad de este nutriente, que está más disponible en este tratamiento por la propia adición de P y que,

según los elevados valores de PD, no estaría siendo fuertemente consumido por el plancton. Sin embargo, en el tratamiento +NP no hubo diferencias significativas de PT ni PD debidas a la presencia del macrófito (+M vs. -M), indicando que la mayor disponibilidad de N y P no se tradujo en una retención diferencial de P por el macrófito, frente a su potencial consumo por el plancton (valores de PD significativamente menores que en el tratamiento +P -M, Figura 11), lo que sugiere una co-limitación del plancton por ambos nutrientes (Allgier et al. 2011).

En presencia del macrófito (+M), la concentración final de PT y PD disminuyó en el tratamiento +N, y PT disminuyó en el tratamiento +P, en comparación con el control C (+N: 37.42% y 53.11% de disminución para PT y PD, respectivamente; +P: 65.07% de disminución; Figuras 10 y 11). Este resultado podría indicar que una entrada pulsada de N ó P solos pudo hacer que el macrófito retirara una cantidad significativa de P, en consonancia con la capacidad de los macrófitos de retener P (Dai et al. 2012; Song et al. 2018). Es llamativo que, en presencia del macrófito (+M), la concentración final de también PT y PD disminuyó en el tratamientos +NP respecto al control C (15.80% y 35.92% de disminución para PT y PD, respectivamente; Figuras 10 y 11). Esto sugiere que ante, una entrada combinada de ambos nutrientes conjuntamente, el macrófito pudo retirar una significativa cantidad de P del medio acuoso, posiblemente como resultado de la estimulación de su crecimiento, de acuerdo con nuestra hipótesis. Estos resultados en Charca Suárez, con una altitud al nivel del mar y un ambiente relativamente cálido (piso termomediterráneo en el sur de la Península Ibérica) concuerdan con los de Dai et al. (2012) y Song et al. (2018), que comparan los efectos de los macrófitos sobre la calidad del agua a distintas latitudes y observan que los macrófitos no enraizados, como es el caso de *C. demersum* a latitudes bajas, donde las temperaturas del agua son más altas y hay mayor irradiancia, tienen un gran efecto sobre la retirada de P.

## 4.2. Nitrógeno

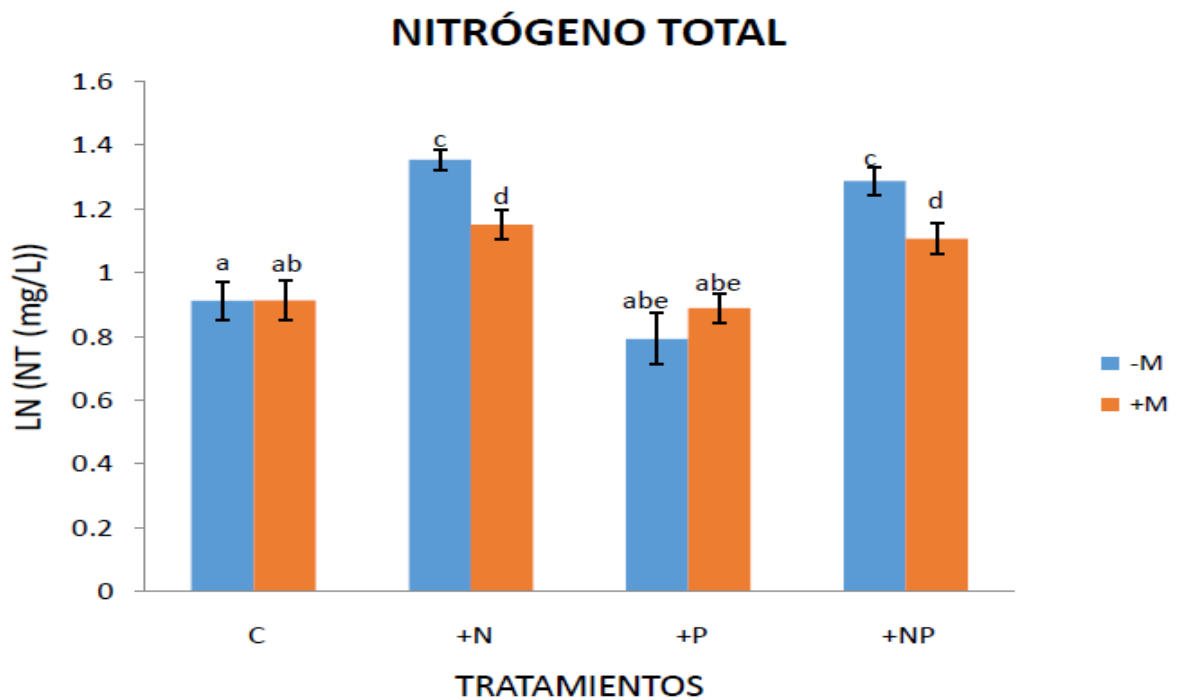


Figura 8. Concentración final de NT en los tratamientos experimentales. Las barras de error representan  $\pm 1$  desviación estándar. Letras diferentes sobre las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos según el análisis post hoc. Los datos por réplica se detallan en el Anexo 6. Abreviaturas: C, control; +N, adición de N; +P, adición de P; +NP, adición de N y P; +M: presencia del macrófito; -M: ausencia del macrófito.

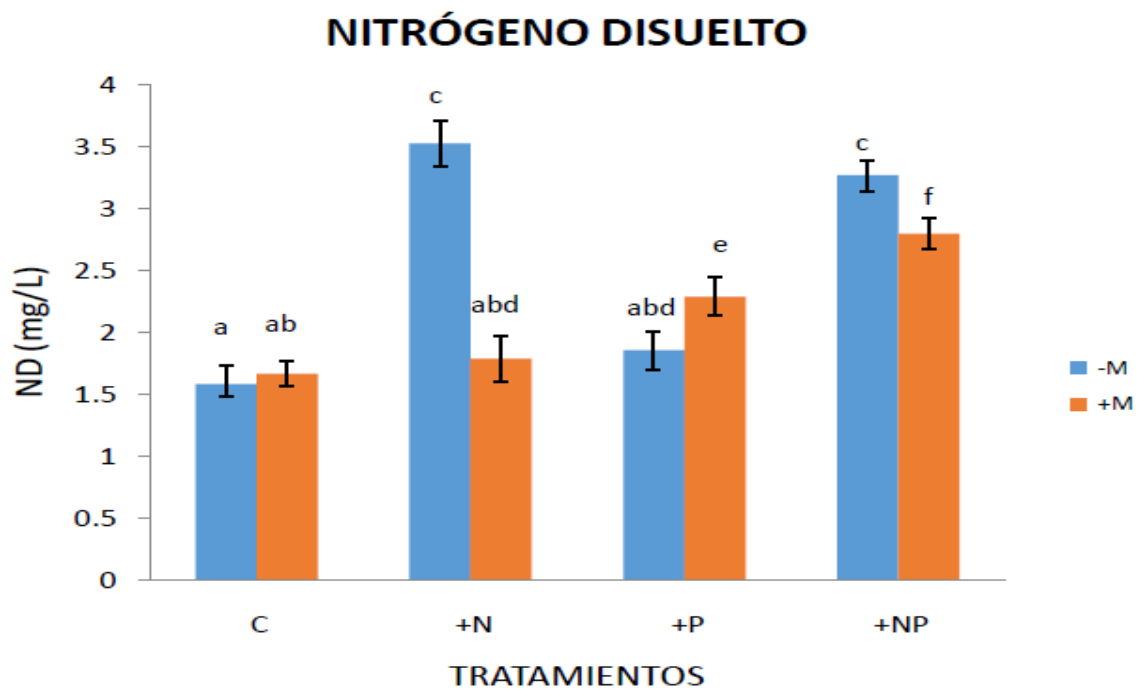


Figura 9. Concentración final de ND en los tratamientos experimentales. Las barras de error representan  $\pm 1$  desviación estándar. Letras diferentes sobre las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos según el análisis post hoc. Los datos por réplica se detallan en el Anexo 6. Abreviaturas: C, control; +N, adición de N; +P, adición de P; +NP, adición de N y P; +M: presencia del macrófito; -M: ausencia del macrófito.

De acuerdo con nuestra hipótesis, la concentración final de NT y ND disminuyó por la presencia del macrófito (+M vs. -M) en los tratamientos +N y +NP (+N: 15.07% y 49.32% para NT y ND, respectivamente; +NP: 14.05% y 14.49% para NT y ND, respectivamente; Figuras 12 y 13). Por tanto, ante una entrada pulsada de N o de ambos nutrientes conjuntamente, el macrófito pudo retirar cierta cantidad de N, disminuyendo su disponibilidad para el plancton. Sin embargo, no hubo diferencias en la concentración final de NT y ND debido a la presencia del macrófito (+M vs. -M) en los tratamientos control C ni +P. Por tanto, el N (NT y ND) mostró un patrón de respuesta distinto y en cierto modo complementario, al observado para PT y PD (en el control C, en el tratamiento del nutriente recíproco +N, y en el tratamiento +NP).

La concentración final de NT no mostró diferencias significativas entre el tratamiento +P y el control C, tanto en presencia como en ausencia del macrófito (Figura 12), pero sí la concentración final de ND, que aumentó (un 37.44%) en el tratamiento +P +M (Figura 13). Esta respuesta se puede explicar por el aporte de N desde el macrófito, tal y como muestran Franco et al. (2010) y Hicks & Frost (2011). Por tanto, ante una entrada pulsada de P, al no disminuir (e incluso aumentar) la concentración de N en el medio acuoso se deduce que el macrófito no compite por el N cuando hay P en el medio, lo que contrasta con la respuesta del PT, que disminuyó cuando hubo una entrada pulsada de N, de P o de ambos nutrientes (Figura 12), y también con los resultados mostrados por Dai et al. (2012) y Song et al. (2018) de retirada de P por los macrófitos.

En presencia del macrófito, la concentración final de NT y ND aumentó en el tratamiento +NP con respecto al control C (21.15% y 67.80% de aumento para NT y ND, respectivamente, Figuras 12 y 13). Este resultado, que contrasta con el observado para PT y PDT con las mismas comparaciones (Figuras 10 y 11), sugiere que el macrófito no tiene la misma capacidad de extracción del N que la que mostraba para el P en el tratamiento +NP. Esta mayor preferencia por el P concuerda con los resultados de Dai et al. (2012) y Song et al. (2018). Por tanto los resultados sugieren que, ante un incremento de la concentración del N en el medio, el macrófito puede retenerlo, pero la competencia con el plancton hace que la retención sea menor que la que habría en ausencia del plancton competidor.

Finalmente, del conjunto de resultados obtenidos, deducimos que el planton puede presentar co-limitación por el N y P, mientras que el macrófito tiene mayor preferencia y retira más eficientemente el P que el N en comparación con el plancton. Éste último tendría mayor



preferencia por N que por el P Esta idea concuerda con los resultados obtenidos por Abell & Hamilton (2015) y Yanan et al. (2020) que muestran la existencia de especies del fitoplancton con mayor afinidad por el N que por el P.

## 5. CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

En conclusión, los resultados de este trabajo

- 1) sugieren la existencia de colimitación del plancton por N y P, y limitación por P del macrófito *C. demersum*
- 2) concuerdan con la capacidad de los macrófitos como *C. demersum*, mostrada en la literatura, de liberar y retener nutrientes de la columna de agua.
- 3) muestran una mayor capacidad del macrófito *C. demersum* que del plancton para retirar P, mientras que el N es preferentemente retenido por el plancton.

Implicaciones. Desde un punto de vista de gestión, para promover y mantener el estado de aguas claras en las lagunas de Charca Suárez, proponemos como medida de gestión mantener las poblaciones de *C. demersum* (evitar su erradicación por un manejo excesivo) y disminuir las entradas de N a las lagunas. Esta tarea probablemente es más sencilla de realizar que la de disminuir la entrada de P; por ejemplo, haciendo pasar el agua desde los “balates” de entrada, a través de balsas de desnitrificación, antes de llegar a las lagunas. Con la reducción en la entrada de N, este nutriente se volvería limitante para el plancton, y el P en exceso sería extraído preferentemente por *C. demersum*, haciendo que el P se torne también limitante para el fitoplancton, dada su colimitación por N y P, y por tanto, disminuyendo su capacidad de desarrollo excesivo (“blooms”). .

No obstante, con la solución anterior, no se puede descartar que siga ocurriendo una proliferación excesiva de *C. demersum* desde el punto de vista del mantenimiento de aguas libres en las lagunas, por lo que habría que seguir retirando de manera manual, como hasta ahora, el exceso de biomasa de este macrófito para minimizar la colmatación de las lagunas. Se recomienda realizar nuevos estudios para determinar qué densidades de este macrófito se alcanzarían con la reducción en la entrada de N mediante la aplicación de la propuesta descrita anteriormente.

Además, el mantenimiento de una población controlada y estable de *C. demersum* favorece, a través de los refugios, el desarrollo del zooplankton que se alimenta del fitoplancton, por lo que el mantenimiento del macrófito también es una forma indirecta de controlar esos afloramientos algales indeseados, con una intervención antrópica mínima y que no genere problemas secundarios no deseados.

Finalmente, creemos necesario mantener y potenciar el laboratorio de seguimiento de Charca de Suárez, que ya monitoriza *in situ* de forma continua los parámetros biológicos, físicos y químicos indicativos de eutrofización de las lagunas, para poder hacer diagnósticos y predicciones a largo plazo sobre las posibles intervenciones humanas (como la propuesta en este trabajo) para mejorar la calidad del agua de las lagunas, uno de los principales objetivos de la Limnología (Reynolds, 2000) y de la Directiva Europea Marco del Agua.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Abell, J. M., & Hamilton, D. P. (2015). Biogeochemical processes and phytoplankton nutrient limitation in the inflow transition zone of a large eutrophic lake during a summer rain event. *Ecohydrology*, 8(2), 243-262.
- Allgeier, J. E., Rosemond, A. D., & Layman, C. A. (2011). The frequency and magnitude of non additive responses to multiple nutrient enrichment. *Journal of Applied Ecology*, 48(1), 96-101.
- Álvarez Rogel, J., González Alcaraz, M. N., Conesa Alcaraz, H. M., Tercero Gómez, M. D. C., Párraga Aguado, I. M., María Cervantes, A., & Jiménez Cárceles, F. J. (2016). Eutrofización y contaminación por residuos mineros en humedales del Mar Menor: comprendiendo los procesos biogeoquímicos para plantear posibles actuaciones de manejo.
- American Public Health Association (APHA). (2005). Federation, W. E., & American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, DC, USA.
- Anderson, D. M., Glibert, P. M., & Burkholder, J. M. (2002). Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries*, 25(4), 704-726.
- Ateia, M., Yoshimura, C., & Nasr, M. (2016). In-situ biological water treatment technologies for environmental remediation: a review. *J Bioremediation Biodegrad*, 7(3).
- Ayuntamiento de Motril: Charca de Suárez. Información obtenida de la página web: AyuntamientodeMotril.es URL: <http://www.motril.es/index.php?id=1343> (18 de mayo, 2020).
- Barrow, J. L., Beisner, B. E., Giles, R., Giani, A., Domaizon, I., & Gregory-Eaves, I. (2018) Macrophytes moderate the taxonomic and functional composition of phytoplankton assemblages during a nutrient loading experiment. *Freshwater Biology*. 00, 1-13.
- Bhagowati, B., & Ahamad, K. U.* (2019). A review on lake eutrophication dynamics and recent developments in lake modeling. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 19(1), 155-166.
- Brenner, M., Rosenmeier, M. F., Hodell, D. A., Curtis, J. H., Anselmetti, F., & Ariztegui, D. (2002). Limnología y paleolimnología de Petén, Guatemala. *Revista Universidad del Valle de Guatemala*, 12, 2-9.
- Brinson, M. M., Lugo, A. E., & Brown, S. (1981). Primary productivity, decomposition and consumer activity in freshwater wetlands. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 12(1), 123-161.
- Castellanos, C. A. (2006). Los ecosistemas de humedales en Colombia. *Revista luna azul*, 1-5.
- Chambers, P. A., & Prepas, E. E. (1990). Competition and coexistence in submerged aquatic plant communities: the effects of species interactions versus abiotic factors. *Freshwater Biology*, 23(3), 541-550.
- Cirujano, S., Cambra, J. & Gutiérrez, C. (2005). Metodología para el establecimiento del Estado Ecológico según la Directiva MARCO del Agua. Protocolos de Muestreo y análisis para macrófitos. Ministerio de Medio Ambiente. Confederación hidrográfica del Ebro. 33 pp.
- Cirujano, S. & Medina, L. (2002). Plantas acuáticas de las lagunas y humedales de Castilla. La Mancha. Real Jardín Botánico. CSIC. Junta de Comunidades de Castilla. La Mancha. 340 pp.
- CMA-JA (Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía) (2007): Inventario de humedales de Andalucía (I.H.A), Charca de Suárez. 5-9. URL: [http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/web/Bloques\\_Tematicos/Patrimonio\\_Natural.\\_Uso\\_Y\\_Gesti](http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/web/Bloques_Tematicos/Patrimonio_Natural._Uso_Y_Gesti)

- on/Espacios\_Protegidos/humedales/inventario\_humedales\_provincias/granada/charca\_suarez\_ficha.pdf (4 de marzo, 2020)
- Cooke, G. D., Welch, E. B., Peterson, S., & Nichols, S. A. (2016). *Restoration and management of lakes and reservoirs*. CRC press.
- Coronas, Á. M. B., Chicano, M. L., Quesada, M. L. C., Calvache, C. D., & Herrera, J. B. (2018). Estudio preliminar de los humedales de la charca de Suárez en relación con el acuífero Motril-Salobreña. In *Congreso Nacional del Agua Orihuela: Innovación y Sostenibilidad* (pp. 1327-1336). Universitat d'Alacant/Universidad de Alicante.
- Cruz-Pizarro, L., De Vicente, I., Moreno-Ostos, E., Amores, V., & El Mabrouki, K. (2003). Estudios de diagnóstico y viabilidad en el control de la eutrofización de las lagunas de la Albufera de Adra. *Limnetica*, 22(1-2), 135-154.
- Cruz-Pizarro, L., González, E. M., El Mabrouki, K., de Vicente, I., Da Silva, S. L. R., Amores, M. V., & Roland, D. F. (2003). Aplicación de técnicas de biomanipulación para la gestión de la eutrofización en las Albuferas de Adra. Primeros Resultados. In *Ecología, manejo y conservación de los humedales* (pp. 25-34). Instituto de Estudios Almerienses.
- Dai, Y., Jia, C., Liang, W., Hu, S., & Wu, Z. (2012). Effects of the submerged macrophyte *Ceratophyllum demersum* L. on restoration of a eutrophic waterbody and its optimal coverage. *Ecological Engineering*, 40, 113-116.
- Delgado, S., Calvache, F., López, D., Ortega, M., Vivas, S., del Mar Bayo, M., ... & Jiménez, J. J. C. (2003). Inventario abierto de los humedales de la región semiárida almeriense: consideraciones sobre su tipificación. In *Ecología, manejo y conservación de los humedales* (pp. 171-186). Instituto de Estudios Almerienses.
- Dokulil, M. T., & Teubner, K. (2010). Eutrophication and climate change: present situation and future scenarios. Eutrophication: causes, consequences and control. 1-16. *Springer Science & Business Media*.
- Elser, J. J., Bracken, M. E., Cleland, E. E., Gruner, D. S., Harpole, W. S., Hillebrand, H., ... & Smith, J. E. (2007). Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology letters*, 10(12), 1135-1142.
- Elser, J. J., Marzolf, E. R., & Goldman, C. R. (1990). Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton growth in the freshwaters of North America: a review and critique of experimental enrichments. *Canadian Journal of fisheries and aquatic sciences*, 47(7), 1468-1477.
- Europa Press: Reintroducen 250 ejemplares de pez fartet en la Reserva Natural Charca Suárez (Granada). (2019). Información obtenida a 31 de mayo, 2020. URL: <https://www.europapress.es/esandalucia/granada/noticia-reintroducen-250-ejemplares-pe-z-fartet-reserva-natural-charca-suarez-granada-20190717162112.html>
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2015). Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030. Informe FAO resumido. Descargado de: <http://www.fao.org/3/y3557s/y3557s11.htm#r> (4 de marzo, 2020).
- Franco, D. P. M., Manzano, J. Q., & Cuevas, A. L. (2010). Métodos para identificar, diagnosticar y evaluar el grado de eutrofia. *Contactos*, 78, 25-33.
- Frías Navarro, M. D. (2016). Diseño entre-grupos univariado unifactorial con A>2. Contraste de hipótesis específicas. Universidad de Valencia. Descargado de: <http://www.uv.es/friasnav/> (5 de marzo, 2020).
- Galicia-García, M. T., Romero-Berny, E. I., Mera-Ortíz, G., & López-Vila, J. M. (2019). Efecto del hábitat sobre la avifauna del sistema lagunar costero La Joya-Buenavista, Chiapas, México. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 6(17), 317-331.
- García Miranda, F. G., & Miranda Rosales, V. (2018). Eutrofización, una amenaza para el recurso hídrico.
- García Murillo, P., Fernández Zamudio, R. & Cirujano, S. (2009, eds.). Los habitantes del agua. Macrófitos. Agencia Andaluza del Agua. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. 282 pp.
- Gulati, R. D., Pires, L. M. D., & Van Donk, E. (2008). Lake restoration studies: failures, bottlenecks and prospects of new ecotechnological measures. *Limnologia*, 38(3-4), 233-247.
- Harke, M. J., Steffen, M. M., Gobler, C. J., Otten, T. G., Wilhelm, S. W., Wood, S. A., & Paerl, H. W. (2016). A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. *Harmful Algae*, 54, 4-20.
- Hicks, A.L. & Frost, P.C. (2011). Shifts in aquatic macrophyte abundance and community composition in cottage developed lakes of the Canadian Shield. *Aquatic Botany*. 94: 9-16.
- Keddy, P. A. (2010). *Wetland ecology: principles and conservation*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Kelly, L. A., & Hassall, C. (2018). The spatial ecology of phytoplankton blooms in UK canals. *Inland Waters*, 8(4), 422-433.
- Lawniczak-Malińska, A. E., & Achtenberg, K. (2018). On the use of macrophytes to maintain functionality of overgrown lowland lakes. *Ecological Engineering*, 113, 52-60.
- Le Moal, M., Gascuel-Odoux, C., Ménesguen, A., Souchon, Y., Étrillard, C., Levain, A., ... & Pinay, G. (2019). Eutrophication: A new wine in an old bottle? *Science of the total environment*, 651: 1-11.
- Margalef, R. 1983. *Limnología*. Omega. Barcelona.

- Martínez, J., Carreño, M. F., Palazón, J. A., González, J. C., & Esteve, M. A. (2011). Estudio y caracterización de las comunidades vegetales e hidrogeomorfología de criptohumedales semiáridos mediterráneos mediante SIG y LIDAR. In *VII Congreso Ibérico sobre Gestión y Planificación del Agua "Ríos Ibéricos"* (Vol. 10).
- Martín Moreno, E. (2014). Estudio de la vegetación macrófita del humedal litoral de la Charca de Suárez.
- Mitsch, W. J., Gosselink, J. G., Zhang, L., & Anderson, C. J. (2009). *Wetland ecosystems*. John Wiley & Sons. New York.
- Mjelde, M., & Faafeng, B. (1997). Ceratophyllum demersum hampers phytoplankton development in some small Norwegian lakes over a wide range of phosphorus concentrations and geographical latitude. *Freshwater biology*, 37(2), 355-365.
- Mulder, K. (2007). Modeling the dynamics of nutrient limited consumer populations using constant elasticity production functions. *Ecological modelling*, 207(2-4), 319-326.
- Nazari-Sharabian, M., Ahmad, S., & Karakouzian, M. (2018). Climate change and eutrophication: A short review. *Engineering, Technology and Applied Science Research*, 8(6), 3668.
- Pérez, M. & Rojo, C. (2000). Función depuradora de los humedales I. Una revisión bibliográfica sobre el papel de los macrófitos. *Sehumed*. 14.
- Uruguay, R. A. P. A. L. (2010). Contaminación y eutrofización del agua. *Impactos del modelo de agricultura industrial. Uruguay*.
- Rey Benayas, J. M., Pérez Pérez, C., González Bernáldez, F., & Zabaleta Franco, M. (1990). Tipología y cartografía por foto interpretación de los humedales de las cuencas del Duero y del Tajo. *Mediterránea. Serie de Estudios Biológicos*, N. 12 (mayo 1990); pp. 5-25.
- Reynolds, C. S. (2000). Limnology in the new century: c. 21 topics for research. *Limnology*, 1(1), 11-17.
- Selman, M., Greenhalgh, S., Diaz, R. & Sugg, Z. (2008). Eutrophication and hypoxia in coastal areas: a global assessment of the state of knowledge. *WRI Policy Note*, 1-6.
- Sepúlveda, L. D., Lecomte, K. L., Pasquini, A. I., Mansilla, E. G., & Chaparro, M. A. E. (2019). Propiedades geoquímicas y magnéticas de sedimentos como indicadores de contaminación. Caso de estudio: río Suquía, Córdoba, Argentina. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 36(2), 183-194.
- Shukla, V., & Kumar, N. (Eds.). (2019). *Environmental Concerns and Sustainable Development: Volume 2: Biodiversity, Soil and Waste Management*. Springer.
- Smith, D. R., King, K. W., & Williams, M. R. (2015). What is causing the harmful algal blooms in Lake Erie?. *Journal of Soil and Water Conservation*, 70(2), 27A-29A.
- Solovchenko, A. E., Ismagulova, T. T., Lukyanov, A. A., Vasileva, S. G., Konyukhov, I. V., Pogosyan, S. I., Lobakova, E. S. & Gorelova, O. A. (2019). Luxury phosphorus uptake in microalgae. *Journal of Applied Phycology* 31, 2755–2770.
- Song, Y., Liew, J. H., Sim, D. Z., Mowe, M. A., Mitrovic, S. M., Tan, H. T., & Yeo, D. C. (2018). Effects of macrophytes on lake-water quality across latitudes: a meta-analysis. *Oikos*. 128, 468-481.
- Sutton, M. A., Howard, C. M., Erisman, J. W., Billen, G., Bleeker, A., Grennfelt, P., ... & Grizzetti, B. (Eds.). (2011). *The European nitrogen assessment: sources, effects and policy perspectives*. Cambridge University Press.
- Vallentyne, J. R., 1972. Freshwater supplies and pollution: Effects of the demographic explosion on water and man. In *The environment future*, edit. N. Polunin. The Macmillan Press, Ltd., págs. 181-211.
- Veas-Ayala, N., Quesada-Román, A., Hidalgo, H. G., & Alfaro, E. J. (2018). Humedales del Parque Nacional Chirripó, Costa Rica: características, relaciones geomorfológicas y escenarios de cambio climático. *Revista de Biología Tropical*, 66(4), 1436-1448.
- Xu, X., Zhou, Y., Han, R., Song, K., Zhou, X., Wang, G., & Wang, Q. (2019). Eutrophication triggers the shift of nutrient absorption pathway of submerged macrophytes: Implications for the phytoremediation of eutrophic waters. *Journal of environmental management*, 239, 376-384.
- Yanan, H., Yiping, L., Daobin, J., Nwankwegu, A. S., Qiuying, L., Zhengjian, Y., ... & Norgbey, E. (2020). Study on nutrient limitation of phytoplankton growth in Xiangxi Bay of the Three Gorges Reservoir, China. *Science of The Total Environment*, 138062.

## 7. ANEXOS

[https://drive.google.com/open?id=1JoD4Y27nWRLl\\_3ev3H4xJ-59YgGcb\\_vZ](https://drive.google.com/open?id=1JoD4Y27nWRLl_3ev3H4xJ-59YgGcb_vZ)