INFORME julio-diciembre 2019 Prórroga hasta 31 de marzo de 2020

ESTABLECIMIENTO DE SERIES TEMPORALES LARGAS (BENTOS, ZOOPLANCTON E ICTIOPLANCTON) Y DE SUS IMPLICACIONES EN LA GESTIÓN Y MEJORA DEL ESTUARIO, ASÍ COMO DE SU INTEGRACIÓN EN LOS OBJETIVOS DE LA FWD Y DE LA MSFD Y ESTUDIOS BACI (BEFORE AFTER CONTROL IMPACT) DE LOS DRAGADOS DE MANTENIMIENTO A REALIZAR DURANTE LA CAMPAÑA 2019.



# ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	.03
2. ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS EN EL	
ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR	.03
2.1. OBJETIVOS	. 04
2.2. ACTUACIONES REALIZADAS	.05
2.2.1. SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD	
BENTÓNICA EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (2019)	.05
2.2.1.1. ÁREA DE ESTUDIO	. 05
2.2.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS	.05
2.2.1.2.1. OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS	. 06
2.2.1.2.2. OBTENCIÓN DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS	08
2.2.1.2.2.1. Perfiles físico-químicos de la	
columna de agua	09
2.2.1.2.2.2. Granulometria	09
2.2.1.2.2 TRATAMENTO DE LOS DATOS	.11 12
	•12
2.2.1.2.3.1 Análisis descriptivos de la comunidad	.13
Z.Z. I.Z. S.Z. Analisis Multivariances	.13
2.2.1.2.3.2.1. Indicadores de los elementos	
de calidad biológicos	.15
2.2.1.2.3.2.2. M-AMBI	.16
2.2.1.3 DESULTADOS	· 19
2.2.1.3.  RESULTADOS	. 20 23
2.2.2.1. MATERIAL Y MÉTODOS	23 74
2.2.2.1.1. ISOTOPOS METALES Y NUTRIENTES	. 26
2.2.2.2. RESULTADOS	. 28
2.2.3. EFECTO DE LOS DRAGADOS DE MANTENIMIENTO EN LA ZONA	
DE LA ISLETA	. 31
2.2.3.1. MATERIAL Y METODOS	, 31
2.2.3.2. RESULTADOS	. 33
2.3. REFERENCIAS IBLIOGRÁFICAS	. 38
3. ESTUDIO DEL ICTIOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR	.40
3.1. OBJETIVOS	. 40
3.2. ACTUACIONES REALIZADAS	. 40
3.2.1. SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD DE	

ICTIOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2019). 3.2.1.1. ÁREA DE ESTUDIO	41 41
3.2.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS	42
3.2.1.2.1. OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS	42
3.2.1.2.2. TRATAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS	43
3.2.1.2.3. OBTENCIÓN DE MUESTRAS FÍSICO-OUÍMICAS	
3.2.1.2.3.1. Sólidos totales, materia orgánica	
e inorgánica en suspensión	. 43
3.2.1.2.3.2. Nutrientes	44
3.2.1.2.3.3. Clorofila	.44
3.2.1.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS	44
3.2.1.3. RESULTADOS	. 45
3.2.1.3.1. RESULTADOS VARIABLES FÍSICO-OUÍMICAS	.45
3.2.1.3.1.1. Sólidos totales, materia orgánica	
e inorgánica en suspensión y turbidez	.45
3.2.1.3.1.2. Clorofila	.47
3.2.1.3.1.3. Perfiles físico-químicos de la	
columna de agua	. 47
3.2.1.3.1.3.1 Temperatura	. 48
3.2.1.3.1.3.2 Turbidez	. 49
3.2.1.3.1.3.3. Oxígeno disuelto	50
3.2.2. DETERMINACIÓN EN LA ZONA ALTA DEL ESTUARIO DE LAS VARIACIONES Y ALTERACIONES DE LAS CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICA (DE ORIGEN NATURAL O ANTRÓPICO) QUE AFECTAN A LA COMUNIDAD PLANCTÓNICA Y CARACTERIZACIÓN DEL POTENCIAL	IS
EFECTO	51
3.2.2.1. MONITORIZACIÓN DE LA VARIACIÓN FÍSICO-QUÍMICA EN LA COLUMNA DE AGUA DE LA ZONA ALTA DEL ESTUARIO DURANTE UN CICLO DE MAREA COMPLETO	
(FASE DE LLENANTE Y VACIANTE)	52
3.2.2.1.1. ÁREA DE ESTUDIO	. 52
3.2.2.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS	. 53
3.2.2.1.2.1. Obtención de muestras	E.S
JISICO-QUIMICOS	, 33 52
	, JJ
3 3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	רכ., 58
CALLET EVELOPING DIRECOLUMN TORONOMIC CONTRACTOR CONTRA	

# 1. INTRODUCCIÓN

Este informe concierne al primer año (periodo enero 2018 a abril de 2019: de prórroga para finalización de análisis de enero a abril de 2019) de los cuatro previstos (Fase II, primer año + tres años) para dar continuidad al proyecto inicial (periodo 2013-2017). Pretende, entre otros objetivos, seguir generando información que coadyuve a implementar series temporales largas de datos las cuales permitan conocer con mayor precisión el comportamiento y la evolución del estuario desde una perspectiva pluridisciplinar, con la finalidad de poder desarrollar una mejor gestión del mismo, y ello teniendo en consideración los diferentes tipos de intereses que en él confluyen desde una perspectiva de sostenibilidad ambiental. Así mismo, se pretende en el tiempo contribuir, con la Administración Ambiental competente de la Junta de Andalucía, al control y vigilancia ecológica y medioambiental de sus aguas, así como de las litorales próximas a la desembocadura.

En esta Fase II, primer año, se han desarrollado actuaciones importantes en el ámbito del bentos y del plancton marino, cuyos principales resultados se exponen en este informe.

La correcta gestión y control de los recursos de cualquier sistema natural precisa del conocimiento de las estructuras biológica y física de ese sistema, sus relaciones ecológicas y, como consecuencia, de la influencia de las actividades socioeconómicas (De Jonge, 2000). Un estuario entraña un sistema muy complejo y heterogéneo que alberga una gran variedad de tipos de hábitat. Cada uno de estos tipos de hábitat presenta unas comunidades biológicas características que, potencialmente, están expuestas a diferentes tipos de perturbaciones. La gestión de un estuario necesita, por tanto, tener en cuenta esa variedad y las relaciones existentes entre estos tipos de hábitat dentro del estuario, además de las relaciones con los tipos de hábitat de las áreas costeras circundantes (Thrush *et al.*, 1994; Lindegarth y Hoskin, 2001). En este sentido, la escala temporal de un estudio es clave para el correcto funcionamiento de cualquier plan de seguimiento de las comunidades marinas y/o estuarinas (Comín *et al.*, 2004). Algunos aspectos de la perturbación ambiental sólo pueden ser identificados si existen suficientes datos en series temporales largas. Fluctuaciones naturales en la estructura de la comunidad pueden ser atribuidas erróneamente a perturbaciones antropogénicas sin esa perspectiva de largo plazo (de Paz *et al.*, 2008).

# 2. ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR

Uno de los principales objetivos es establecer series temporales largas del estado de las comunidades bentónicas que sirvan como "centinelas" de los posibles cambios que se originen en el sistema del estuario del Guadalquivir. En este sentido, a partir del año 2015 se ha iniciado un plan de seguimiento sobre las comunidades bentónicas presentes en los aproximadamente 30-40 km finales del estuario del río Guadalquivir y áreas próximas de la desembocadura. Desde la

campaña de 2017 se ha incluido el seguimiento paralelo de las comunidades intermareales, una de las zonas más biodiversas del estuario.

Al respecto, el bentos del estuario incluye numerosas especies sedentarias estrictas (en su fase adulta) las cuales pueden reportar importante información sobre su nivel de estructuración biológica, biodiversidad y sensibilidad ambiental ante determinadas afecciones de origen natural y antrópico, lo que puede contribuir en el futuro a una mejor gestión de actuaciones antropogénicas, como las derivadas de los dragados de mantenimiento que la Autoridad Portuaria de Sevilla debe acometer periódicamente.

## 2.1. OBJETIVOS

Las comunidades animales del bentos representan el compartimento de la fauna que se encuentra asociado al fondo, y están constituidas por organismos en gran parte sésiles o de movimientos muy limitados y por tanto con poca capacidad de huida. Muchos animales del bentos suelen presentar ciclos de vida suficientemente largos como para permanecer bajo la influencia de los factores ambientales durante mucho tiempo por lo que pueden servir de centinelas de lo que acontece en el medio, no ya como especies individuales sino tomando como referencia la composición y estructuración de la comunidad global. El estrés ambiental influye sobre los organismos de forma individual, pero sus efectos pueden ser reconocidos en el ámbito de poblaciones o de comunidades, ya que inducen cambios cuantitativos y cualitativos en la estructura de estas comunidades. Además, suponen un importante elemento para el desarrollo y funcionamiento de las redes tróficas que implican a otros organismos tales como peces y aves. Por estas razones son de los mejores bioindicadores de las condiciones ambientales que imperan en los sistemas acuáticos. Las comunidades del bentos constituyen, pues, un elemento fundamental de control y vigilancia tanto de las actuaciones de dragados como de la futura gestión integral del estuario.

Por otro lado, en las operaciones de dragados de mantenimiento llevadas a cabo en 2019 la Autoridad Portuaria de Sevilla empleo una nueva embarcación de dragado basada en una tecnología de inyección de agua a presión.

En este informe se detallan los resultados preliminares de caracterización fisicoquímica de la columna de agua de:

- Seguimiento temporal de las comunidades bentónicas del estuario del Guadalquivir de 2019.
- Estudio de los impactos de los dragados de mantenimiento de 2019
- Estudio del impacto de la draga de inyección de agua a presión en el tramo de Isleta.

## 2.2. ACTUACIONES REALIZADAS

# 2.1.1. SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD BENTÓNICA EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2019).

## 2.2.1.1. ÁREA DE ESTUDIO

Para la selección de los puntos de muestreo del submareal, se ha seguido con el diseño propuesto en los estudios de seguimiento anteriores: Cada una de las zonas en las que se ha dividido el tramo final del estuario ha sido reticulada en cuadrados de 100 m de lado, a cada uno de los cuales se le ha asignado un número para posteriormente utilizar una lista de números aleatorios y elegir así 3 puntos en cada zona por muestreo. La retícula se ha establecido desde la orilla izquierda del río hasta el canal de navegación. Paralelamente, por los resultados obtenidos de estas actuaciones, desde el muestreo de septiembre de 2017 se ha optado por realizar un seguimiento más específico en la zona intermareal. Para ello se han dividido los tramos de Esparraguera a Bonanza en distintas zonas y se han elegido 3 al azar en cada tramo para la recogido de muestras. De esta manera, en el muestreo de 2019 el total de muestras ha sido de 87, de las cuales 63 corresponden a muestras submareales y 24 a intermareales.

## 2.2.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Para el seguimiento de las comunidades bentónicas asentadas a lo largo de los últimos 30-40 km del estuario del río Guadalquivir, los estudios anteriores han demostrado la idoneidad de dividir esta parte del río en 6 zonas con distintas condiciones ambientales, junto con otra zona externa en el medio marino en el área de influencia de la desembocadura (figura 2.1). Además, los resultados obtenidos hasta el momento, y con el objeto de evitar la redundancia en los datos y agilizar la obtención de resultados, han permitido definir como la época más adecuada de acuerdo con los objetivos del estudio al final de la temporada de verano.



Figura 2.1. Zonas en las que se ha dividido el tramo final del estuario del Guadalquivir para los estudios de seguimiento temporal de la comunidad del bentos.

# 2.2.1.2.1. OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

La toma de muestras de sedimento submareales se realizó desde la embarcación "LBM III", propiedad de la Universidad de Sevilla y adquirida fundamentalmente para estudios en el estuario del Guadalquivir. Las muestras se tomaron mediante una draga tipo Van Veen, con una superficie operativa de 0,05 m<sup>2</sup> y un peso aproximado de 8 kg. Este tipo de draga posibilita la toma de superficies rectangulares en los muestreos y que, independientemente del tipo de sedimento, profundiza en éste como mínimo 10 cm, fracción en la que se encuentra representada la mayor parte de la fauna sujeta a estudio. Una vez lanzada y recogida la draga, el contenido es embolsado y etiquetado para su traslado (figura 2.2).



Figura 2.2. Embarcación LBM III. Draga Van Veen. Muestras embolsadas para traslado a puerto. Proceso de tamizado en el puerto.

En cada punto de recogida de muestras submareales se tomaron 3 réplicas con una superficie total de 0,15 m<sup>2</sup> destinadas al análisis de las comunidades biológicas. Diversos autores señalan que la superficie menor que estima la integración del total de taxones en el sedimento es de 0,1m<sup>2</sup>, por lo que la superficie total muestreada en este estudio se considera representativa de la zona.

Para las muestras de intermareal, en cada una de las zonas muestreadas se delimitaron 2 cinturones, uno situado en el límite superior de marea y otro en el inferior, en cada uno de ellos se recogieron 3 muestras de sedimento para análisis biológico mediante una calicata de 0,2 m x 0,2m (0.04m<sup>2</sup>) (figura 2.3). Dependiendo de la zona, el acceso a ellas se realizó bien desde tierra bien desde la embarcación LBM III.





El estudio, tanto de la zona submareal como de la intermareal, se centró en la identificación y caracterización de las comunidades de macrofauna bentónica. Aunque el criterio aplicado a la macrofauna hace referencia a un tamaño superior a 1mm, las muestras fueron cribadas con un tamiz de 0,5 mm de luz de malla. De esta forma los individuos pertenecientes a la meiofauna (organismos con un tamaño inferior a 0,5 mm) no pueden ser retenidos, pero se asegura la detección de juveniles macrobentónicos, muy importantes para la valoración global de la calidad ambiental. Así mismo, se asegura la captura de organismos vermiformes que, debido a su especial morfología, podrían no ser retenidos con luces de malla superiores y que, dada su importancia cualitativa y cuantitativa en la estructura de las comunidades bentónicas, podrían ocasionar errores en la interpretación de los resultados.

Una vez tamizadas, las muestras fueron fijadas con alcohol al 70% y teñidas con el colorante rosa de Bengala (que tiñe determinados componentes lipídicos de los individuos, facilitando su separación del sustrato) para posteriormente ser determinados y cuantificados a nivel de especie cuando fue posible.



Figura 2.4. Sonda multiparamétrica Eureka Manta 2. Medida in situ del potencial REDOX.

## 2.2.1.2.2. OBTENCIÓN DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS

Paralelamente al muestreo biológico, se efectuó la toma de muestras para los análisis físicoquímicos. En cada punto submareal se tomó una muestra de sedimento mediante draga Van Veen para el análisis granulométrico y de contenido orgánico y, mediante la sonda multiparamétrica Eureka Manta 2 (figura 2.4), se realizaron perfiles en profundidad y se obtuvieron los distintos parámetros físico-químicos medidos en el agua de la columna de agua (turbidez, salinidad, conductividad, oxígeno disuelto, temperatura y pH. El potencial REDOX fue medido *in situ* en el sedimento mediante electrodo (Sentix-ORP) con pHmetro WTW pH 1970i (figura 2.4).

Además, se tomaron muestras de sedimento para la determinación de la concentración de metales pesados y nutrientes. El sedimento fue tomado de la capa superficial de la muestra extraída mediante draga Van Veen y conservado en fresco en bote hermético etiquetado para su traslado a laboratorio donde se procedió al secado en estufa a 50°C (figura 2.5). Las muestras de sedimento secas han sido enviadas a los laboratorios del IRNAS (Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla-CSIC) para la determinación del contenido en metales, así como para la determinación del carbono orgánico total (COT), nitrógeno total (método de Kjedahl) y fósforo total (método de Olsen).

De igual forma, en el intermareal se tomaron dos muestras de sedimento superficial en cada punto para el análisis granulométrico y de contenido orgánico y de metales y nutrientes, respectivamente.

## 2.2.1.2.2.1. Perfiles físico-químicos de la columna de agua

Para estudiar la estructura de la columna de agua en las distintas zonas de muestreo y poder compararlas tanto espacial como temporalmente, la relación de cada variable con la profundidad se analizó mediante modelos aditivos que permiten el estudio de relaciones no lineales. En cada zona de muestreo, cada uno de los 3 perfiles realizados se consideró como un nivel aleatorio en el modelo y se obtuvo la predicción del modelo promedio. Para una visualización que permita la interpretación y la comparación, los datos obtenidos han sido representados gráficamente mediante la utilización del software Ocean Data View (Schlitzer, 2016), que realiza una interpolación de esos datos en toda la zona de estudio.

## 2.2.1.2.2.2. Granulometría

La composición granulométrica del sustrato es uno de los factores determinantes en la composición y estructura de las comunidades del macrobentos en sustratos blandos (Rhoas, 1974; Buchannan, 1984). La presencia de altas proporciones de elementos finos en los sedimentos conlleva la existencia de poblaciones poco diversas, mientras que una mayor heterogeneidad espacial (conseguida con el aumento del tamaño de los granos) potencia un aumento de diversidad biológica.



Figura 2.5 Proceso de secado de muestras de sedimento para la posterior medida de parámetros físico-químicos.

Para la obtención de los distintos componentes granulométricos se ha utilizado el método propuesto por Guitián y Carballas (1976). Las muestras se secan en una estufa a 100°C durante al menos 24 horas, de forma que se elimina el contenido en agua de la muestra. Pasado ese tiempo, se pesan 100 gramos de sedimento seco y se colocan en una volteadora durante 45 minutos con el

fin de disgregar el sedimento. Posteriormente, los 100 gramos de sedimento se tamizan a través de una columna de tamices para retener en cada uno de ellos las distintas fracciones granulométricas. La columna de tamices (figura 2.6) está formada por tamices con luces de malla de 5, 2, 1, 0'5, 0'25, 0'125, 0'063 milímetros, y tras éstos se coloca un fondo donde se recoge la fracción pelítica.

Mediante este método se pueden discriminar las distintas fracciones granulométricas cuando éstas devienen compuestas mayoritariamente por elementos arenosos y la fracción pelítica es baja (inferior al 5%).



Figura 2.6. Batería de tamices.

La columna de tamices se somete a vibración mediante un agitador mecánico durante 30 minutos, pasados los cuales el contenido de cada tamiz es pesado en una balanza de precisión y luego mediante los porcentajes acumulados de los pesos obtenidos en cada uno de los tamices se obtiene el valor de la mediana. Este valor tipifica el sedimento mediante una aproximación a la escala geométrica de Wenthworth (Buchanann, 1984), así:

- 2> Q<sub>50</sub>> 1 Arena muy gruesa
- 1> Q<sub>50</sub>> 0'5 Arena gruesa
- 0'5> Q<sub>50</sub>> 0'25 Arena media
- 0'25> Q<sub>50</sub>> 0'125 Arena fina
- 0'125> Q<sub>50</sub>> 0'063 Arena muy fina

Las características hidrodinámicas de la zona determinan la heterogeneidad del sedimento. Esta heterogeneidad puede medirse mediante el coeficiente de selección S<sub>0</sub> (S<sub>0</sub>= $\sqrt{Q_{25}/Q_{75}}$ , donde Q<sub>25</sub> y Q<sub>75</sub> son los cuartiles 25 y 75 respectivamente). Así, dependiendo del valor obtenido para S<sub>0</sub> la selección de la muestra será:

S<sub>0</sub>< 1'17 Selección muy buena

1'17< S<sub>0</sub>< 1'20 Selección buena

1'20< S<sub>0</sub>< 1'35 Selección moderadamente buena

1'35< Sol 1'87 Selección moderada

1'87< Sol 2'75 Selección pobre

2'75< So Selección mala

Un coeficiente de selección bueno acontece en situaciones en las que existe una homogeneidad en el tamaño de grano y un mal coeficiente corresponde a un grano muy diverso.

En aquellas muestras con un contenido en elementos finos superior al 5%, se ha procedido a una variante del método anterior. Para ello, se pesan 100 gramos de sedimento seco y se humedecen durante 24 horas. Posteriormente, el sedimento se pasa por un tamiz de luz de malla 0'063mm de tal forma que se elimina el sedimento inferior a este tamaño, mientras el resto vuelve a ser secado en estufa durante al menos 24 horas y se procede a su paso por la batería de tamices y el agitador mecánico, al igual que en el procedimiento anterior. Mediante los porcentajes acumulados de los pesos obtenidos en cada uno de los tamices más el porcentaje de sedimento eliminado se obtiene el valor de la mediana y se tipifica el sedimento.

#### 2.2.1.2.2.3. Contenido en materia orgánica

El contenido en materia orgánica particulada (aquella presente en el componente del sedimento con tamaño de grano inferior a 0'5 milímetros) se ha obtenido mediante la calcinación de las muestras. Para el desecado de las muestras se ha utilizado una estufa a 70° C durante al menos 24 horas. De cada una se extrajeron 3 réplicas de 2 gramos de peso seco, que fueron calcinadas mediante horno mufla a 500° C durante 4 horas.

La diferencia entre el peso inicial y el peso de las cenizas resultantes expresado en porcentajes (peso seco libre de cenizas, PSLC) se interpreta como el contenido orgánico del sedimento (Crisp, 1984). La media de los resultados de las tres réplicas se ha considerado como el valor del contenido en materia orgánica del sedimento.

#### 2.2.1.2.3. TRATAMIENTO DE LOS DATOS

Los datos obtenidos tras la determinación faunística se resumen en una matriz taxónestación. Las distintas especies obtenidas se han unido según sus respectivos grupos taxonómicos: anélidos, artrópodos, equinodermos, moluscos y otros.

Se ha procedido de igual modo en el estudio de los distintos parámetros físico-químicos medidos en el agua del fondo y el sedimento. En el caso de los metales pesados medidos en el sedimento se ha calculado el índice de geoacumulación (Igeo) para algunos de ellos. Este índice supone una medida relativa de contaminación por metales y compara la concentración de un metal concreto con la concentración que se considera normal para la zona de estudio. Como referencia se han empleado los niveles establecidos por Ruiz (2001) para los estuarios de la costa atlántica andaluza (tabla 2.1). El índice se expresa como:  $I_{geo} = log_2 (C_n/1,5 \times B_n)$ , donde  $C_n$  es la concentración medida y  $B_n$  la concentración de referencia. Los valores del índice se clasifican en cinco grupos: no contaminado ( $I_{geo}$ <1); muy poco contaminado ( $1 < I_{geo} < 2$ ); poco contaminado ( $2 < I_{geo} < 3$ ); contaminación moderada ( $3 < I_{geo} < 4$ ); contaminación alta ( $4 < I_{geo} < 5$ ); y contaminación muy alta ( $I_{geo} > 5$ ).

	Cr	Cu	Zn	Pb
Arenas medias	6	6	6	2
Arenas finas	9	13	16	4
Fangos	21	13	39	15

Tabla 2.1 Valores de referencia de algunos metales para los estuarios de la costa atlántica andaluza (Ruiz, 2001). Concentraciones medidas en mg/kg.

Paralelamente se han relacionado las concentraciones de algunos metales pesados con los valores de calidad del sedimento (SQV, *sediment quality values*) establecidos por National Oceanic and Atmospheric Administration (Long *et al.*, 1995) y por DelValls y Chapman (1998).

El conjunto de datos ha sido sometido a una serie de análisis numéricos, con el objeto de describir e interpretar, en la medida de lo posible, la composición y estructura de la comunidad macrobentónica de sustrato blando de las zonas estudiadas.

#### 2.2.1.2.3.1. Análisis descriptivos de la comunidad

Estos análisis pretenden estimar los cambios producidos en un gradiente espacio-temporal en las comunidades. Entre ellos se encuentran: el número de especies, abundancia, diversidad y equitatividad.

N° de especies: este índice muestra únicamente el número de taxones de un mismo rango (especie) que identificamos en cada punto de muestreo independientemente de la abundancia relativa de cada uno de ellos.

Abundancia: es el número de individuos de un taxón o conjunto de ellos encontrados en un punto o conjunto de puntos de muestreo y se suele expresar como número de individuos por m<sup>2</sup>.

Diversidad: el índice de diversidad utilizado es el de Shannon-Wiener H' (Shannon y Weaver, 1963) con el logaritmo en base e.

El índice se expresa como:

H'= -  $\sum p_i \log_e p_i$ 

donde  $p_i = n_i/N$  y  $n_i$  es el número de individuos de la especie i.

Equitatividad: se expresa como el índice de Pielou (Pielou, 1966). Este índice está determinado por la relación entre la diversidad real (H') y la diversidad máxima (H'<sub>max</sub>). La diversidad máxima se alcanza cuando todas las especies tienen la misma abundancia. H'<sub>max</sub> se puede expresar como el log<sub>e</sub> del número de especies.

La fórmula del índice de equitatividad es:

J'= H'/H'<sub>max</sub>.

#### 2.2.1.2.3.2. Análisis Multivariantes

Los análisis univariantes son especie-independientes, por lo que para una comparación más efectiva entre las estaciones o entre los periodos debemos recurrir a otros que sean especiesdependientes.

Para ello se ha seguido una modificación del esquema propuesto por Clarke (1993):

- Representación de la estructura de la comunidad por medio de análisis de ordenación de las estaciones.
- Análisis de las relaciones entre las variables bióticas y abióticas.

Los distintos análisis han sido realizados por medio de los paquetes estadísticos PRIMER 6 ("Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research"), IBM SPSS Statistics25 y RStudio v. 0.98.953. Índice de similaridad de Bray-Curtis: la finalidad de este índice (Bray y Curtis, 1957) es analizar las afinidades entre las distintas estaciones o periodos de muestreo. Los datos se transforman mediante la raíz cuarta ( $4\sqrt{x}$ ) (Clarke y Warwick, 1994), con objeto de mitigar el efecto sobre la similaridad de las especies más abundantes, de modo que las menos abundantes contribuyan en mayor medida a esta similaridad.

La fórmula del índice de similaridad de Bray-Curtis es la siguiente:

 $S_{jk} = 100 (1 - \Sigma_{i=1}^{p} |y_{ij} - y_{ik}| / \Sigma_{i=1}^{p} |y_{ij} + y_{ik}|)$ 

donde:

S<sub>jk</sub> es la similaridad entre las muestras j y k

y<sub>ij</sub> es el valor de la especie i en la muestra j

y<sub>ik</sub> es el valor de la especie i en la muestra k

El valor de la similaridad varía entre 0 y 100, dependiendo de si las muestras comparadas no tienen ninguna especie en común (0), o bien cuando todos los valores para todas las especies son idénticos en ambas muestras (100).

PERMANOVA: Las diferencias entre las comunidades de las áreas de estudio en los distintos meses de muestreo se analizaron mediante un análisis de ANOVA multivariante por permutaciones o PERMANOVA (Anderson, 2001). Se ha realizado mediante un diseño de dos factores: Zona (6 niveles, fijo) y Año (4 niveles, fijo). Las diferencias entre áreas de muestreo en los distintos meses con respecto a la diversidad, riqueza de especies y la abundancia fueron analizadas mediante un análisis univariante PERMANOVA.

Análisis de ordenación MDS (*Non-metric Multidimensional Scaling*): representa la estructura biológica en un espacio multidimensional, de forma que la distancia entre dos puntos de muestreo o periodo es proporcional a la similaridad en la composición de sus comunidades de acuerdo con el índice de Bray-Curtis.

La ordenación resultante puede ser contrastada mediante el coeficiente de estrés de Kruskal (Kruskal y Wish, 1978). Valores de este coeficiente por debajo de 0,1 indican que se puede realizar una interpretación fiable de la representación gráfica de la disposición de las estaciones estudiadas. Por el contrario, los situados por encima de 0,3 sugieren que dicha disposición es arbitraria (Clarke y Warwick, 1994).

Análisis de componentes principales (PCA, *Principal Component Analysis*): se basa en técnicas de análisis multidimensional. En este caso, se representa una ordenación de las estaciones de muestreo de acuerdo con su semejanza físico-química. En este análisis, basado en distancias euclídeas, es un método de reducción de la dimensionalidad de tal forma que cada eje o

componente principal absorbe parte de la varianza que explica la distribución de las estaciones. Cada eje está influido por uno o varios parámetros que son los responsables de la separación o semejanza de las estaciones, de tal forma que, a mayor varianza absorbida por cada eje, más diferencias marca entre los distintos puntos. Para determinar qué parámetros influyen sobre cada eje se calculan las correlaciones de los diversos parámetros con los ejes (*eigenvectors*), siendo aquellos que muestren las mayores correlaciones (tanto negativas como positivas, indicando este signo únicamente la dirección del gradiente, es decir, signo negativo hacia la izquierda y positivo a la derecha) quienes explican la varianza absorbida por el eje.

Con el objeto de poder establecer comparaciones entre parámetros con distintas unidades de medida se somete a la matriz a una estandarización previa mediante la siguiente fórmula:

 $b = (X_{ij} - X_i) / S_i$ 

donde, b es el valor que va a tomar cada parámetro en cada punto de muestreo una vez estandarizado; X<sub>ij</sub> es el valor de la media de los resultados obtenidos para cada parámetro; X<sub>i</sub> es el valor obtenido en cada punto y S<sub>i</sub> es el valor de la desviación típica de cada parámetro.

Análisis BIOENV: este análisis (Clarke y Ainsworth, 1993) se utiliza para el estudio de la relación existente entre las comunidades encontradas en los puntos de muestreo y las variables abióticas.

Consiste en la comparación de la ordenación de las estaciones de muestreo a partir de las variables bióticas (de acuerdo con el índice de Bray-Curtis) y abióticas (de acuerdo con distancias euclídeas) por separado; de tal modo que se puede establecer qué variables ambientales de las estudiadas favorecen la máxima correlación entre las dos configuraciones (Sánchez-Moyano, 1996). Las comparaciones se establecen mediante el coeficiente de Spearman o Kendall.

#### 2.2.1.2.3.2.1. Indicadores de los elementos de calidad biológicos

De acuerdo con las premisas establecidas en la Ley 62/2003, de 30 de diciembre que incluye -art. 129- la Modificación del Texto Refundido de la Ley de Aguas, aprobado por el Real Decreto Legislativo 1/2001, de 20 de julio, por la que se incorpora al derecho español la Directiva 2000/60/CE (Directiva Marco del Agua, DMA), el estado de las masas de aguas, tanto de transición como costeras, se han de clasificar a partir de su estado ecológico y químico. Para el presente estudio se han elegido los dos índices que nos ofrecen mayor información: BENFES y M-AMBI.

## 2.2.1.2.3.2.2. M-AMBI (Multivariate AZTI Marine Biotic Index)

El índice AMBI, propuesto por Borja *et al.* (2000), se conoce como coeficiente biótico (BC) y es el producto de clasificar a las distintas especies en 5 grupos según su sensibilidad a un aumento de estrés ambiental. Estos grupos fueron definidos previamente por Grall y Glémarec (1997). Los creadores de AMBI ofrecen una lista actualizada con la asignación de las distintas especies a un grupo determinado, si bien también permiten la asignación a un grupo en función de la propia experiencia del investigador. La lista utilizada como base para la elaboración del índice ha sido la de junio de 2017. Los grupos van de G<sub>I</sub> a G<sub>V</sub> de forma que el grupo G<sub>I</sub> es el que incluye a especies muy sensibles y el grupo G<sub>V</sub> a especies oportunistas.

Así, el índice biótico (BC) sería:

$$BC = \left(\frac{(0x\%GI) + (1,5x\%GII) + (3x\%GIII) + (4,5x\%GIV) + (6x\%GV)}{100}\right)$$

El análisis M-AMBI es un análisis factorial que combina AMBI con la diversidad (Shannon con el logaritmo en base 2) y el número de especies y que requiere la definición previa de unas condiciones de referencia para estas tres variables. Para nuestro estudio estas condiciones se establecen de la siguiente manera (tabla 2.2):

Las condiciones de referencia utilizadas en este estudio se basan en los datos obtenidos en estudios previos realizados en el estuario del río Guadiana.

	Estado	Diversidad	Riqueza	Valor
	ecológico	(Shannon)	(n° de especies)	AMBI
	Malo	0,0	0	6
Oligohalino	Alto	2,4	15	2,9
Mesohalino	Alto	2,7	18	2,5
Polihalino	Alto	3,0	25	2,1
Euhalino (Desembocadura)	Alto	3,8	35	1,3
Área marina (10m)	Alto	4,0	50	1,3
Área marina (20m)	Alto	4,2	60	1,3

Tabla 2.2. Condiciones de referencia de las distintas zonas para aplicar el índice M-AMBI.

Los valores obtenidos para AMBI y M-AMBI pueden ser utilizados para establecer el estado ecológico de la zona de estudio según la tabla 2.3.

AMBI	M-AMBI	Estado ecológico
0 - 1,2	>0,77	Alto
1,2 - 3,3	0,53-0,77	Bueno
3,3 - 4,3	0,39-0,53	Moderado
4,3 - 5,5	0,2-0,39	Pobre
> 5,5	<0,20	Malo

Tabla 2.3. Estado ecológico según AMBI y M-AMBI.

	Familia	CATEGORIA		Orden	Familia
lida			Cha	etognata	
Dligochaeta	Oligochaeta	1		Chaetognata	Chaetognata
Archiannelida	Saccocirridae	5	Cnie	daria	
Capitellida	Capitellidae	2		Actiniaria	Actiniaria
ossurida	Cossuridae	2	Ech	inodermata	
505541144	Maldanidae	5		Apodida	Synaptidae
Junicida	Lumbrineridae	4		Dendrochirotida	Cucumariidae
Lumeraa	Onuphidae	5		Onhiurida	Amphiuridae
Opheliida	Opheliidae	5		Ophiunua	Ophiuridae
Orbiniida	Paraonidae	5		Spatangoida	Loveniidae
	Glyceridae	4	Mol	lusca	
	Hesionidae	3		Adapedonta	Pharidae
	Nephtydae	4		Anamalodesmata	Pandoridae
	Nereididae	3		Anomalodesmata	Thraciidae
Phyllodocida	Phyllodocidae	4			Acteonidae
	Pilargidae	3		Bullomorpha	Ringiculidae
	Polynoidae	4		Caenogastropoda	Eulimidae
	Sigalionidae	4			Retusidae
	Svllidae	4		Cephalaspidea	Rhizoridae
	Oweniidaa	-+			Hydrobiidaa
abellida	Sabollidaa	4 A		Littorinimorpha	Iravadiidaa
	Chactenteride	4		Muida	
nionida	Chaetopteridae	р С		iviyida Musida	Photadidae
ppionida	Magelonidae	р С		iviyoida	Corbuildae
	Spionidae	3		Neogastropoda	iviangeliidae
	Ampharetidae	4			Nassariidae
	Cirratulidae	2		Nuculanida	Nuculanidae
Ierebellida	Flabelligeridae	5		Nuculida	Nuculidae
	Pectinariidae	2		Ostreida	Ostreidae
	Terebellidae	5		Pyramidellomorph	Pyramidellidae
opoda					Cardiidae
	Ampeliscidae	5			Lasaeidae
	Aoridae	5			Mactridae
	Atylidae	5		Veneroida	Montacutidae
	Bathyporeiidae	5			Semelidae
	Calliopiidae	5			Tellinidae
	Caprellidae	4			Veneridae
	Corophiidae	3	Nen	nertina	
mohineda	Haustoriidae	5		Nemertina	Nemertina
mpinboga	Iphimediidae	5	Pho	oronida	
	Leucothoidae	5		Phoronida	Phoronida
	Lysianassidae	5	Sip	uncula	·
	Melitidae	5		Sipuncula	Sipuncula
	Oedicerotidae	4			
	Photidae	5			
	Phoxocenhalidae	- 5			
	Pleustidan	5			
	Bodotriidaa	4			
	Diactylidae	+			
Cumacea		4			
	Leuconidae	5 4			
	Pseudocumatidae	4			
	Alpheidae	4			
	Carcinidae	3			
	Crangonidae	5			
	Diogenidae	4			
Decapoda	Ogyrididae	5			
	Palaemonidae	5			
	Panopeidae	4			
	Pinnotheridae	2			
	Polybiidae	5			
	Upogebiidae	4			
ncosta	Chironomidae	3			
isecid	Dolichopodidae	2			
	Anthuridae	3			
	Cirolanidae	5			
	Gnathiidae	5			
sopoda	Idoteidae	5			
	Munnidae	4			
	Sphaeromatidao	ू २			
entostraca	Nebaliidaa	1			
epiosida	Musidae	1			
viyslud	IVIYSIUde	4			
essilid	Balanidae	4			
tomatopoda	Squillidae	5			
anaidacea	Tanaidacea	3			
	Leptocheliidae	3	I		

Tabla 2.4. Categorías de las especies/familias del índice BENFES.

## 2.2.1.2.3.2.3. BENFES (Benthic Families Ecological Status Index)

Este índice, desarrollado por el Laboratorio de Biología Marina de la Universidad de Sevilla (Sánchez-Moyano *et al.*, 2017), se basa en el índice IBMWP (Alba-Tecedor y Sánchez-Ortega, 1988) que a su vez se basa en el descrito por Hellawell en 1978. Sólo requiere identificación de los individuos encontrados a nivel de familia, y únicamente se valora la presencia-ausencia de la misma, no su abundancia.

El valor del índice se obtiene por la suma de puntuación correspondiente a cada familia que habita en el área de estudio. Alba-Tecedor y Sánchez-Ortega (1988) estableció una tabla con las puntuaciones de las distintas familias de macroinvertebrados encontradas para los ríos españoles en función de su sensibilidad a perturbaciones. La puntuación oscila de 1 a 10, siendo 10 asignado para aquellas familias más sensibles. En nuestro caso, hemos reducido la escala numérica de 1 a 5 con el objeto de limitar el error de asignar equivocadamente una puntuación. La asignación a cada familia se ha establecido según la sensibilidad de las especies encontradas teniendo en cuenta los grupos establecidos en el índice AMBI y nuestra propia experiencia en los casos de especies no asignadas o discrepancias con las categorías de AMBI. En la tabla 2.4 se recogen los valores asignados a cada especie/familia según el índice BENFES. El resultado del índice se obtiene por la suma de las puntuaciones asignadas a cada familia en cada punto.

Los resultados obtenidos se comparan con los valores de referencia (tabla 2.5), obteniendo así el estado ecológico (EQS) de la zona de estudio. En el caso de las zonas oligohalina y mesohalina, por su propia naturaleza, los valores de referencia del índice BENFES son diferentes al de resto de zonas.

Clase	BENFES	BENFES OM	Significado	Estado ecológico
I	> 100	> 70	Áreas inalteradas	Alto
II	61-99	43-70	Áreas poco alteradas o son evidentes algunos efectos de contaminación	Bueno
	36-60	25-42	Aguas alteradas	Moderado
IV	15-35	10-24	Aguas muy alteradas	Pobre
V	< 15	< 10	Aguas fuertemente alteradas	Malo

Tabla 2.5. Estado ecológico según el índice BENFES. BENFES OM: Valores de referencia del índice BENFES para las zonas oligonalina y mesohalina.

## 2.2.1.3. RESULTADOS

En el muestreo de seguimiento de las comunidades macrobentónicas del estuario del Guadalquivir, las variables fisicoquímicas de la columna de agua se muestran en la figura 2.7. El resto de resultados se proveerán en posteriores informes debido al tiempo que requiere el procesado de las muestras bentónicas, tanto el cribado como su identificación.





Figura 2.7. Perfiles de las distintas variables fisicoquímicas medidas en la columna de agua a lo largo de todo el estuario desde la Broa exterior hasta los Yesos.

influenciadas por el ambiente marino, hacia el interior más influenciadas por los aportes del río. Estos gradientes son una característica normal en los estuarios templados y suelen mostrar una gran variabilidad temporal a pequeña y gran escala. Uno de los gradientes principales que se forman en los estuarios es el de la salinidad por la contraposición de la influencia marina con la del agua dulce.

La temperatura mostró valores más bajos en las estaciones situadas en el exterior del estuario con una ligera estratificación en profundidad en el punto de muestreo de la Broa exterior. En el interior del estuario la temperatura fue más alta por el confinamiento de las aguas y por poseer mayor turbidez que favorece el calentamiento de la masa de agua.

La turbidez también mostró un gradiente ascendente desde las estaciones situadas en la desembocadura hacia el interior del estuario, mostrando los valores más altos en el fondo de la columna de agua en las estaciones del Yeso, con valores sobre los 150 NTU. En las estaciones de la Broa los valores de turbidez estaban por debajo de 20 NTU.

	Profundidad	Potencial Redox (mv)
Yesos	7	226
Yesos	4.7	144.5
Yesos	7.5	127.7
Esparraguera	4.8	-116.3
Esparraguera	3.8	-140.8
Esparraguera	3.9	-132.5
Puntalete	5.7	-62.6
Puntalete	3.7	-68
Puntalete	4.7	-110.9
Salinas	6.2	-52.5
Salinas	4.7	-85.9
Salinas	4.4	-153.8
Bonanza	6	68.1
Bonanza	5	-165.1
Bonanza	7.3	-183.7
Broa Interior	7.5	27
Broa Interior	5	57
Broa Interior	6.6	93.4
Broa Exterior	9.6	-180
Broa Exterior	10	-154
Broa Exterior	9.5	-172.3

Sin embargo, para la concentración de oxígeno disuelto no se encontró ese gradiente. Las

Tabla 2.6. Resultados de potencial Redox y profundidad de las estaciones muestreadas durante el seguimiento de bentos de 2019.

estaciones de Bonanza y Salinas mostraron las menores concentraciones de oxígeno disuelto que se vio incrementada hacia las estaciones exteriores de la Broa, pero también hacia la estación de los Yesos donde encontramos una columna de agua ligeramente estratificada. Estos valores más bajos en una zona puntual y cercana a núcleos urbanos pudieron indicar un efecto antrópico, aun así, las concentraciones de oxigeno nunca se acercaron a los límites de hipoxia en ninguna estación.

La concentración de clorofila tampoco mostro un gradiente claro en el estuario, la estación con mayor concentración se encontró en Esparraguera seguida por Puntalete y los Yesos. Esta concentración se redujo hacia las estaciones de Bonanza donde encontramos los valores con menor concentración. Por ultimo en las estaciones más externas se vio un ligero aumento de la clorofila.

En cuanto al potencial de óxido reducción los resultaros mostraron un claro parcheado a lo largo de todas las estaciones de muestreo, con los valores más negativos en la Broa exterior y más positivos en la zona de los Yesos. Los resultados de la Broa exterior podrían explicarse por el transporte de sedimentos finos por la dinámica de corrientes hacia el exterior del estuario mientras que los sedimentos más gruesos quedarían en las zonas más altas. Sin embargo, los resultados mostraron una alta variabilidad incluso entre los distintos puntos de muestreo dentro de cada zona, por lo que este patrón irregular muestra que el estuario estaría compuesto por un parcheado de sedimentos de distinta composición.

## 2.2.2. EFECTO DE LOS DRAGADOS DE MANTENIMIENTO DE 2019

Debido a la dinámica sedimentaria del estuario del Guadalquivir, como consecuencia de las lluvias y desembalses llevados a cabo desde la presa de Alcalá del Río y las dinámicas mareales, es necesario realizar dragados de mantenimiento en ciertos tramos del canal de navegación del estuario desde Sanlúcar de Barrameda hasta la esclusa de Sevilla. Con objeto de restaurar las condiciones de seguridad de navegación en septiembre y octubre de 2019 se realizaron trabajos de dragados de mantenimiento (figura 2.8).

En estudios anteriores realizados en el estuario del Guadalquivir se han evaluado los



Figura 2.8. Tramos usualmente dragados por la Autoridad Portuaria de Sevilla en la parte baja del estuario del Guadalquivir.

impactos de los dragados de mantenimiento llevados a cabo en 2013 y 2015 sobre las comunidades bentónicas. Estos estudios analizaban los efectos de los dragados en varias zonas del canal de navegación en distintos rangos de salinidad. Además, se analizaron los efectos indirectos sobre zonas cercanas más someras. Los resultados generales indicaron una baja afección en las zonas del canal donde se extrajo sedimento y una ausencia de cualquier señal de perturbación indirecta en las orillas. Los resultados también mostraron una recuperación en términos de diversidad y riqueza a niveles pre operacionales un año después de que se efectuaran las obras de dragado de 2015. Tampoco se pudo determinar que los dragados de mantenimiento de 2015 hubiesen tenido un efecto sobre las redes tróficas del sistema. Por último, estos estudios, además del proceso de seguimiento de las comunidades bentónicas desde 2015, han demostrado el pobre estado ecológico en el que se encuentran sus comunidades en comparación con otros estuarios del Golfo de Cádiz como el Tinto-Odiel y el Guadiana, principalmente en las zonas interiores del estuario, mejorando su estado en las zonas más próximas a la desembocadura. En dichos estudios se recomienda establecer los programas de monitorización en las zonas más cercanas a la desembocadura (Donázar-Aramendía et al., 2018).

Sin embargo, no se obtuvieron datos de los procesos ecológicos desarrollados en el ecosistema a corto plazo. Solamente con experimentos repetidos cubriendo a diferentes escalas espaciales y temporales se puede realmente evaluar todo el alcance del efecto de una perturbación (Carvalho et al., 2013; Thrush et al., 2000). Además, aunque no se obtuvieron datos que pudiesen apuntar a un efecto de los dragados de mantenimiento sobre las redes tróficas, los estudios sobre las comunidades macrobentónicas con distintas tasas metabólicas pueden ser útiles para detectar posibles influencias a distintas escalas temporales sobre las redes tróficas (Van De Merwe et al., 2016)

En este sentido en el ámbito del contrato "Establecimiento de series temporales largas (Bentos, Zooplancton e Ictioplancton) y de sus implicaciones en la gestión y mejora del estuario, así como de su integración en los objetivos de la FWE y de la MSFD y Estudios BACI ("Before After Control Impact") de los dragados de mantenimiento a realizar durante la campaña 2019" se ha establecido el objetivo de evaluar los impactos provocados por los dragados a corto plazo y monitorizar los procesos de recuperación que ocurren inmediatamente después. Además, se pretende usar dos organismos con distintas tasas metabólicas para evaluar su uso como bioindicadores de los efectos de los dragados en los procesos tróficos y la liberación de materia orgánica atrapada en el sedimento.

Para evaluar el impacto a corto plazo de los dragados de mantenimiento sobre las comunidades bentónicas se seleccionó el tramo de Salinas debido a su localización en la zona más sensible del curso bajo del estuario y donde, se ha visto que los estudios para evaluar perturbaciones antrópicas puede ser más relevante (Donázar-Aramendía et al., 2018).

## 2.2.2.1. MATERIAL Y MÉTODOS

Para detectar un posible impacto sobre las comunidades bentónicas se ha planteado un diseño experimental BACI (Before After Control Impact) de acuerdo con las premisas establecidas por Underwood (1994). Consiste en una metodología estadística muy robusta que permite la comparación entre zonas control e impactadas antes y después de una intervención humana en el medio. La asunción de este método es que la zona impactada debería comportarse igual que la zona control en ausencia de perturbación (Underwood, 1994). Por tanto, una perturbación acaecida en el medio podría ser inferida si los cambios que se produzcan en la zona impactada son diferentes de los producidos en las áreas de control. De acuerdo con este diseño BACI, si las operaciones de dragado tuvieran un impacto sobre las comunidades bentónicas, otros parámetros del sedimento o

sobre la columna de agua, la zona de dragado cambiaría a lo largo de los meses de manera diferente a las zonas control. Esto sería detectado estadísticamente por una interacción significativa del factor tiempo (antes y después de los dragados) y el factor Impacto (zona de dragado y zonas control) (Underwood, 1992).

En este sentido se establecieron tres áreas de muestreo; una en la zona del canal de navegación de Salinas donde se realizaron obras de dragado y otras dos zonas control aguas arriba y debajo de la zona dragadas alejadas suficientemente para no verse influidas por los efectos de los dragados. Siguiendo la metodología del análisis BACI, se realizaron 5 campañas de muestreo; dos antes de los eventos de dragado (16/10/2019 y 22/10/2019) y tres más después de estos, (09/11/2019, 19/11/2019 y 07/01/2020). En cada una de las áreas de muestres se establecieron tres puntos donde se tomaron muestras de la comunidad biológica y de las características fisicoquímicas del sedimento y de la columna de agua siguiendo la metodología descrita en el apartado de seguimiento (figura 2.9).

La metodología aplicada en la obtención de muestras biológicas y fisicoquímicas se ha expuesto en el apartado 2.2.1.2 anteriormente expuesto, mayoritariamente en los subapartados 2.2.1.2.1 y 2.2.1.2.2. Destacamos aquí, a continuación, solo un subapartado específico inherente a esta actuación.



Figura 2.9. Estaciones de muestreo en el tramo de Salinas para el análisis BACI para evaluar los impactos de los dragados de mantenimiento.

## 2.2.2.1.1. ISÓTOPOS METALES Y NUTRIENTES.

Los análisis de isótopos estables son hoy en día una de las principales vías de estudio de las redes tróficas, ya que son particularmente útiles proporcionando información espacio temporal de las relaciones tróficas de los organismos. Los dos elementos más usados en este tipo de estudios son el nitrógeno y el carbono. Los ratios del isótopo de carbono 13 frente al 12 ( $\delta^{13}$ C) varían sustancialmente entre los productores primarios con diferentes rutas fotosintéticas (C3 frente a C4) pero cambian poco en la transferencia trófica. Por lo tanto, el  $\delta^{13}$ C puede ser utilizado para determinar el origen de la materia orgánica que entra en las redes tróficas. Por otro lado, el uso del isótopo de N también ha sido ampliamente utilizado para determinar contaminación por nitratos en sistemas acuáticos. Su uso se basa en la integración de dicho isótopo en el ciclo natural del N<sub>2</sub> que incluye la armonización, nitrificación asimilación, reducción de nitratos y desnitrificación. La composición isotópica del agua refleja tanto la composición inicial del nitrógeno como los procesos de fraccionamiento isotópico en los transportes o transformaciones químicas. En los sistemas acuáticos, las composiciones isotópicas se mantienen y fluyen libremente lo que hace que el uso del  $\delta^{15}$ N sea una herramienta muy útil como trazador de contaminación antropogénica ayudando a distinguir su origen (Deniro and Epstein, 1981, 1978).

En este sentido, en las campañas del 16/10/2019 y del 19/11/2019 se tomaron muestras biológicas para su caracterización con isótopos estables. Los organismos seleccionados fueron, por

un lado, copépodos como especies con alta tasa de renovación y otra especie con una tasa metabólica menor, el gobio *Pomatochistus sp.* El muestreo se realizó con red de plancton con luz de malla de 200 µm para la fauna de la masa de agua. Paralelamente, se tomaron muestras de agua mediante botella oceanográfica Niskin para obtener la materia orgánica en suspensión (POM). La fauna fue mantenida viva en botes individuales por especie, en la medida de lo posible, hasta su traslado al laboratorio. Posteriormente, cada especie fue seleccionada, limpiada en agua destilada y almacenada en botes individuales que se introdujeron en una estufa a 60°C. El agua fue filtrada a través de un filtro Whattman (GF/F) previamente combustionado a 500°C para retener la materia en suspensión. Los botes de fauna, filtros y muestras de sedimento fueron posteriormente secados en estufa a 60°C antes de aplicar los análisis de isotopos estables de C y N. El agua filtrada a través de los filtros Whatman fue utilizada para analizar la cantidad de nutrientes y metales pesados disueltos en agua

Las muestras de organismos y sedimento previamente secadas se molieron con la ayuda de un mortero y un molino de bolas. Las muestras de sedimento fueron digeridas con HCl para eliminar el carbono inorgánico. Para la determinación del  $\delta^{13}$ C y  $\delta^{15}$ N se pesaron al menos tres réplicas de las muestras de cada organismo y sedimento (SOM). Las muestras se colocaron en capsulas de estaño. Todas las muestras se quemaron a 1020 °C en flujo continuo con un analizador elemental (Flash HT Plus elemental analyzer) acoplado a un espectrómetro de masas de ratio de isótopos Delta-V Advantage de Thermo Fisher Scientific. La composición isotópica se expresó en unidades delta ( $\delta$ ) basadas en la diferencia relativa en partes por mil entre las muestras y los estándares internacionales (Vienna Pee Dee Belemnite) ( $\delta^{13}$ C) y con respecto al N<sub>2</sub> atmosférico ( $\delta^{15}$ N). Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Isotopos Estables de la Estación Biológica de Doñana.

# 2.2.2. RESULTADOS

Debido al retraso de las obras de dragado en relación al presente informe además del largo periodo necesario para procesar las muestras biológicas y de características fisicoquímicas del



Figura 2.10. Perfiles de la columna de agua en los cinco periodos de muestreo a lo largo de la zona muestreada desde el Control 2 (izquierda) hasta el Control 1 (derecha) pasando por la zona de dragado (centro). Concentración de clorofila ( $\mu$ g/L).

sedimento se presentan los resultados principales en relación a las características fisicoquímicas de la columna de agua.

La figura 2.10 muestra los valores de los distintos parámetros fisicoquímicos medidos en la columna de agua en la sección del tramo de Salinas desde el Control 1 (aguas arriba) hasta el control 2 (aguas abajo) pasando por el tramo dragado en todos los periodos de muestreo pre y post operacionales.



Figura 2.10 continuación. Temperatura (°C) y turbidez (NTU)

Los resultados muestran que en todos los periodos de muestreo existe un gradiente desde la zona más interna del estuario hacia la zona más externa para la mayoría de las variables medidas.

No se detectó ninguna perturbación en las distintas variables fisicoquímicas de la columna de agua debido a los dragados de mantenimiento. Si los dragados hubiesen tenido un efecto en alguna de estas variables se debería haber detectado un patrón diferente en las estaciones muestreadas dentro del área de dragado (centro del gráfico) con respecto a los controles (extremos del gráfico). Los patrones de cambio observados entre los distintos periodos de muestreo parecen estar más relacionados con los movimientos que se producen en la columna de agua debido a las dinámicas mareales, lo que se ve reflejado en las variaciones del parámetro de la salinidad. La temperatura mostró un patrón esperable con valores más bajos en los periodos más cercanos al invierno.

En el último periodo de muestreo (post-dragado 3), la salinidad mostró unos valores particularmente bajos sobre todo en la zona del Control 1. Los cambios en la salinidad y temperatura en los gradientes estuarinos pueden afectar a las comunidades bentónicas por estrés fisiológico (Gomes and Bernardino, 2020). En el último periodo de muestreo también se detectaron las concentraciones más elevadas de turbidez (> 5000 NTU, por encima del límite de detección del sensor) y los valores más bajos en concentración de oxígeno de todo el estudio. Estos valores están relacionados con los eventos de desembalse de agua dulce cargada de sólidos en suspensión desde la presa de Alcalá del Río. La mayor concentración de materia orgánica en el agua podría explicar los valores más bajos en concentración de oxígeno con respecto a los otros periodos de muestreo. Las consecuencias de un desembalse de agua puntual desde la presa que no se transporta por completo fuera del estuario se están estudiando en la actualidad, ya que pueden suponer un efecto a largo plazo sobre las comunidades biológicas del estuario.

Los resultados también mostraron los valores más altos de concentración de clorofila en el primer periodo de muestreo (pre-dragado 1) y en el último periodo (post-dragado 3), obteniéndose además los valores más elevados de turbidez. Estos dos parámetros suelen presentar concentraciones muy correlacionadas en el Guadalquivir debido a que los valores altos de turbidez se encuentran en zonas con altas concentraciones de partículas y la clorofila suele ser un componente de ellas. La clorofila encontrada en el primer muestreo puede tener su origen en las algas bentónicas de las riveras del estuario, el microfitobentos, que con las dinámicas de corrientes se vería arrastrado a la columna de agua y podría suponer un elemento fundamental para las redes tróficas del sistema (David et al., 2016; Donázar-Aramendía et al., 2019).

## 2.2.3. EFECTO DE LOS DRAGADOS DE MANTENIMIENTO EN LA ZONA DE LA ISLETA.

# 2.2.3.1. MATERIAL Y MÉTODOS

En la parte del tramo del estuario de Isleta Boca Sur, la Autoridad Portuaria de Sevilla empleó una nueva draga por inyección de agua, la Odín de la empresa Dravosa (figura 2.11) además de la draga de succión Dravo Costa Dorada. Para evaluar el impacto de las dos dragas sobre las características fisicoquímicas del sedimento y de la columna de agua, así como sobre las comunidades biológicas del bentos, se empleó de nuevo un diseño Before After Control Impact (BACI). Previamente a que empezaran las obras de dragado en este tramo se realizó una campaña de muestreo el 01/10/2019. En esta campaña se tomaron muestras biológicas y de los parámetros fisicoquímicos de la columna de agua y del sedimento en seis puntos distribuidos a lo largo de todo el tramo con la misma metodología descrita en apartados anteriores (figura 2.12). También se tomaron muestras de agua para analizar la cantidad de sólidos y materia orgánica en suspensión.



Figura 2.11. Dragas empleadas en los dragados de mantenimiento en el tramo de La Isleta. La Dravo Costa Dourada arriba, la Odín abajo.

Las muestras de agua eran guardadas en botellas topacio y conservadas en hielo hasta la llegada a puerto donde se procedía con el filtrado de las mismas. Para ello se utilizaron filtros de fibra de vidrio con una capacidad de retención de partículas de hasta 0,7 µm (Whatman GF/F). Una vez filtrado un volumen significativo de agua, los filtros eran guardados y conservados en hielo hasta la llegada al laboratorio. El agua filtrada era utilizada para la medición de los nutrientes. Previamente, los filtros eran precombustionados (500°C, 4 h) y posteriormente pesados. Tras el filtrado, se secaban en una estufa a 60°C durante 24 horas para medir el peso seco de cada filtro y obtener la cantidad de sólidos totales (ST) en suspensión. Después se procedió a la combustión de los mismos para obtener la fracción de materia orgánica (MO) e inorgánica (MI).



Figura 2.12. Puntos de muestreo en la zona de la Isleta. Arriba puntos antes y después del dragado, abajo puntos tomados durante el dragado.

Posteriormente se realizó la misma campaña el día 08/10/2019 una vez habían acabado las obras de dragado en este tramo. Siguiendo las premisas del análisis BACI, la metodología fue la misma con el fin de poder comparar la situación antes y después de las obras de dragados y determinar si se hubiera producido una perturbación.

Además, mientras las dos dragas estaban realizando las tareas de dragado se realizó una campaña adicional el 03/10/2019. Para evaluar su efecto sobre la columna de agua se tomaron muestras para análisis de cantidad de sólidos y materia orgánica en suspensión. También se tomaron datos fisicoquímicos de la columna de agua con la sonda multiparamétrica Eureka manta 2. Para comparar el efecto de cada dragad por separado, se tomaron muestras aguas en la zona de influencia de la Dravo, en la zona de influencia de la draga Odín y aguas abajo como zona control alejada del efecto de ambas (Figura 2.12).

## 2.2.3.2. RESULTADOS

Los resultados mostraron que los parámetros del agua en todo el tramo de la Isleta tenían valores muy similares en cuanto a salinidad y temperatura. Al ser un tramo muy alejado de la influencia marina, los cambios debido a la influencia de las mareas no son tan marcados como en otras zonas más cercanas a la desembocadura. La concentración de oxígeno mostró que existía una estratificación en prácticamente toda la zona de muestreo, con los valores más altos en superficie y menores en fondo llegando a valores de hipoxia (< 3 mg/L). La turbidez y la concentración de clorofila también mostraron una estratificación con los valores más altos en el fondo de la parte más alta de la zona de muestreo (Figs. 2.13 y 2.14).

Durante las operaciones de dragado en la zona de la Isleta no se observaron grandes diferencias entre la zona de influencia de la draga Dravo, con la de la Odín y las zonas control. Sólo encontramos mayor turbidez y concentración de clorofila en el fondo en la zona de influencia de la Dravo (Fig.2.15).

Cinco días después de que se realizasen las obras de dragado en este tramo, los resultados de la columna de agua mostraron valores más bajos de todas las variables medidas con respecto a la campaña pre dragados (Fig. 2.13). La turbidez fue considerablemente más baja, así como la concentración de clorofila y el oxígeno. Los resultados de la salinidad podrían indicar que estos resultados son consecuencia de las dinámicas mareales que habrían desplazado la masa de agua medida en el primer evento.

Sin embargo, la concentración de sólidos en suspensión, así como la de materia orgánica en suspensión sí mostraron un posible efecto durante las operaciones de dragado en el tramo de la Isleta. Encontramos valores más altos con respecto a las campañas realizadas antes y después de los dragados de mantenimiento (Figs. 2.13 y 2.14). Estos valores fueron más elevados incluso en la

zona control lo que podría indicar el sedimento que resuspenden las dragas es transportado por las corrientes a zonas más alejadas. A pesar de ello, cinco días después los valores mostrados estaban por debajo incluso a los de la campaña pre dragado, por lo que estos efectos parecen ser puntuales y las dinámicas mareales del Guadalquivir difuminan este efecto rápidamente. A: Predragado



Figura 2. 13. Perfiles de las distintas variables físico-químicas medidas en la columna de agua antes (A) de los dragados de mantenimiento en la zona de la Isleta (puntos 1 al 6).
B. Post dragado



Figura 2. 14. Perfiles de las distintas variables físico-químicas medidas en la columna de agua después (B) de los dragados de mantenimiento en la zona de la Isleta (puntos 1 al 6).

<sup>°</sup>1

4

5 6

2

2 Section Distance [km] 3

1



Figura 2.15. Perfiles de las distintas variables físico-químicas medidas en la columna de agua durante (C) los dragados de mantenimiento en la zona de la Isleta.



Figura 2.16. Valores de sólidos y materia orgánica en suspensión antes durante y después de las operaciones de dragado de mantenimiento en el tramo de la Isleta.

## 2.3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alba-Tecedor, J. y Sánchez-Ortega, A. 1988. Un método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas corriente basado en el de Hellawell (1978). Limmnetica, 4: 51-56.

- Bray, R.J. y Curtis, J.I. 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. Ecological Monographs, 27: 325-349

- Buchanan, J.B. 1984. Sediment analysis. En: Holme, N.A. & McIntyre, A.D. (Eds.). IBP Handbook, n° 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. 387 pp

- Buchanan, J.B. 1984. Sediment analysis. En: Holme, N.A. & McIntyre, A.D. (Eds.). IBP Handbook, n° 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. 387 pp

- Carvalho, S., Constantino, R., Cerqueira, M., Pereira, F., Subida, M.D., Drake, P., Gaspar, M.B., 2013. Short-term impact of bait digging on intertidal macrobenthic assemblages of two south Iberian Atlantic systems. Estuar. Coast. Shelf Sci. 132, 65-76. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.06.017

- Clarke, K.R. y Ainsworth, M. 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. Marine Ecology Progress Series, 92: 205-219.

- Clarke, K.R. y Ainsworth, M. 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. Marine Ecology Progress Series, 92: 205-219.

- Clarke, K.R., Warwick, R.M. 1994. Change in Marine Communities: An approach to Statistical Analysis and Interpretation. PRIMER-E, Plymouth, UK. 172 pp.

- Crisp, D.J. 1984. Energy flow measurements. En: Holme, N.A. & McIntyre, A.D. (Eds.). IBP Handbook, n° 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. 387 pp.

- David, V., Selleslagh, J., Nowaczyk, A., Dubois, S., Bachelet, G., Blanchet, H., Gouillieux, B., Lavesque, N., Leconte, M., Savoye, N., Sautour, B., Lobry, J., 2016. Estuarine habitats structure zooplankton communities: Implications for the pelagic trophic pathways. Estuar. Coast. Shelf Sci. 179, 99-111. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.01.022

- Deniro, M.J., Epstein, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. Geochim. Cosmochim. Acta 42, 495-506.

- Deniro, M.J., Epstein, S., 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. Geochim. Cosmochim. Acta 45, 341-351. https://doi.org/10.1016/0016-7037(81)90244-1

- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2019. Human pressures on two estuaries of the Iberian Peninsula are reflected in food web structure. Sci. Rep. 9, 11495. https://doi.org/10.1038/s41598-019-47793-2

- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018. Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats. Mar. Environ. Res. 140, 455-467. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012

- Pielou, E.C. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. Journal of Theoretical Biology, 13: 131-144.

- Sánchez-Moyano, J.E.; García-Asencio, I.; Donázar-Aramendía, I.; Miró, J.M.; Megina, C.; García-Gómez, J.C. 2017. BENFES, a new biotic index for assessing ecological status of soft-bottom

communities. towards a lower taxonomic complexity, greater reliability and less effort. Marine Environmental Research 132: 41-50.

- Schlitzer R. (2016) Ocean Data View. Alfred Wegener Institute, Bremerhaven, Germany. https://odv.awi.de/

- Shannon, C.E. y Weaver, W. 1963. The mathematical theory of communication. Univ. of Illinois Press, Urbana, Illinois. 117 pp.

- Thrush, S.F., Hewitt, J.E., Cummings, V.J., Green, M.O., Funnell, G.A., Wilkinson, M.R., 2000. The Generality of Field Experiments: Interactions between Local and - Broad-Scale Processes. Ecology 81, 399. https://doi.org/10.2307/177436

- Underwood, A.J., 1994. On Beyond BACI: Sampling Designs that Might Reliably Detect Environmental Disturbances Author (s): A.J. Underwood Published by: Ecological Society of America Stable URL: http://www.jstor.org/stable/1942110. ON BEYOND BACI: SAMPLING DESIGNS THAT. Ecol. Appl. 4, 3-15. https://doi.org/10.2307/1942110

- Underwood, A.J.J., 1992. Beyond BACI: the detection of environmental impacts on populations in the real, but variable, world. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 161, 145-178. https://doi.org/10.1016/0022-0981(92)90094-Q

- Van De Merwe, J.P., Lee, S.Y., Connolly, R.M., Pitt, K.A., Steven, A.D.L., 2016. Assessing temporal and spatial trends in estuarine nutrient dynamics using a multi-species stable isotope approach. Ecol. Indic. 67, 338-345. <u>https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.02.058</u>

## 3. ESTUDIO DEL ICTIOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR

Uno de los objetivos generales del convenio en curso se centra en el estudio del ictioplancton (larvas y juveniles de peces), grupo que cuenta con numerosas especies que pueden aportar una información muy relevante sobre su estado, y que es el protagonista de uno de los principales servicios ecosistémicos que el estuario del Guadalquivir aporta: la función como zona de cría de especies de interés pesquero del Golfo de Cádiz. En conjunto, la información que se obtenga debe facilitar la implementación de una estrategia global de gestión del estuario que permita e incluso potencie el uso sostenible de estos recursos, compatibilizándolo con la recuperación ambiental del Guadalquivir y con su conservación.

### 3.1. OBJETIVOS

- Estudiar la dinámica espacio-temporal de las fases larvarias y juveniles de las diferentes especies de peces presentes en el estuario del Guadalquivir, para proponer medidas de gestión en las que se mejore tanto las condiciones medioambientales como el reclutamiento de larvas de peces que son de interés comercial explotadas por las pesquerías del Golfo de Cádiz.
  - 1.1. Puesta en marcha del protocolo de monitorización a largo plazo para evaluar correctamente las condiciones de la comunidad de ictioplancton en el estuario del Guadalquivir.
- 2. Determinar qué variables físico-químicas tienen un efecto significativo sobre la comunidad planctónica, así como establecer de qué forma las modificaciones de estas variables, naturales o de origen antrópico, afectan a dicha comunidad. Igualmente, establecer qué actuaciones antrópicas presentes en el estuario en la actualidad tienen también un efecto sobre la comunidad planctónica y caracterizar este potencial efecto.
  - 2.1. Monitorizar la variación físico-química en la columna de agua de la zona alta del estuario durante un ciclo de marea completo (fase de llenante y vaciante).
  - 2.2. Caracterizar la comunidad de mesozooplancton en la zona alta del estuario y relacionarla con las características físico-químicas analizadas.

## **3.2. ACTUACIONES REALIZADAS**

Desde el último informe entregado en diciembre de 2018 se han realizado numerosas actividades para cumplir con los objetivos citados anteriormente. En este apartado se mencionan las actividades llevadas a cabo y los resultados analizados hasta el momento actual.

## 3.2.1. SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD DE ICTIOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2019).

Respecto al seguimiento mensual de la comunidad planctónica, tras las conclusiones obtenidas de la serie trianual llevadas a cabo en los proyectos anteriores (desde octubre de 2015 hasta septiembre de 2018), se ha procedido a la aplicación del protocolo de monitorización a largo plazo, muestreando en el periodo de mayor actividad de reclutamiento (abril - agosto). En este periodo se ha muestreado mensualmente con 5 campañas, las cuales fueron conjuntas con el equipo de mesozooplancton de la Universidad de Cádiz.

## 3.2.1.1. ÁREA DE ESTUDIO

El estuario del río Guadalquivir consta de 110 km de recorrido, comprendidos desde la presa de Alcalá del Río (provincia de Sevilla) aguas arriba hasta su desembocadura en el Golfo de Cádiz entre Sanlúcar de Barrameda (provincia de Cádiz) y el Parque Nacional de Doñana (provincia de Huelva).

A lo largo de su recorrido longitudinal encontramos un gradiente salino que oscila desde agua marina ( $\approx$ 36 PSU) en la zona más próxima a la desembocadura hasta agua dulce ( $\approx$ 0 PSU) en los tramos más altos cercanos a la presa. Además, se caracteriza por ser un sistema, en general, bien mezclado verticalmente (Vannéy, 1970).

En esta nueva fase de continuación del proyecto, se redujeron el número de estaciones de muestreo en relación con los años previos, quedando así 4 estaciones (Canal, 25 PSU, 15 PSU y 5 PSU) (Figura 3.1).



Figura 3.1. Estaciones de muestreo de plancton durante las campañas de abril hasta agosto de 2019.

## 3.2.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.2.1.2.1. OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

La toma de muestras de ictioplancton se llevó a cabo desde la embarcación "LBM III", la cual ha sido equipada para realizar diversos tipos de muestreos científicos. Las muestras eran recolectadas con una red de plancton troncocónica de 1 m de diámetro, una manga de 3,44 m de longitud y una luz de malla de 1.000 µm. Los muestreos eran de tipo activo, con el barco en movimiento a una velocidad de 2-3 nudos y siempre durante el periodo de marea llenante, en la zona central del cauce. Los lances consistían en un movimiento oblicuo desde el fondo hasta la superficie, usando para ello una grúa eléctrica, y muestreando así toda la columna de agua. En cada punto se tomaron 3 lances de 12 minutos cada uno para evitar la obturación de la red y la consecuente pérdida de eficiencia de filtrado. El volumen de agua filtrado era medido con un flujómetro General Oceanics 2030R colocado en el aro.

Los muestreos se realizaron con una frecuencia aproximadamente mensual, llevándose a cabo en un solo día e iniciándose en la estación Canal para luego ir muestreando las demás estaciones río arriba hasta acabar en 5 PSU.

Los muestreos de ictioplancton se llevaron a cabo simultáneamente desde la misma embarcación con muestreos específicos del mesozooplancton, que están siendo analizados por el grupo de la Universidad de Cádiz.

### 3.2.1.2.2. TRATAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Tras la captura de los organismos, estos eran fijados en etanol al 70% para su posterior triado. Actualmente se están separando las especies de peces del resto de organismos capturados de las diferentes campañas. Tras su separación, se pesarán en fresco los diferentes taxones de macrozooplanton para estimar su biomasa. Por otro lado, todos los individuos del ictioplancton serán identificados y contados, y de las especies con mayor interés comercial se medirá la talla. Para ello se utilizará un sistema de análisis de imágenes, tomadas mediante escáner y procesadas con el software ImageJ.

## 3.2.1.2.3. OBTENCIÓN DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS

En cada punto de muestreo se midieron diferentes variables físico-químicas de la columna de agua. Para ello se utilizó una sonda multiparamétrica Eureka Manta 2 que registra en continuo (un valor de cada variable por segundo) las siguientes variables: profundidad, salinidad, pH, turbidez, oxígeno disuelto (DO) y temperatura. En cada punto de muestreo se tomaron 3 perfiles de toda la columna de agua, uno antes de iniciar los lances, otro intermedio y también al final tras terminar el último lance para así tener caracterizada toda la masa de agua en la que se capturaban las muestras.

Además, para otros análisis como es la medida de sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión, nutrientes (nitrito, nitrato, amonio, fosfato y silicato) y clorofila, se llevó a cabo la toma de muestras de agua con una botella Niskin a media agua.

### 3.2.1.2.3.1. Sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión

Las muestras de agua eran guardadas en botellas topacio y conservadas en hielo hasta la llegada a puerto donde se procedía con el filtrado de las mismas. Para ello se utilizaron filtros de fibra de vidrio con una capacidad de retención de partículas de hasta 0,7 µm (Whatman GF/F). Una vez filtrado un volumen significativo de agua, los filtros eran guardados y conservados en hielo hasta la llegada al laboratorio. El agua filtrada era utilizada para la medición de los nutrientes. Previamente, los filtros eran precombustionados (500°C, 4 h) y posteriormente pesados. Tras el filtrado, se secaban en una estufa a 60°C durante 24 horas para medir el peso seco de cada filtro y obtener la cantidad de sólidos totales (ST) en suspensión. Después se procedió a la combustión de los mismos para obtener la fracción de materia orgánica (MO) e inorgánica (MI).

### 3.2.1.2.3.2. Nutrientes

Los nutrientes disueltos en el agua (nitrato, nitrito, amonio, fosfato y silicato) son medidos en el agua filtrada para la obtención de los sólidos en suspensión. Estas muestras eran congeladas a -20°C en el laboratorio y posteriormente fueron llevadas al Laboratorio de Análisis de Aguas y Sedimentos del Instituto de Investigaciones Marina (INMAR) de la Universidad de Cádiz para ser analizadas con un autoanalizador de flujo segmentado desarrollado para la cuantificación de nutrientes disueltos en agua de mar (nitrito, nitrato, amonio, fosfato y silicato). Actualmente, estamos a la espera de los resultados de estos análisis.

#### 3.2.1.2.3.3. Clorofila

Las muestras de agua cogidas para analizar la concentración de clorofila eran también tomadas a media agua y conservadas en un bote topacio con hielo hasta llegar a puerto, donde se procedía a la filtración de 1 L. Se utilizaron filtros de fibra de vidrio con una capacidad de retención de partículas de 0,7 µm, controlando la presión durante el proceso. Las muestras son analizadas mediante espectrofotometría de fluorescencia en el INMAR de la Universidad de Cádiz.

### 3.2.1.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS

Los datos obtenidos tras la determinación faunística se resumen en una matriz taxónestación. Con estos datos se pretende describir y analizar los cambios producidos en un gradiente espacio-temporal en las comunidades mediante el cálculo del número de especies, abundancia total y relativa y diversidad. Por otro lado, se procederá a la comparación entre comunidades y sus relaciones con las distintas variables abióticas medidas mediante análisis multivariantes de ordenación o tipo PERMANOVA con diferentes programas estadísticos como son PRIMER 6 ("Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research") y RStudio.

Por otro lado, para estudiar la estructura de la columna de agua en las distintas zonas de muestreo y poder compararlas tanto espacial como temporalmente, la relación de cada variable, tomada con la sonda multiparamétrica, con la profundidad se analizó mediante modelos aditivos que permiten el estudio de relaciones no lineales. En cada zona de muestreo, cada uno de los 3 perfiles realizados se consideró como un nivel aleatorio en el modelo y se obtuvo la predicción del modelo promedio, usando como herramienta el programa RStudio. Para una visualización que permita la interpretación y la comparación, los datos obtenidos de la forma expuesta son representados con el programa Ocean Data View (Schlitzer, 2016), que realiza una interpolación de esos datos en toda la zona de estudio.

### **3.2.1.3. RESULTADOS**

En este apartado se muestran los resultados obtenidos del seguimiento continuado entre abril y mayo de 2019. Parte de las muestras físico-químicas recolectadas han sido ya procesadas y analizadas, otras, como las biológicas, están aún en fase de obtención de resultados.

### 3.2.1.3.1. RESULTADOS VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS

En este apartado se muestra un resumen de la distribución espacial y temporal de las distintas variables físico-químicas medidas durante el seguimiento.

### 3.2.1.3.1.1. Sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión y turbidez

En la figura 3.2 se muestran los resultados de ST, MO y MI para cada masa de agua (Canal, 25, 15 y 5 PSU). Como puede observarse, la concentración de ST, MO y MI aumenta de las masas de aguas de mayor salinidad y más cercanas a la desembocadura hasta las masas de agua menos salinas. Cabe destacar, un aumento exponencial de hasta 1200 mg/L de sólidos totales en la estación 5 PSU durante el muestreo de mayo 2019. Este valor no se relaciona con grandes avenidas como en años previos, ya que el flujo de agua desembalsado mantuvo un caudal estable durante prácticamente todo el periodo de estudio (figura 3.3). Este ascenso de la concentración en 5 PSU pudo ser debido a un evento puntual de resuspensión de sedimento debido a la dinámica mareal y la batimetría del punto de muestreo, o por otro lado, que la zona de máxima turbidez del estuario hubiese descendido hasta la salinidad muestreada (ver Figura 3.6).

En relación con la proporción de MI (e inversamente la proporción de MO), los valores más elevados se encuentran generalmente en la estación de 5 PSU, la cual está más próxima a una de las Zonas de Máxima Turbidez (ZMT) del estuario detectada y descrita en los proyectos previos.



Figura 3.2. Valores mensuales de sólidos en suspensión y porcentaje de materia inorgánica y orgánica de todas las masas de agua muestreadas durante los meses de abril a agosto de 2019.



Figura 3.3. Volumen (m<sup>3</sup>/s) mensual medio del caudal circulante en la presa de Alcalá del Río durante el periodo de marzo a septiembre de 2019. Fuente: Sistema Automático de Información Hidrológica de la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir.

#### 3.2.1.3.1.2. Clorofila

Los niveles de clorofila (Figura 3.4), la cual es un importante indicador de la producción primaria y biomasa de fitoplancton (Henson *et al.*, 2010), son mayores en las estaciones más internas, siendo generalmente las menos salinas las más elevadas. Sin embargo, estas estaciones



Figura 3.4. Valores mensuales de clorofila (µg/L) de todas las masas de agua muestreadas durante los meses de abril hasta agosto de 2019.

son también las más turbias y con mayor concentración de sólidos totales (figura 3.2), lo cual es paradójico ya que la fotosíntesis realizada por el fitoplancton se ve limitado por la menor penetración de la luz en la columna de agua (Irigoien y Castel, 1997). Todo indica que mayores concentraciones de clorofila en estas estaciones más internas (15 y 5 PSU) se deben a su proximidad a dos zonas de máxima turbidez (descritas en el informe previo) cuya dinámica de circulación de agua favorece la resuspensión de partículas y/o la retención de las mismas, entre ellas el microfitobentos (De Jonge y Van Beusekom, 1992), como se ha planteado en otros informes anteriores.

Por otro lado, los niveles de clorofila fueron más bajos que los registrados el año anterior en los mismos meses. En 2018 hubo una gran avenida en marzo, la cual pudo aumentar la concentración de nutrientes disponibles en el estuario durante el resto de los meses que favoreciera la proliferación de fitoplancton, . Esta hipótesis está en proceso de contrastación ya que aún no tenemos los datos de nutrientes de este periodo 2019. Otra hipótesis alternativa o complementaria pendiente de confirmación, es que esta avenida podría haber resuspendido una mayor cantidad de microfitobentos o transportado más organismos fotosintéticos desde aguas arriba a la zona baja del estuario.

### 3.2.1.3.1.3. Perfiles físico-químicos de la columna de agua

A continuación, se describen las distintas variables físico-químicas medidas por la sonda multiparamétrica.

## -3.2.1.3.1.3.1 Temperatura

La temperatura presentó una variación incrementando de manera en toda el área de con valores mínimos en torno a 17 °C) y máximos agosto (28 °C) (Figura Estos valores coinciden evolución temporal registrada años anteriores.

Respecto la а variación espacial de la temperatura, cabe destacar que las estaciones más internas presentaron oscilaciones amplias, alcanzando más bajos en invierno y altos en verano. Además, turbidez en las zonas es mayor (Figura 3.6), por provoca una mayor captación de la radiación principalmente en los de verano ٧ en consecuencia, del de aumento su temperatura.



Figura 3.5. Representación gráfica de los valores de temperatura en la zona de estudio durante los meses de abril a agosto de 2019.

### -3.2.1.3.1.3.2 Turbidez

Durante el periodo estudio se observó, como anteriores, valores más los meses de primavera 3.6). No se registraron de turbidez extremos ya hubo ningún evento de fuertes que conllevara descarga elevada desde la Alcalá del Río. Los niveles encontraron altos se en las estaciones más internas. Los valores máximos registrados en la estación de 5 PSU se alcanzaron hasta 1668 la parte próxima al fondo el mes de mayo 2019. valores se relacionan con concentración máxima de medidas en esa misma (Figura 3.2), donde pudo un desplazamiento aguas de una de las zonas de turbidez registradas a esta estación.



Figura 3.6. Representación gráfica de los valores de turbidez en la zona de estudio durante los meses de abril a agosto de 2019.

### -3.2.1.3.1.3.3 Oxígeno disuelto

Las mediciones de concentración de oxígeno 3.7) (Figura mostraron fluctuación mayor temporal entre los distintos meses aue entre las distintas estaciones. Los niveles altos registrados fueron de abril las mes en estaciones más internas, decreciendo de forma en los meses posteriores y estaciones más externas.

La capacidad del mantener oxígeno se relaciona de forma con la temperatura y con salinidad, entre otras variables. Las temperaturas más bajas primeros meses del año permiten mantener de oxígeno más elevados. lado, a nivel espacial, las exteriores presentan salinidad en ٧, consecuencia, niveles de más bajos.





Figura 3.7. Representación gráfica de los valores de oxígeno disuelto en la zona de estudio durante los meses de abril a agosto de 2019.

excesivamente bajos en diversas zonas del estuario del Guadalquivir, y se ha señalado como uno

de los problemas ambientales del mismo. Dado que es ésta una variable crítica para el normal desarrollo de los organismos acuáticos y para el mantenimiento de las funciones del ecosistema, cabe destacar que en ningún momento se alcanzaron valores hipóxicos en la zona baja del estuario durante este periodo de estudio.

## 3.2.2. DETERMINACIÓN EN LA ZONA ALTA DEL ESTUARIO DE LAS VARIACIONES Y ALTERACIONES DE LAS CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS (DE ORIGEN NATURAL O ANTRÓPICO) QUE AFECTAN A LA COMUNIDAD PLANCTÓNICA Y CARACTERIZACIÓN DEL POTENCIAL EFECTO.

Determinar las fluctuaciones de las características físico-químicas del estuario junto con las causas que las generan y relacionarlas con la comunidad planctónica presente en el Guadalquivir es de gran importancia para la mejora de su gestión y manejo. Es por ello que se planteó una serie de objetivos en el informe previo para evaluar diferentes situaciones que podrían modificar el hábitat en el que viven las distintas especies del plancton en periodos de tiempo muy cortos (días/semanas), lo cual puede ser crítico para la supervivencia de estos organismos.

Estudios anteriores habían indicado que el estuario del Guadalquivir presentaba problemas crónicos de hipoxia, o niveles excesivamente bajos de oxígeno, presentándolo como un problema ambiental grave (Ruiz et al., 2013). En estos estudios se indicaba que la zona más afectada era la zona alta del estuario, con un 90% del tiempo en condiciones de hipoxia. En nuestros estudios desde 2015 de monitorización del estuario, no se han encontrado fenómenos de hipoxia en las zonas más bajas de este, que son las biológicamente más activas y relevantes para la función de cría del estuario y para el mantenimiento de las pesquerías del Golfo de Cádiz (ver informes anteriores). Sin embargo, en los monitoreos realizados en la zona alta del estuario, en torno a la esclusa y zonas más arriba, sí se han encontrado procesos de hipoxia que efectivamente se muestran como casi permanentes. Adicionalmente, en periodos cálidos, este proceso deriva en mortandades masivas de peces, que son visibles en las poblaciones ribereñas y que generan alarma social. En los estudios anteriormente citados, estos fenómenos habían sido descritos mediante procesos físicos y asociados principalmente a la mala condición ambiental general del estuario, principalmente la elevada turbidez, y al comportamiento estacionario de la onda de marea en esta zona. No obstante, dada la cercanía de zonas de actividad humana, la alarma social que generan las mortandades de peces que se producen en periodos cálidos, frecuentemente derivan en señalar a los sectores productivos como responsables de estos procesos, aunque existe poca evidencia al respecto. Para tratar de arrojar luz e información científica objetiva sobre estos fenómenos, se ha realizado un estudio con una monitorización más detallada de esta zona, incluyendo además de los análisis físico-químicos, muestreos del mesozooplancton para evaluar sus efectos en la comunidad biológica.



Figura 3.8. Estaciones de muestreo durante el ciclo de marea diurno del día 25/07/2019.

### **Objetivos específicos**

- Monitorizar la variación físico-química en la columna de agua de la zona alta del estuario durante un ciclo de marea completo (fase de llenante y vaciante).

- Caracterizar la comunidad de mesozooplancton en la zona alta del estuario y relacionarla con las características físico-químicas analizadas (Ver informe Universidad de Cádiz).

## 3.2.2.1. MONITORIZACIÓN EN LA COLUMNA DE AGUA DE LA VARIACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LA ZONA ALTA DEL ESTUARIO DURANTE UN CICLO DE MAREA COMPLETO (FASE DE CRECIENTE Y VACIANTE)

## 3.2.2.1.1. ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio seleccionada tras los estudios previos comprendió a la masa de agua de la zona alta del estuario desde Puebla del Río hasta pasado San Juan de Aznalfarache (20 km aprox.). Dentro de esta área se tomaron 7 estaciones fijas (Puebla, Coria, Antesclusa, Esclusa, Gelves, San Juan y Cartuja) para monitorizar la evolución de los distintos parámetros físicoquímicos en el transcurso de un ciclo de marea completo (Figura 3.8).

## 3.2.2.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.2.2.1.2.1. Obtención de muestras físico-químicas

En cada punto de muestreo se midieron diferentes variables físico-químicas de la columna de agua. Para ello se utilizó una sonda multiparamétrica Eureka Manta 2 que registra en continuo (un valor de cada variable por segundo) las siguientes variables: profundidad, salinidad, pH, turbidez, oxígeno disuelto (DO) y temperatura. La toma de datos se inició midiendo en la estación más baja del estuario (Puebla), y se ascendía río arriba parando en las todas las estaciones hasta finalizar en San Juan. Una vez tomadas las medidas en la última estación, se volvía al punto de partida en Puebla para repetir el ciclo de medidas en cada estación durante una fase de marea completa de 12,5 horas. Los muestreos se iniciaron con el comienzo de la pleamar y se finalizaron tras acabar la bajamar.

Por otro lado, también se midió la penetración de la luz fotosintéticamente activa o PAR (del inglés "Photosynthetically Active Radiation") en toda la columna de agua de cada estación con un sensor quántico esférico de radiación fotosintética activa (Li-Cor LI-193).

### 3.2.2.1.2.2. Tratamiento de los datos

Para estudiar la estructura de la columna de agua en las distintas zonas de muestreo y poder compararlas tanto espacial como temporalmente, la relación de cada variable con la profundidad se analizó mediante modelos aditivos que permiten el estudio de relaciones no lineales, usando el programa RStudio. Para una visualización que permita la interpretación y la comparación, los datos obtenidos de la forma expuesta han sido representados con el programa Ocean Data View (Schlitzer, 2016), que realiza una interpolación de esos datos en toda la zona de estudio.

### 3.2.2.1.3. RESULTADOS

En este apartado se muestran los resultados obtenidos de las distintas variables físicoquímicas de cada uno de los 5 ciclos de registros tomados a lo largo del periodo completo de marea. El muestreo se llevó a cabo el día 25 de julio de 2019, con el inicio teórico de la pleamar a las 7:39 AM, y terminó con el fin de la bajamar a las 19:56 PM. La estación de Cartuja no pudo muestrearse en el primer ciclo de toma de datos.

Respecto a los valores de las variables de salinidad y temperatura, hubo pocas variaciones. En relación a la salinidad, los valores oscilaron entre 0,4 y 0,8 PSU, descendiendo gradualmente hacia aguas arriba. La temperatura registrada fue elevada, con un rango de 28,5 a 29,5°C, siendo más baja en los primeros ciclos, a primera hora de la mañana, y ascendiendo a lo largo del día principalmente en la superficie y hacia aguas arriba por la radiación solar. La concentración de oxígeno fue la variable principal por la que se decidieron efectuar estos muestreos, tras las observaciones previas detalladas en informes anteriores. En este caso, se pudo observar una amplia zona hipóxica (Figura 3.9) -con concentraciones menores a 2.9 mg/L-, la cual varía en extensión y localización en el transcurso del ciclo mareal.

Con el inicio de la pleamar, en el ciclo 1 la masa de agua hipóxica alberga su mayor extensión (aunque no se pudo determinar si llegaba hasta la estación Cartuja), con una concentración menor a 2.5 mg/L en toda la columna de agua. Tras varias horas subiendo la marea, se observa en el ciclo 2 que el agua más oxigenada aguas abajo llega a la zona de estudio (estaciones Puebla - Esclusa), y en la estación Cartuja asciende levemente la concentración de oxígeno. En el ciclo 3, que se llevó a cabo a medio día, la masa de agua hipóxica llegó a su punto más elevado aguas arriba con el fin de la pleamar. La concentración de oxígeno en la superficie ascendió, pero solo en los primeros centímetros de la columna de agua. Este ascenso probablemente fue debido a la actividad fotosintética, la cual está limitada en gran parte por la turbidez (Figura 3.10), que solo deja penetrar la luz apenas 50 cm desde la superficie en casi toda el área de estudio y en los distintos momentos de marea (Figura 3.10). En el ciclo 4, donde transcurre la fase de marea vaciante, la masa de agua hipóxica vuelve a descender albergando las zonas desde la Esclusa hasta San Juan. Es al final de la pleamar, en el ciclo 5, cuando se observan valores mínimamente superiores a 3 mg/L en la masa de agua hipóxica monitorizada durante toda la fase de marea.

Por otro lado, la turbidez (Figura 3.10) en la zona de estudio tubo pocas variaciones, siendo el mayor registro con 1200 NTU en el fondo de la estación de Puebla durante el ciclo 2. Estos niveles solo se registraron de manera puntual, aunque los valores más altos registrados fueron siempre en el fondo de esa estación, y en menor medida en la estación de Coria.

Aunque los valores medidos no fueron excesivamente elevados en comparación con otros registros previos, la penetración de la luz (Figura 3.10) en todo el área de estudio se limitó a los primeros 20 - 50 cm de la columna de agua. Lo cual impide que el fitoplancton pueda realizar la fotosíntesis en la mayor parte de la columna de agua, limitando la producción fotosintética de oxígeno, que solo se aprecia en las capas más superficiales. Como puede observarse en los

gráficos, la radiación fotosintéticamente activa no penetra en profundidad en zonas donde la turbidez excede los 50 - 75 NTU.



Figura 3.10. Representación gráfica de los valores de turbidez (izquierda) y penetración de la radiación fotosintéticamente activa (derecha) en la zona de estudio en los 5 ciclos muestreados durante el periodo de marea llenante y vaciante del 25/07/2019.

relación Existe una de equilibrio entre la fotosíntesis y la respiración, que afectan a los niveles de pH y de oxígeno. Así, la respiración consume oxígeno y libera CO<sub>2</sub>. Este CO<sub>2</sub> reacciona con el agua para formar un equilibrio químico con el carbonato y bicarbonato, liberando protones al medio, los cuales acidifican el el agua. Por contrario, la fotosíntesis produce oxígeno y consume CO<sub>2</sub>, subiendo de esta forma el pH. En la masa de agua con niveles más bajos de oxígeno es donde se observan niveles más bajos de pH (Figura 3.11), lo que indica un deseguilibrio hacia la dominancia de la respiración frente a la fotosíntesis. Este fenómeno se puede producir por un bloqueo de la fotosíntesis debido a una turbidez elevada. Sin embargo, como se observa en los gráficos de turbidez y de penetración de la luz, la masa de agua más hipóxica no mayores niveles presenta de turbidez ni menores de penetración de la luz. Por otro lado, como se aprecia en los perfiles longitudinales de oxígeno, esta masa de agua constituye una bolsa definida, rodeada tanto hacia la zona más alta como a la más baja del estuario por niveles de oxígeno más elevados. Todo esto parece



Figura 3.11. Representación gráfica de los valores de pH en la zona de estudio en los 5 ciclos muestreados durante el periodo de marea llenante y vaciante del 25/07/2019.

claramente apuntar a un efecto puntual y de origen antrópico en la zona del estuario entre Gelves y San Juan de Aznalfarache, posiblemente debido a algún vertido mal gestionado o accidentalmente fuera de control.

Como consecuencia de ser un fenómeno de origen antrópico, es factible corregirse de forma relativamente rápida, generando por tanto un beneficio a corto plazo tanto para la biota del estuario como para la percepción de la calidad ambiental del mismo en la población en general y en las poblaciones ribereñas en particular, eliminando los procesos de mortandades y la alarma social que generan recurrentemente. Aunque se desconocen los motivos exactos de su aparición, es importante monitorizar el alcance de la misma y su evolución temporal por si estas condiciones llegaran a extenderse en el cauce, prolongarse en el tiempo o incluso agravarse con un descenso en la concentración de oxígeno.

Respecto a las implicaciones en la comunidad biológica, se ha monitorizado su posible impacto en los organismos mesozooplanctónicos de toda la columna de agua. Los resultados están detallados en el informe de la Universidad de Cádiz, con los que realizamos conjuntamente el estudio. No obstante, los efectos de esta masa de agua hipóxica podrían ser más perjudiciales sobre organismos de mayor tamaño (zooplancton, larvas - juveniles y/o adultos de peces), ya que tienen una mayor demanda de oxígeno para su supervivencia.

## **3.3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- De Jonge, V. N. & Van Beusekom, J. E. E. (1992) Contribution of resuspended microphytobenthos to total phytoplankton in the Ems estuary and its possible role for grazers. Netherlands Journal of Sea Research 30, 91-105.

- Henson S. A, Sarmiento J. L, Dunne J. P. *et al.* (2010) Detection of anthropogenic climate change in satellite records of ocean chlorophyll and productivity. Biogeosciences, 7, 621-640.

- Irigoien, X., y Castel, J. (1997). Light Limitation and Distribution of Chlorophyll Pigments in a Highly Turbid Estuary: the Gironde (SW France). Estuarine, Coastal and Shelf Science, 44, 507-517.

- Ruiz, J., Macías, D., Losada, M. A., Díez-Minguito, M. y Prieto, L. (2013) A simple biogeochemical model for estuaries with high sediment loads: Application to the Guadalquivir River (SW Iberia). Ecological Modelling, 265, 194-206.

- Schlitzer R. (2016) Ocean Data View. Alfred Wegener Institute, Bremerhaven, Germany. https://odv.awi.de/

- Vannéy, J.R. (1970). L'hydrologie du bas Guadalquivir. Instituto de Geografía Aplicada del Patronato "Alonso de Herrera", Madrid, 174 pp.







ESTABLECIMIENTO DE SERIES TEMPORALES LARGAS Y DE SUS IMPLICACIONES EN LA GESTIÓN Y MEJORA DEL ESTUARIO, SU INTEGRACIÓN EN LOS OBJETIVOS DE LA FWD Y DE LA MSDF, ESTUDIOS BACI ("BEFORE AFTER CONTROL IMPACT") DE LOS DRAGADOS DE MANTENIMIENTO A REALIZAR DURANTE LA CAMPAÑA 2020, COLABORACIÓN EN LA CAMPAÑA DE DIFUSIÓN, DIVULGACIÓN Y PROYECCIÓN SOCIAL DEL CONOCIMIENTO GENERADO EN EL ESTUARIO Y OTRAS ACCIONES COMPLEMENTARIAS

**INFORME FINAL, ABRIL'21** 

## ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	;
2. RÍC	ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS EN EL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR4	ŀ
2	.1. OBJETIVOS	Ļ
	2.1.1. SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD BENTÓNICA EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2020)	į
	2.1.1.1. MATERIAL Y MÉTODOS 5	;
	2.1.1.2. ÁREA DE ESTUDIO6	)
	2.1.1.3. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS7	,
	2.1.1.2.4. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS	)
	Perfiles físico-químicos de la columna de agua9	)
	Granulometría10	)
	Contenido en materia orgánica12	
	2.1.1.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS12	
	Análisis descriptivos de la comunidad13	;
	Análisis multivariantes14	-
	Indicadores de los elementos de calidad biológicos16	)
	M-AMBI (Multivariate AZTI Marine Biotic Index)16	)
	BENFES (Benthic Families Ecological Status Index) 19	)
	2.1.2.5. RESULTADOS DEL SEGUIMIENTO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR 2019	)
	2.1.2. EFECTO DE LOS DRAGADOS DE MANTENIMIENTO DE 2019	,
	2.1.2.1. ANÁLISIS DE ISÓTOPOS METALES Y NUTRIENTES	;
	2.1.2.2. RESULTADOS DEL IMPACTO DE LOS DRAGADOS DE MANTENIMIENTO DE 2019 SOBRE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR	)
	2.1.3. RESULTADOS CIENTÍFICOS EN FORMA DE PUBLICACIÓN EN REVISTAS INTERNACIONALES	\$
2	.2 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	)
3. E	STUDIO DEL ICTIOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR41	
3	.1. OBJETIVOS	
3	.2. ACTUACIONES REALIZADAS	
	3.2.1. SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD DE ICTIOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2020). 	
	3.2.1.1. ÁREA DE ESTUDIO	
	3.2.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS	;

3.2.1.2.1. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS	43
3.2.1.2.2. TRATAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS	43
3.2.1.2.3. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS	43
3.2.1.2.3.1. Sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión	44
3.2.1.2.3.2. Clorofila	44
3.2.1.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS	44
3.2.1.3. RESULTADOS DEL SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD DE ICTIOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2019).	45
3.2.1.3.1. RESULTADOS VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS	45
3.2.1.3.1.1. Sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión y turbio	dez 45
3.2.1.3.1.2. Clorofila	48
3.2.1.3.1.3. Perfiles físico-químicos de la columna de agua	50
3.2.1.3.1.3.1 Temperatura	49
3.2.1.3.1.3.2. Turbidez	51
3.2.1.3.1.3.3. Oxígeno disuelto	52
3.2.2. EFECTOS DEL DRAGADO DE MANTENIMIENTO DE 2017 SOBRE LAS VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS Y LAS COMUNIDADES PLANCTÓNICAS DE E COLUMNA DE AGUA EN ZONAS POLI (SALINAS) Y MESOHALINAS	LA
(PUNIALEIE).	54
(PUNTALETE). 3.2.2.1. ÁREA DE ESTUDIO	55
(PUNTALETE). 3.2.2.1. ÁREA DE ESTUDIO 3.2.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS	54 55 56
(PUNTALETE). 3.2.2.1. ÁREA DE ESTUDIO 3.2.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS 3.2.2.2.1. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS Y FÍSICO-QUÍMICAS	55 56 56
<ul> <li>(PUNTALETE).</li> <li>3.2.2.1. ÁREA DE ESTUDIO.</li> <li>3.2.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS</li> <li>3.2.2.2.1. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS Y FÍSICO-QUÍMICAS</li> <li>3.2.2.2.2. TRATAMIENTO DE LOS DATOS</li> </ul>	55 56 56 57
<ul> <li>(PUNTALETE).</li> <li>3.2.2.1. ÁREA DE ESTUDIO.</li> <li>3.2.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS</li></ul>	54 55 56 56 57 LAS
<ul> <li>(PUNTALETE)</li></ul>	54 55 56 56 57 LAS 59 59
<ul> <li>(PUNTALETE)</li></ul>	54 55 56 56 57 LAS 59 59 59
<ul> <li>(PONTALETE)</li></ul>	54 55 56 56 57 LAS 59 59 59 60
<ul> <li>(PONTALETE)</li></ul>	54 55 56 56 57 LAS 59 59 59 60 61
<ul> <li>(PUNTALETE)</li></ul>	54 55 56 56 57 LAS 59 59 59 60 61 61
<ul> <li>(PUNTALETE)</li></ul>	54 55 56 56 57 LAS 59 59 59 60 61 61 65
<ul> <li>(PUNTALETE)</li></ul>	54 55 56 56 57 LAS 59 59 60 61 61 65
<ul> <li>(PUNTALETE)</li></ul>	54 55 56 56 57 LAS 59 59 60 61 61 65 D- 67 73

## **1. INTRODUCCIÓN**

El presente informe concierne al proyecto titulado "Establecimiento de series temporales largas y de sus implicaciones en la gestión y mejora del estuario, su integración en los objetivos de la FWD y de la MSDF, estudios BACI ("Before after control impact") de los dragados de mantenimiento a realizar durante la campaña 2020, colaboración en la campaña de difusión, divulgación y proyección social del conocimiento generado en el estuario y otras acciones complementarias" para el periodo 15/06/2020 al 14/12/2020 y que se presenta tras la prórroga concedida en los primeros meses de 2021 (enero-abril) para la finalización de los análisis.

Entre otros objetivos se pretende continuar generando información para implementar series temporales largas de datos las cuales permitan conocer con mayor precisión el comportamiento y la evolución del estuario desde una perspectiva pluridisciplinar. Las dinámicas de los ecosistemas estuáricos son intrínsecamente muy variables lo que tiene como consecuencia que los patrones observados no sean generalizables a situaciones ambientales diferentes, como ciclos lluviosos o ciclos secos. Para entender realmente el funcionamiento y poder gestionar los recursos naturales y los servicios ecosistémicos de un estuario complejo, es necesario disponer de datos que cubran las distintas situaciones ambientales a medio y largo plazo, con la finalidad de poder desarrollar una mejor gestión del mismo, teniendo en consideración los diferentes tipos de intereses que en él confluyen desde una perspectiva de sostenibilidad ambiental. Así mismo, se pretende, en el tiempo, contribuir con la Administración Ambiental competente de la Junta de Andalucía, al control y vigilancia ecológica y medioambiental de sus aguas, así como de las litorales próximas a la desembocadura.

En este informe se contemplan acciones relacionadas con las dinámicas de las comunidades de macrofauna del bentos y del plancton en los periodos de 2019 y 2020. Además, se presentan resultados sobre el estudio de la influencia de diferentes campañas de dragados de mantenimiento realizadas en 2017, 2019 y 2020 (en conjunto con la Universidad de Cádiz) en las dinámicas poblacionales de las comunidades bentónicas y planctónicas, así como en los parámetros fisicoquímicos del sistema. Con esta serie de estudios en conjunto con otros presentados en informes anteriores, donde se analizaban, además, las consecuencias indirectas de estudio de actuaciones, el estuario del Guadalquivir se ha convertido en uno de los casos de estudio donde la influencia de los dragados de mantenimiento en diferentes periodos se ha investigado en mayor profundidad.

## 2. ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR

Uno de los principales objetivos es establecer series temporales largas del estado de las comunidades bentónicas que sirvan como "centinelas" de los posibles cambios que se originen en el sistema del estuario del Guadalquivir. En este sentido, a partir del año 2015 se ha iniciado un plan de seguimiento sobre las comunidades bentónicas presentes en los aproximadamente 30-40 km finales del estuario del río Guadalquivir y áreas próximas de la desembocadura. Desde la campaña de 2017 se ha incluido el seguimiento paralelo de las comunidades intermareales, una zona que ha demostrado albergar una diversidad relativamente mayor a ciertos tramos de la zona submareal en el estuario.

Al respecto, el bentos del estuario incluye numerosas especies sedentarias estrictas (en su fase adulta) las cuales pueden reportar importante información sobre su nivel de estructuración biológica, biodiversidad y sensibilidad ambiental ante determinadas afecciones de origen natural y antrópico, lo que puede contribuir en el futuro a una mejor gestión de actuaciones antropogénicas, como las derivadas de los dragados de mantenimiento que la Autoridad Portuaria de Sevilla debe acometer periódicamente. Además, el seguimiento de estas comunidades puede ayudar a detectar otros impactos que de otra manera pasarían desapercibidos.

## **2.1. OBJETIVOS**

Las comunidades animales del bentos representan el compartimento de la fauna que se encuentra asociado al fondo, y están constituidas por organismos en gran parte sésiles o de movimientos muy limitados y por tanto con poca capacidad de huida. Muchos animales del bentos suelen presentar ciclos de vida suficientemente largos como para permanecer bajo la influencia de los factores ambientales durante mucho tiempo por lo que pueden servir de centinelas de lo que acontece en el medio, no ya como especies individuales sino tomando como referencia la composición y estructuración de la comunidad global. El estrés ambiental influye sobre los organismos de forma individual, pero sus efectos pueden ser reconocidos en el ámbito de poblaciones o de comunidades, ya que inducen cambios cuantitativos y cualitativos en la estructura de estas comunidades. Además, suponen un importante elemento para el desarrollo y funcionamiento de las redes tróficas que implican a otros organismos tales como peces y aves. Por estas razones son de los mejores bioindicadores de las condiciones ambientales que imperan en los sistemas acuáticos. Las comunidades del bentos constituyen, pues, un elemento fundamental de control y vigilancia tanto de las actuaciones de dragados como de la futura gestión integral del estuario.

En este informe se detallan los

- Resultados preliminares de caracterización fisicoquímica de la columna de agua del seguimiento temporal de las comunidades bentónicas del estuario del Guadalquivir de 2020.
- Ampliación de los resultados del estudio de los impactos de los dragados de mantenimiento de 2019 presentados en el informe 2020.
- Resultados científicos en forma de publicación en revistas internacionales.

Algunos resultados derivados de la identificación taxonómica precisa de los individuos como los índices BENFES Y M-AMBI, así como algunos parámetros como el análisis de metales pesados e isotopos estables se proporcionarán en informes futuros.

# 2.1.1. SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD BENTÓNICA EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2020).

## 2.1.1.1. MATERIAL Y MÉTODOS

Para el seguimiento de las comunidades bentónicas asentadas a lo largo de los últimos 30-40 km del estuario del río Guadalquivir, los estudios anteriores han demostrado la idoneidad de dividir esta parte del río en 6 zonas con distintas condiciones ambientales, junto con otra zona externa en el medio marino en el área de influencia de la desembocadura (figura 2.1). Además, los resultados obtenidos hasta el momento, y con el objeto de evitar la redundancia en los datos y agilizar la obtención de resultados, han permitido definir como la época más adecuada de acuerdo con los objetivos del estudio al final de la temporada de verano.



Figura 2.1. Zonas en las que se ha dividido el tramo final del estuario del Guadalquivir para los estudios de seguimiento temporal de la comunidad del bentos.

### 2.1.1.2. ÁREA DE ESTUDIO

Para la selección de los puntos de muestreo del submareal, en cada una de las zonas en las que se ha dividido el tramo final del estuario se han elegido 3 puntos aleatorios en cada zona de muestreo. Los puntos se han establecido en la orilla izquierda del río hasta el canal de navegación. Paralelamente, por los resultados obtenidos de estas actuaciones, desde el muestreo de septiembre de 2017 se ha optado por realizar un seguimiento más específico en la zona intermareal. Para ello se han dividido los tramos de Esparraguera a Bonanza en distintas zonas y se han elegido 3 al azar en cada tramo para la recogido de muestras. De esta manera, en el muestreo de 2020, el total de muestras ha sido de 87, de las cuales 63 corresponden a muestras submareales y 24 a muestras intermareales.

## 2.1.1.3. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

La toma de muestras de sedimento submareales se realizó desde la embarcación "LBM III", propiedad de la Universidad de Sevilla y adquirida fundamentalmente para estudios en el estuario del Guadalquivir. Las muestras se tomaron mediante una draga tipo van Veen, con una superficie operativa de 0,05 m<sup>2</sup> y un peso aproximado de 8 kg. Este tipo de draga posibilita la toma de superficies rectangulares en los muestreos y que, independientemente del tipo de sedimento, profundiza en éste como mínimo 10 cm, fracción en la que se encuentra representada la mayor parte de la fauna sujeta a estudio. Una vez lanzada y recogida la draga, el contenido es embolsado y etiquetado para su traslado (figura 2.2).

En cada punto de recogida de muestras submareales se tomaron 3 réplicas con una



Figura 2.2. Embarcación LBM III. Muestras embolsadas para traslado a puerto. Proceso de tamizado en el puerto.

superficie total de  $0,15 \text{ m}^2$  destinadas al análisis de las comunidades biológicas. Diversos autores señalan que la superficie menor que estima la integración del total de taxones en el sedimento es de  $0,1\text{m}^2$ , por lo que la superficie total muestreada en este estudio se considera representativa de la zona.

Para las muestras de intermareal, en cada una de las zonas muestreadas se delimitaron 2 cinturones, uno situado en el límite superior de marea y otro en el inferior, en cada uno de ellos



Figura 2.3. Toma de muestras en la zona intermareal.

se recogieron 3 muestras de sedimento para análisis biológico mediante una calicata de 0,2 m x  $0,2m (0.04m^2)$  (figura 2.3). Dependiendo de la zona, el acceso a ellas se realizó bien desde tierra bien desde la embarcación LBM III.

El estudio, tanto de la zona submareal como de la intermareal, se centró en la identificación y caracterización de las comunidades de macrofauna bentónica. Aunque el criterio aplicado a la macrofauna hace referencia a un tamaño superior a 1mm, las muestras fueron cribadas con un tamiz de 0,5 mm de luz de malla. De esta forma los individuos pertenecientes a la meiofauna (organismos con un tamaño inferior a 0,5 mm) no pueden ser retenidos, pero se asegura la detección de juveniles macrobentónicos, muy importantes para la valoración global de la calidad ambiental. Así mismo, se asegura la captura de organismos vermiformes que, debido a su especial morfología, podrían no ser retenidos con luces de malla superiores y que, dada su importancia cualitativa y cuantitativa en la estructura de las comunidades bentónicas, podrían ocasionar errores en la interpretación de los resultados.

Una vez tamizadas, las muestras fueron fijadas con alcohol al 70% y teñidas con el colorante rosa de Bengala (que tiñe determinados componentes lipídicos de los individuos, facilitando su separación del sustrato) para posteriormente ser determinados y cuantificados a nivel de especie cuando fue posible.



Figura 2.4. Sonda multiparamétrica Eureka Manta 2. Medida in situ del potencial REDOX.

### 2.1.1.2.4. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS

Paralelamente al muestreo biológico, se efectuó la toma de muestras para los análisis físico-químicos. En cada punto submareal se tomó una muestra de sedimento mediante draga van Veen para el análisis granulométrico y de contenido orgánico y, mediante la sonda multiparamétrica Eureka Manta 2 (figura 2.4), se realizaron perfiles en profundidad y se obtuvieron los distintos parámetros físico-químicos medidos en el agua de la columna de agua (turbidez, salinidad, conductividad, oxígeno disuelto, temperatura y pH. El potencial REDOX fue medido *in situ* en el sedimento mediante electrodo (Sentix-ORP) con pHmetro WTW pH 1970i (figura 2.4).

Además, se tomaron muestras de sedimento para la determinación de la concentración de metales pesados y nutrientes. El sedimento fue tomado de la capa superficial de la muestra extraída mediante draga Van Veen y conservado en fresco en bote hermético etiquetado para su traslado a laboratorio donde se procedió al secado en estufa a 50°C (figura 2.5). Las muestras de sedimento secas han sido enviadas a los laboratorios del IRNAS (Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla-CSIC) para la determinación del contenido en metales, así como para la determinación del carbono orgánico total (COT), nitrógeno total (método de Kjedahl) y fósforo total (método de Olsen).

De igual forma, en el intermareal se tomaron dos muestras de sedimento superficial en cada punto para el análisis granulométrico y de contenido orgánico y de metales y nutrientes, respectivamente.

### Perfiles físico-químicos de la columna de agua

Para estudiar la estructura de la columna de agua en las distintas zonas de muestreo y

poder compararlas tanto espacial como temporalmente, la relación de cada variable con la profundidad se analizó mediante modelos generalizados aditivos que permiten el estudio de relaciones no lineales. En cada zona de muestreo, cada uno de los 3 perfiles realizados se consideró como un nivel aleatorio en el modelo y se obtuvo la predicción del modelo promedio por una profundidad estandarizada de 0 a 1. Para una visualización que permita la interpretación y la comparación, los datos obtenidos de la forma expuesta serán representados con el programa Ocean Data View (Schlitzer, 2016), que realiza una interpolación de esos datos en toda la zona de estudio.

### Granulometría

La composición granulométrica del sustrato es uno de los factores determinantes en la composición y estructura de las comunidades del macrobentos en sustratos blandos (Rhoas, 1974; Buchannan, 1984). La presencia de altas proporciones de elementos finos en los sedimentos conlleva la existencia de poblaciones poco diversas, mientras que una mayor heterogeneidad espacial (conseguida con el aumento del tamaño de los granos) potencia un aumento de diversidad biológica.



Figura 2.5 Proceso de secado de muestras de sedimento para la posterior medida de parámetros físico-químicos.

Para la obtención de los distintos componentes granulométricos se ha utilizado el método propuesto por Guitián y Carballas (1976). Las muestras se secan en una estufa a 100°C durante al menos 24 horas, de forma que se elimina el contenido en agua de la muestra. Pasado ese tiempo, se pesan 100 gramos de sedimento seco y se colocan en una volteadora durante 45 minutos con el fin de disgregar el sedimento. Posteriormente, los 100 gramos de sedimento se tamizan a través de una columna de tamices para retener en cada uno de ellos las distintas fracciones granulométricas. La columna de tamices (figura 2.6) está formada por tamices con luces de malla de 5, 2, 1, 0'5, 0'25, 0'125, 0'063 milímetros, y tras éstos se coloca un fondo donde se recoge la fracción pelítica.

Mediante este método se pueden discriminar las distintas fracciones granulométricas



Figura 2.6. Batería de tamices.

cuando éstas devienen compuestas mayoritariamente por elementos arenosos y la fracción pelítica es baja (inferior al 5%). La columna de tamices se somete a vibración mediante un agitador mecánico durante 30 minutos, pasados los cuales el contenido de cada tamiz es pesado en una balanza de precisión y luego mediante los porcentajes acumulados de los pesos obtenidos en cada uno de los tamices se obtiene el valor de la mediana. Este valor tipifica el sedimento mediante una aproximación a la escala geométrica de Wenthworth (Buchanann, 1984), así:

- 2> Q<sub>50</sub>> 1 Arena muy gruesa
- $1>Q_{50}>0$ '5 Arena gruesa
- 0'5> Q<sub>50</sub>> 0'25 Arena media
- 0'25> Q<sub>50</sub>> 0'125 Arena fina
- 0'125> Q50> 0'063 Arena muy fina

Las características hidrodinámicas de la zona determinan la heterogeneidad del sedimento. Esta heterogeneidad puede medirse mediante el coeficiente de selección S<sub>0</sub> (S<sub>0</sub>= $\sqrt{Q_{25}/Q_{75}}$ , donde Q<sub>25</sub> y Q<sub>75</sub> son los cuartiles 25 y 75 respectivamente). Así, dependiendo del valor obtenido para S<sub>0</sub> la selección de la muestra será:

S<sub>0</sub>< 1'17 Selección muy buena

1'17< S<sub>0</sub>< 1'20 Selección buena

1'20< So< 1'35 Selección moderadamente buena

1'35< S<sub>0</sub>< 1'87 Selección moderada

1'87< S<sub>0</sub>< 2'75 Selección pobre

2'75< So Selección mala

Un coeficiente de selección bueno acontece en situaciones en las que existe una homogeneidad en el tamaño de grano y un mal coeficiente corresponde a un grano muy diverso.

En aquellas muestras con un contenido en elementos finos superior al 5%, se ha procedido a una variante del método anterior. Para ello, se pesan 100 gramos de sedimento seco y se humedecen durante 24 horas. Posteriormente, el sedimento se pasa por un tamiz de luz de malla 0'063mm de tal forma que se elimina el sedimento inferior a este tamaño, mientras el resto vuelve a ser secado en estufa durante al menos 24 horas y se procede a su paso por la batería de tamices y el agitador mecánico, al igual que en el procedimiento anterior. Mediante los porcentajes acumulados de los pesos obtenidos en cada uno de los tamices más el porcentaje de sedimento eliminado se obtiene el valor de la mediana y se tipifica el sedimento.

### Contenido en materia orgánica

El contenido en materia orgánica particulada (aquella presente en el componente del sedimento con tamaño de grano inferior a 0'5 milímetros) se ha obtenido mediante la calcinación de las muestras. Para el desecado de las muestras se ha utilizado una estufa a 70° C durante al menos 24 horas. De cada una se extrajeron 3 réplicas de 2 gramos de peso seco, que fueron calcinadas mediante horno mufla a 500° C durante 4 horas.

La diferencia entre el peso inicial y el peso de las cenizas resultantes expresado en porcentajes (peso seco libre de cenizas, PSLC) se interpreta como el contenido orgánico del sedimento (Crisp, 1984). La media de los resultados de las tres réplicas se ha considerado como el valor del contenido en materia orgánica del sedimento.

#### 2.1.1.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS

Los datos obtenidos tras la determinación faunística se resumen en una matriz taxónestación. Las distintas especies obtenidas se han unido según sus respectivos grupos taxonómicos:
anélidos, artrópodos, equinodermos, moluscos y otros.

Se ha procedido de igual modo en el estudio de los distintos parámetros físico-químicos medidos en el agua del fondo y el sedimento. En el caso de los metales pesados medidos en el sedimento se ha calculado el índice de geoacumulación (Igeo) para algunos de ellos. Este índice supone una medida relativa de contaminación por metales y compara la concentración de un metal concreto con la concentración que se considera normal para la zona de estudio. Como referencia se han empleado los niveles establecidos por Ruiz (2001) para los estuarios de la costa atlántica andaluza (tabla 2.1). El índice se expresa como:  $I_{geo}$ =  $log_2$  (C<sub>n</sub>/1,5 x B<sub>n</sub>), donde C<sub>n</sub> es la concentración medida y B<sub>n</sub> la concentración de referencia. Los valores del índice se clasifican en cinco grupos: no contaminado ( $I_{geo}$ <1); muy poco contaminado ( $1 < I_{geo} < 2$ ); poco contaminado ( $2 < I_{geo} < 3$ ); contaminación moderada ( $3 < I_{geo} < 4$ ); contaminación alta ( $4 < I_{geo} < 5$ ); y contaminación muy alta ( $I_{geo} > 5$ ).

	Cr	Cu	Zn	Pb
Arenas medias	6	6	6	2
Arenas finas	9	13	16	4
Fangos	21	13	39	15

Tabla 2.1 Valores de referencia de algunos metales para los estuarios de la costa atlántica andaluza (Ruiz, 2001). Concentraciones medidas en mg/kg.

Paralelamente se han relacionado las concentraciones de algunos metales pesados con los valores de calidad del sedimento (SQV, *sediment quality values*) establecidos por National Oceanic and Atmospheric Administration (Long *et al.*, 1995) y por DelValls y Chapman (1998).

El conjunto de datos ha sido sometido a una serie de análisis numéricos, con el objeto de describir e interpretar, en la medida de lo posible, la composición y estructura de la comunidad macrobentónica de sustrato blando de las zonas estudiadas.

#### Análisis descriptivos de la comunidad

Estos análisis pretenden estimar los cambios producidos en un gradiente espacio-temporal en las comunidades. Entre ellos se encuentran: el número de especies, abundancia, diversidad y equitatividad.

Nº de especies: este índice muestra únicamente el número de taxones de un mismo rango (especie) que identificamos en cada punto de muestreo independientemente de la abundancia relativa de cada uno de ellos.

Abundancia: es el número de individuos de un taxón o conjunto de ellos encontrados en un punto o conjunto de puntos de muestreo y se suele expresar como número de individuos por  $m^2$ .

Diversidad: el índice de diversidad utilizado es el de Shannon-Wiener H' (Shannon y Weaver, 1963) con el logaritmo en base e.

El índice se expresa como:

H'= -  $\sum p_i \log_e p_i$ 

donde  $p_i = n_i/N$  y  $n_i$  es el número de individuos de la especie i.

Equitatividad: se expresa como el índice de Pielou (Pielou, 1966). Este índice está determinado por la relación entre la diversidad real (H') y la diversidad máxima (H'<sub>max</sub>). La diversidad máxima se alcanza cuando todas las especies tienen la misma abundancia. H'<sub>max</sub> se puede expresar como el log<sub>e</sub> del número de especies.

La fórmula del índice de equitatividad es:

J'= H'/H'<sub>max</sub>.

### Análisis multivariantes

Los análisis univariantes son especie-independientes, por lo que para una comparación más efectiva entre las estaciones o entre los periodos debemos recurrir a otros que sean especiesdependientes.

Para ello se ha seguido una modificación del esquema propuesto por Clarke (1993):

- Representación de la estructura de la comunidad por medio de análisis de ordenación de las estaciones.
- Análisis de las relaciones entre las variables bióticas y abióticas.

Los distintos análisis han sido realizados por medio de los paquetes estadísticos PRIMER 6 ("Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research"), IBM SPSS Statistics25 y RStudio v. 0.98.953.

Índice de similaridad de Bray-Curtis: la finalidad de este índice (Bray y Curtis, 1957) es analizar las afinidades entre las distintas estaciones o periodos de muestreo. Los datos se transforman mediante la raíz cuarta ( $\sqrt[4]{x}$ ) (Clarke y Warwick, 1994), con objeto de mitigar el efecto sobre la similaridad de las especies más abundantes, de modo que las menos abundantes contribuyan en mayor medida a esta similaridad.

La fórmula del índice de similaridad de Bray-Curtis es la siguiente:

 $S_{jk} = 100 (1 - \Sigma_{i=1}^{p} |y_{ij}-y_{ik}| / \Sigma_{i=1}^{p} |y_{ij}+y_{ik}|)$ 

donde:

 $S_{jk}$  es la similaridad entre las muestras j y k

y<sub>ij</sub> es el valor de la especie i en la muestra j

y<sub>ik</sub> es el valor de la especie i en la muestra k

El valor de la similaridad varía entre 0 y 100, dependiendo de si las muestras comparadas no tienen ninguna especie en común (0), o bien cuando todos los valores para todas las especies son idénticos en ambas muestras (100).

PERMANOVA: Las diferencias entre las comunidades de las áreas de estudio en los distintos meses de muestreo se analizarán mediante un análisis de ANOVA multivariante por permutaciones o PERMANOVA (Anderson, 2001). Se ha realizado mediante un diseño de dos factores: Zona (6 niveles, fijo) y Año (5 niveles, fijo). Las diferencias entre áreas de muestreo en los distintos meses con respecto a la diversidad, riqueza de especies y la abundancia fueron analizadas mediante un análisis univariante PERMANOVA.

Análisis de ordenación MDS (*Non-metric Multidimensional Scaling*): representa la estructura biológica en un espacio multidimensional, de forma que la distancia entre dos puntos de muestreo o periodo es proporcional a la similaridad en la composición de sus comunidades de acuerdo con el índice de Bray-Curtis.

La ordenación resultante puede ser contrastada mediante el coeficiente de estrés de Kruskal (Kruskal y Wish, 1978). Valores de este coeficiente por debajo de 0,1 indican que se puede realizar una interpretación fiable de la representación gráfica de la disposición de las estaciones estudiadas. Por el contrario, los situados por encima de 0,3 sugieren que dicha disposición es arbitraria (Clarke y Warwick, 1994).

Análisis de componentes principales (PCA, *Principal Component Analysis*): se basa en técnicas de análisis multidimensional. En este caso, se representa una ordenación de las estaciones de muestreo de acuerdo con su semejanza físico-química. En este análisis, basado en distancias euclídeas, es un método de reducción de la dimensionalidad de tal forma que cada eje o componente principal absorbe parte de la varianza que explica la distribución de las estaciones. Cada eje está influido por uno o varios parámetros que son los responsables de la separación o semejanza de las estaciones, de tal forma que, a mayor varianza absorbida por cada eje, más diferencias marca entre los distintos puntos. Para determinar qué parámetros influyen sobre cada eje se calculan las correlaciones de los diversos parámetros con los ejes (*eigenvectors*), siendo aquellos que muestren las mayores correlaciones (tanto negativas como positivas, indicando este signo únicamente la dirección del gradiente, es decir, signo negativo hacia la izquierda y positivo a la derecha) quienes explican la varianza absorbida por el eje.

Con el objeto de poder establecer comparaciones entre parámetros con distintas unidades

de medida se somete a la matriz a una estandarización previa mediante la siguiente fórmula:

 $b = (X_{ij} - X_i)/S_i$ 

donde, b es el valor que va a tomar cada parámetro en cada punto de muestreo una vez estandarizado;  $X_{ij}$  es el valor de la media de los resultados obtenidos para cada parámetro;  $X_i$  es el valor obtenido en cada punto y  $S_i$  es el valor de la desviación típica de cada parámetro.

Análisis CCA (análisis de correspondencias canónicas): este análisis se utiliza para el estudio de la relación existente entre las comunidades encontradas en los puntos de muestreo y las variables abióticas.

Consiste en la comparación de la ordenación de las estaciones de muestreo a partir de las variables bióticas y abióticas por separado; de tal modo que se puede establecer qué variables ambientales de las estudiadas favorecen la máxima correlación entre las dos configuraciones.

### Indicadores de los elementos de calidad biológicos

De acuerdo con las premisas establecidas en la Ley 62/2003, de 30 de diciembre que incluye –art. 129- la Modificación del Texto Refundido de la Ley de Aguas, aprobado por el Real Decreto Legislativo 1/2001, de 20 de julio, por la que se incorpora al derecho español la Directiva 2000/60/CE (Directiva Marco del Agua, DMA), el estado de las masas de aguas, tanto de transición como costeras, se han de clasificar a partir de su estado ecológico y químico. Para el presente estudio se han elegido los dos índices que nos ofrecen mayor información: BENFES y M-AMBI.

#### M-AMBI (Multivariate AZTI Marine Biotic Index)

El índice AMBI, propuesto por Borja *et al.* (2000), se conoce como coeficiente biótico (BC) y es el producto de clasificar a las distintas especies en 5 grupos según su sensibilidad a un aumento de estrés ambiental. Estos grupos fueron definidos previamente por Grall y Glémarec (1997). Los creadores de AMBI ofrecen una lista actualizada con la asignación de las distintas especies a un grupo determinado, si bien también permiten la asignación a un grupo en función de la propia experiencia del investigador. La lista utilizada como base para la elaboración del índice ha sido la de junio de 2017. Los grupos van de G<sub>I</sub> a G<sub>V</sub> de forma que el grupo G<sub>I</sub> es el que incluye a especies muy sensibles y el grupo G<sub>V</sub> a especies oportunistas.

Así, el índice biótico (BC) sería:

$$BC = \left(\frac{(0x\%GI) + (1,5x\%GII) + (3x\%GIII) + (4,5x\%GIV) + (6x\%GV)}{100}\right)$$

El análisis M-AMBI es un análisis factorial que combina AMBI con la diversidad (Shannon con el logaritmo en base 2) y el número de especies y que requiere la definición previa de unas condiciones de referencia para estas tres variables. Para nuestro estudio estas condiciones se establecen de la siguiente manera (tabla 2.2):

Las condiciones de referencia utilizadas en este estudio se basan en los datos obtenidos en estudios previos realizados en el estuario del río Guadiana.

	Estado	Diversidad	Riqueza	Valor
	ecológico	(Shannon)	(nº de especies)	AMBI
	Malo	0,0	0	6
Oligohalino	Alto	2,4	15	2,9
Mesohalino	Alto	2,7	18	2,5
Polihalino	Alto	3,0	25	2,1
Euhalino (Desembocadura)	Alto	3,8	35	1,3
Área marina (10m)	Alto	4,0	50	1,3
Área marina (20m)	Alto	4,2	60	1,3

Tabla 2.2. Condiciones de referencia de las distintas zonas para aplicar el índice M-AMBI.

Los valores obtenidos para AMBI y M-AMBI pueden ser utilizados para establecer el estado ecológico de la zona de estudio según la tabla 2.3.

AMBI	M-AMBI	Estado ecológico
0 - 1,2	>0,77	Alto
1,2 - 3,3	0,53-0,77	Bueno
3,3 - 4,3	0,39-0,53	Moderado
4,3 - 5,5	0,2-0,39	Pobre
> 5,5	<0,20	Malo

Tabla 2.3. Estado ecológico según AMBI y M-AMBI.

rden	Familia	CATEGORIA
		-
chaeta	Oligochaeta	1
hiannelida	Saccocirridae	5
apitellida	Capitellidae	2
ossurida	Maldanidae	5
	Lumbrineridae	4
unicida	Onuphidae	5
Opheliida	Opheliidae	5
Drbiniida	Paraonidae	5
	Glyceridae	4
	Hesionidae	3
	Nephtydae	4
byllodocida	Phyllodocidae	3
nynodocidd	Pilargidae	3
	Polynoidae	4
iabellida ipionida <sup>-</sup> erebellida opoda	Sigalionidae	4
	Syllidae	4
abellida	Oweniidae	4
	Sabellidae	4
Iida   Digochaeta   Archiannelida   Capitellida   Cossurida   Sunicida   Deheliida   Dyheliida   Phyllodocida   Spionida   Preebellida   Opoda   Cumacea   Decapoda   Decapoda	Chaetopteridae	5
ьноша	Magelonidae	5
pionida erebellida opoda	Ampharotidae	3 4
pionida ierebellida opoda	Cirratulidae	2
	Flabelligeridae	5
	Pectinariidae	2
	Terebellidae	5
ropoda		
	Ampeliscidae	5
	Aoridae	5
	Atylidae	5
	Bathyporeiidae	5
	Cantophuae	5
	Corophiidae	3
	Haustoriidae	5
Amphipoda	Iphimediidae	5
	Leucothoidae	5
	Lysianassidae	5
	Melitidae	5
	Oedicerotidae	4
	Photidae	5
	Phonotephalitae	5
	Bodotriidae	4
	Diastylidae	4
imacea	Leuconidae	5
	Pseudocumatidae	4
	Alpheidae	4
	Carcinidae	3
	Crangonidae	5
	Diogenidae	4
ecapoda	Ogyrididae	5
	Palaemonidae	5
	Pinnothoridae	4
	Polyhiidae	<u>∠</u> 5
	Upogebiidae	4
	Chironomidae	3
isecta	Chironomidae Dolichopodidae	2
secta	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae	2
isecta	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae	2 3 5
onoda	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae	2 3 5 5
sopoda	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae	2 3 5 5 5 5
opoda	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munnidae	2 3 5 5 5 4
opoda	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae	2 3 5 5 5 4 3
opoda •ptostraca	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae	3 2 3 5 5 5 4 3 1
opoda ptostraca tysida	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae Mysidae	2 3 5 5 4 3 1 4
opoda optostraca lysida essilia	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae Mysidae Balanidae Squillidao	2 3 5 5 4 3 1 4 4 4 4
secta ppoda ptostraca /sida ssilia pmatopoda	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munidae Sphaeromatidae Mebaliidae Mysidae Balanidae Squillidae Tanaidaroo	2 3 5 5 4 3 1 4 4 4 4 5 3
eptostraca Aysida essilia tomatopoda ianaidacea	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munidae Sphaeromatidae Nebaliidae Mysidae Balanidae Squillidae Tanaidacea Lentocheliidae	3 2 3 5 5 4 3 1 4 4 4 5 3 3 3

Tabla 2.4. Categorías de las especies/familias del índice BENFES.

### **BENFES** (Benthic Families Ecological Status Index)

Este índice, desarrollado por el Laboratorio de Biología Marina de la Universidad de Sevilla (Sánchez-Moyano *et al.*, 2017), se basa en el índice IBMWP (Alba-Tecedor y Sánchez-Ortega, 1988) que a su vez se basa en el descrito por Hellawell en 1978. Sólo requiere identificación de los individuos encontrados a nivel de familia, y únicamente se valora la presencia-ausencia de la misma, no su abundancia.

El valor del índice se obtiene por la suma de puntuación correspondiente a cada familia que habita en el área de estudio. Alba-Tecedor y Sánchez-Ortega (1988) estableció una tabla con las puntuaciones de las distintas familias de macroinvertebrados encontradas para los ríos españoles en función de su sensibilidad a perturbaciones. La puntuación oscila de 1 a 10, siendo 10 asignado para aquellas familias más sensibles. En nuestro caso, hemos reducido la escala numérica de 1 a 5 con el objeto de limitar el error de asignar equivocadamente una puntuación. La asignación a cada familia se ha establecido según la sensibilidad de las especies encontradas teniendo en cuenta los grupos establecidos en el índice AMBI y nuestra propia experiencia en los casos de especies no asignadas o discrepancias con las categorías de AMBI. En la tabla 2.4 se recogen los valores asignados a cada especie/familia según el índice BENFES. El resultado del índice se obtiene por la suma de las puntuaciones asignadas a cada familia en cada punto.

Los resultados obtenidos se comparan con los valores de referencia (tabla 2.5), obteniendo así el estado ecológico (EQS) de la zona de estudio. En el caso de las zonas oligohalina y mesohalina, por su propia naturaleza, los valores de referencia del índice BENFES son diferentes al de resto de zonas.

Clase	BENFES	BENFES OM	Significado	Estado ecológico
Ι	> 100	> 70	Áreas inalteradas	Alto
II	61-99	43-70	Áreas poco alteradas o son evidentes algunos efectos de contaminación	Bueno
III	36-60	25-42	Aguas alteradas	Moderado
IV	15-35	10-24	Aguas muy alteradas	Pobre
V	< 15	< 10	Aguas fuertemente alteradas	Malo

Tabla 2.5. Estado ecológico según el índice BENFES. BENFES OM: Valores de referencia del índice BENFES para las zonas oligohalina y mesohalina.

# 2.1.2.5. RESULTADOS DEL SEGUIMIENTO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR 2019

En el muestreo de seguimiento de las comunidades macrobentónicas del estuario del Guadalquivir, las variables fisicoquímicas de la columna de agua se muestran en la figura 2.7. El resto de resultados se proveerán en posteriores informes debido al tiempo que requiere el procesado de las muestras bentónicas, tanto el cribado como su identificación y al retraso de los análisis realizados en laboratorios externos al LBM. Los resultados derivados de la identificación de los individuos como los índices BENFES Y M-AMBI se proporcionarán en informes futuros.

La mayoría de las variables medidas mostraron un gradiente desde el interior del estuario más influenciadas por los aportes del río, hacia el exterior influenciadas por el ambiente marino. Estos gradientes son una característica normal en los estuarios templados y suelen mostrar una gran variabilidad temporal a pequeña y gran escala, desde variaciones diarias debido a la acción de las mareas como a variaciones estacionales. Uno de los gradientes principales que se forman en los estuarios es el de la salinidad por la contraposición de la influencia marina con la del agua dulce. Los resultados mostraron un gradiente desde las estaciones más altas de los Yesos con valores de 10 psu hasta la Broa Exterior con valores de más de 35 lo que se puede considerar ambiente marino. En esta ocasión no se detectó ningún gradiente en profundidad.

La temperatura mostró valores más bajos en las estaciones situadas en el exterior del estuario con una ligera estratificación en profundidad en los puntos de muestreo de la Broa exterior e interior donde el agua más profunda mostraba temperaturas más bajas debido a su mayor densidad. En el interior del estuario la temperatura fue más alta por el confinamiento de las aguas y por poseer mayor turbidez que favorece el calentamiento de la masa de agua.









21



Figura 2.7. Continuación: Perfiles de las distintas variables fisicoquímicas medidas en la columna de agua a lo largo de todo el estuario desde la Broa exterior hasta los Yesos.

La turbidez también mostró un gradiente ascendente desde las estaciones situadas en la desembocadura hacia el interior del estuario, mostrando los valores más altos en el fondo de la columna de agua en las estaciones del Yeso, con valores sobre los 700 NTU. En las estaciones de la Broa los valores de turbidez estaban por debajo de 20 NTU. En la estación de Puntalete se detectó también un incremento en la turbidez del fondo de la columna de agua.

Sin embargo, para la concentración de oxígeno disuelto no se encontró ese gradiente. Las estaciones de Bonanza y Salinas mostraron las menores concentraciones de oxígeno disuelto en el fondo de la columna de agua que se vio incrementada hacia las estaciones exteriores de la Broa, pero también hacia la estación de los Yesos donde encontramos una columna de agua ligeramente estratificada. Aun así, las concentraciones de oxigeno nunca se acercaron a los límites de hipoxia en ninguna estación.

La concentración de clorofila tampoco mostro un gradiente claro en el estuario, la estación con mayor concentración se encontró en los Yesos seguida por Puntalete y los Esparraguera. Esta concentración se redujo hacia las estaciones de Bonanza donde encontramos los valores con menor concentración. Además, la mayor concentración de clorofila se encontró en el fondo de la columna de agua lo que podría indicar que los organismos fotosintéticos podrían quedar atrapados en las zonas de mayor turbidez formando flóculos que por su mayor densidad se depositarían en el fondo de la columna de agua. El origen de estos organismos probablemente sería en la zona intermareal de las orillas (microfitobentos) donde la alta turbidez del estuario no limita la fotosíntesis.

En cuanto al potencial de óxido reducción los resultaros mostraron un claro parcheado a lo largo de todas las estaciones de muestreo, con los valores más negativos en los Yesos y más positivos en la zona de Bonanza y la Broa. Los resultados mostraron una alta variabilidad incluso entre los distintos puntos de muestreo dentro de cada zona, por lo que este patrón irregular muestra que el estuario estaría compuesto por un parcheado de sedimentos de distinta composición. La variación anual que se observa entre los distintos periodos muestreados indica que la dinámica sedimentaria del estuario es muy variable probablemente debido a la influencia de la acción hidrodinámica por parte de las corrientes de marea, temporales, descarga de agua de la presa de Alcalá del Río entre otros factores.

	Profundidad	Ptencial Redox (mv)
Yesos 1	7.7	-106
Yesos 2	8	-73
Yesos 3	5.5	130
Esparraguera	7	-246
Esparraguera	6.4	-123
Esparraguera	5.3	101
Puntalete 1	4	-22
Puntalete 2	6	137
Puntalete 3	4.5	-14
Salinas 1	4.8	-35
Salinas 2	5.1	9
Salinas 3	5.2	-69
Bonanza 1	6.6	236
Bonanza 2	6.2	212
Bonanza 3	5.8	-75
Broa Int3		-129
Broa Int2		275
Broa Int1		57
Broa Ext1	10.9	-90
Broa Ext2	10.9	97
Broa Ext3	9.7	122

Tabla 2.6. Resultados de potencial Redox y profundidad de las estaciones muestreadas durante el seguimiento de bentos de 2019.

### 2.1.2. EFECTO DE LOS DRAGADOS DE MANTENIMIENTO DE 2019

Debido a la dinámica sedimentaria del estuario del Guadalquivir, como consecuencia de las lluvias y desembalses llevados a cabo desde la presa de Alcalá del Río y las dinámicas mareales, es necesario realizar dragados de mantenimiento en ciertos tramos del canal de navegación del estuario desde Sanlúcar de Barrameda hasta la esclusa de Sevilla. Con objeto de restaurar las condiciones de seguridad de navegación en septiembre y octubre de 2019 se realizaron trabajos de dragados de mantenimiento (figura 2.8).

En estudios anteriores realizados en el estuario del Guadalquivir se han evaluado los



Figura 2.8. Tramos usualmente dragados por la Autoridad Portuaria de Sevilla en la parte baja del estuario del Guadalquivir.

impactos de los dragados de mantenimiento llevados a cabo en 2013 y 2015 sobre las comunidades bentónicas. Estos estudios analizaban los efectos de los dragados en varias zonas del canal de navegación en distintos rangos de salinidad. Además, se analizaron los efectos indirectos sobre zonas cercanas más someras. Los resultados generales indicaron una baja afección en las zonas del canal donde se extrajo sedimento y una ausencia de cualquier señal de perturbación indirecta en las orillas. Los resultados también mostraron una recuperación en términos de diversidad y riqueza a niveles pre operacionales un año después de que se efectuaran las obras de dragado de 2015. Tampoco se pudo determinar que los dragados de mantenimiento de 2015 hubiesen tenido un efecto sobre las redes tróficas del sistema. Por último, estos estudios, además del proceso de seguimiento de las comunidades bentónicas desde 2015, han demostrado el pobre estado ecológico en el que se encuentran sus comunidades en comparación con otros estuarios del Golfo de Cádiz como el Tinto-Odiel y el Guadiana, principalmente en las zonas interiores del estuario, mejorando su estado en las zonas más próximas a la desembocadura. En

dichos estudios se recomienda establecer los programas de monitorización en las zonas más cercanas a la desembocadura (Donázar-Aramendía et al., 2018).



Figura 2.9. Draga Dravo Costa Dourada empleada en los dragados de mantenimiento.

Sin embargo, no se obtuvieron datos de los procesos ecológicos desarrollados en el ecosistema a corto plazo. Solamente con experimentos repetidos cubriendo a diferentes escalas espaciales y temporales se pude realmente evaluar todo el alcance del efecto de una perturbación (Carvalho et al., 2013; Thrush et al., 2000). Además, aunque no se obtuvieron datos que pudiesen apuntar a un efecto de los dragados de mantenimiento sobre las redes tróficas, los estudios sobre las comunidades macrobentónicas con distintas tasas metabólicas pueden ser útiles para detectar posibles influencias a distintas escalas temporales sobre las redes tróficas (Van De Merwe et al., 2016)

En este sentido bajo el desarrollo del contrato "Establecimiento de series temporales largas (Bentos, Zooplancton e Ictioplancton) y de sus implicaciones en la gestión y mejora del estuario, así como de su integración en los objetivos de la FWE y de la MSFD y Estudios BACI ("Before After Control Impact") de los dragados de mantenimiento a realizar durante la campaña 2019" se pretende evaluar los impactos provocados por los dragados a corto plazo y monitorizar los procesos de recuperación que ocurren inmediatamente después. Además, se pretende usar dos organismos con distintas tasas metabólicas para evaluar su uso como bioindicadores de los efectos de los dragados en los procesos tróficos y la liberación de materia orgánica atrapada en el sedimento.

Para evaluar el impacto a corto plazo de los dragados de mantenimiento sobre las comunidades bentónicas se seleccionó el tramo de Salinas debido a su localización en la zona más sensible del curso bajo del estuario y donde, se ha visto que los estudios para evaluar perturbaciones antrópicas puede ser más relevante (Donázar-Aramendía et al., 2018).

Para detectar un posible impacto sobre las comunidades bentónicas se ha planteado un diseño experimental BACI (Before After Control Impact) de acuerdo con las premisas establecidas por Underwood (1994). Consiste en una metodología estadística muy robusta que permite la comparación entre zonas control e impactadas antes y después de una intervención humana en el medio. La asunción de este método es que la zona impactada debería comportarse igual que la zona control en ausencia de perturbación (Underwood, 1994). Por tanto, una perturbación acaecida en el medio podría ser inferida si los cambios que se produzcan en la zona impactada son diferentes de los producidos en las áreas de control. De acuerdo con este diseño BACI, si las operaciones de dragado tuvieran un impacto sobre las comunidades bentónicas, otros parámetros del sedimento o sobre la columna de agua, la zona de dragado cambiaría a lo largo de los meses de manera diferente a las zonas control. Esto sería detectado estadísticamente por una interacción significativa del factor tiempo (antes y después de los dragados) y el factor Impacto (zona de dragado y zonas control) (Underwood, 1992).

En este sentido se establecieron tres áreas de muestreo; una en la zona del canal de navegación de Salinas donde se realizaron obras de dragado y otras dos zonas control aguas arriba y debajo de la zona dragadas alejadas suficientemente para no verse influidas por los efectos de los dragados. Siguiendo la metodología del análisis BACI, se realizaron 5 campañas de muestreo; dos antes de los eventos de dragado (16/10/2019 y 22/10/2019) y tres más después de estos, (09/11/2019, 19/11/2019 y 07/01/2020). En cada una de las áreas de muestres se establecieron tres puntos donde se tomaron muestras de la comunidad biológica y de las características fisicoquímicas del sedimento y de la columna de agua siguiendo la metodología descrita en el apartado de seguimiento (figura 2.10).



Figura 2.10. Estaciones de muestreo en el tramo de Salinas para el análisis BACI para evaluar los impactos de los dragados de mantenimiento.

### 2.1.2.1. ANÁLISIS DE ISÓTOPOS METALES Y NUTRIENTES.

Los análisis de isótopos estables son hoy en día una de las principales vías de estudio de las redes tróficas, ya que son particularmente útiles proporcionando información espacio temporal de las relaciones tróficas de los organismos. Los dos elementos más usados en este tipo de estudios son el nitrógeno y el carbono. Los ratios del isótopo de carbono 13 frente al 12 ( $\delta^{13}$ C) varían sustancialmente entre los productores primarios con diferentes rutas fotosintéticas (C3 frente a C4) pero cambian poco en la transferencia trófica. Por lo tanto, el  $\delta^{13}$ C puede ser utilizado para determinar el origen de la materia orgánica que entra en las redes tróficas. Por otro lado, el uso del isótopo de N también ha sido ampliamente utilizado para determinar contaminación por nitratos en sistemas acuáticos. Su uso se basa en la integración de dicho isótopo en el ciclo natural del N<sub>2</sub> que incluye la amonificación inicial del nitrógeno como los procesos de fraccionamiento isotópico en los transportes o transformaciones químicas. En los sistemas acuáticos, las composiciones isotópicas se mantienen y fluyen libremente lo que hace que el uso del  $\delta^{15}$ N sea una herramienta muy útil como trazador de contaminación antropogénica ayudando a distinguir su origen (Deniro and Epstein, 1981, 1978).

En este sentido, en las campañas del 16/10/2019 y del 19/11/2019 se tomaron muestras biológicas para su caracterización con isótopos estables. Los organismos seleccionados fueron,

por un lado, copépodos como especies con alta tasa de renovación y otra especie con una tasa metabólica menor, el gobio *Pomatochistus sp*. El muestreo se realizó con red de plancton con luz de malla de 200 µm para la fauna de la masa de agua. Paralelamente, se tomaron muestras de agua mediante botella oceanográfica Niskin para obtener la materia orgánica en suspensión (POM). La fauna fue mantenida viva en botes individuales por especie, en la medida de lo posible, hasta su traslado al laboratorio. Posteriormente, cada especie fue seleccionada, limpiada en agua destilada y almacenada en botes individuales que se introdujeron en una estufa a 60°C. El agua fue filtrada a través de un filtro Whattman (GF/F) previamente combustionado a 500°C para retener la materia en suspensión. Los botes de fauna, filtros y muestras de sedimento fueron posteriormente secados en estufa a 60°C antes de aplicar los análisis de isotopos estables de C y N. El agua filtrada a través de los filtros Whatman fue utilizada para analizar la cantidad de nutrientes y metales pesados disueltos en agua

# 2.1.2.2. RESULTADOS DEL IMPACTO DE LOS DRAGADOS DE MANTENIMIENTO DE 2019 SOBRE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR.

La figura 2.11 muestra los valores de los distintos parámetros fisicoquímicos medidos en la columna de agua en la sección del tramo de Salinas desde el Control 1 (aguas arriba) hasta el control 2 (aguas abajo) pasando por el tramo dragado en todos los periodos de muestreo pre y post operacionales.



Figura 2.11. Perfiles de la columna de agua en los cinco periodos de muestreo a lo largo de la zona muestreada desde el Control 2 (izquierda) hasta el Control 1 (derecha) pasando por la zona de dragado (centro). Concentración de clorofila (µg/L).



Figura 2.11 continuación. Salinidad (psu) y concentración de oxígeno (mg/L) .

Los resultados muestran que en todos los periodos de muestreo existe un gradiente desde la zona más interna del estuario hacia la zona más externa para la mayoría de las variables medidas. No se detectó ninguna perturbación en las distintas variables fisicoquímicas de la columna de agua debido a los dragados de mantenimiento. Si los dragados hubiesen tenido un efecto en alguna de estas variables se debería haber detectado un patrón diferente en las estaciones muestreadas dentro del área de dragado (centro del gráfico) con respecto a los controles (extremos del gráfico). Los patrones de cambio observados entre los distintos periodos de muestreo parecen estar más relacionados con los movimientos que se producen en la columna de agua debido a las dinámicas mareales, lo que se ve reflejado en las variaciones del parámetro de la salinidad. La temperatura mostró un patrón esperable con valores más bajos en los periodos más cercanos al invierno.



En el último periodo de muestreo (post-dragado 3), la salinidad mostro unos valores particularmente bajos sobre todo en la zona del Control 1. Los cambios en la salinidad y temperatura en los gradientes estuarinos pueden afectar a las comunidades betónicas por estrés fisiológico (Gomes and Bernardino, 2020). En el último periodo de muestreo también se detectaron las concentraciones más elevadas de turbidez (> 5000 NTU, por encima del límite de detección del sensor) y los valores más bajos en concentración de oxígeno de todo el estudio. Estos valores están relacionados con los eventos de desembalse de agua dulce cargada de sólidos en suspensión desde la presa de Alcalá del Río. De hecho, la figura 2.12 muestra los desembalses producidos desde la presa del Alcalá en el periodo cuando se realizaron los muestreos. Se observa que previamente al último muestreo hubo un desembalse de un caudal superior a 1100 m<sup>3</sup>/s que explicaría los patrones encontrados en las variables fisicoquímicas de la columna de agua.



Figura 2.12 Caudal desembalsado  $(m^3/s)$  en el periodo de estudio.

La mayor concentración de materia orgánica en el agua pudo explicar los valores más bajos en concentración de oxígeno con respecto a los otros periodos de muestreo. Las consecuencias de un desembalse de agua puntual desde la presa que no se transporta por completo fuera del estuario se están estudiando en la actualidad, ya que pueden suponer un efecto a largo plazo sobre las comunidades biológicas del estuario. Los resultados también mostraron que los valores más altos de concentración de clorofila en el primer periodo de muestreo (pre-dragado 1) y en el último periodo (post-dragado 3), donde también se detectaron los valores más elevados de turbidez. Estos dos parámetros suelen presentar concentraciones muy correlacionadas en el Guadalquivir debido a que los valores altos de turbidez se encuentran en zonas con altas concentraciones de partículas y la clorofila suele ser un componente de ellas. La clorofila encontrada en el primer muestreo puede tener su origen en las algas bentónicas de las riveras del estuario, el microfitobentos, que con las dinámicas de corrientes se vería arrastrado a la columna de agua y podría suponer un elemento fundamental para las redes tróficas del sistema (David et al., 2016; Donázar-Aramendía et al., 2019).



Figura 2.13. Porcentaje de finos encontrados en las distintas estaciones y campañas de muestreo.

Los resultados de la granulometría del sedimento mostraron que la zona control 2 más hacia la desembocadura del estuario mostraba un mayor porcentaje de partículas finas del sedimento con respecto a la zona de dragado y el control 1 aguas arriba (figura 2.13). Estas dos últimas zonas presentaron mayor porcentaje de arenas. No se detectó un efecto de las operaciones de dragado en las características granulométricas del sedimento. Algunos de los valores con un porcentaje de finos más altos en algunas zonas (arriba 3) que se encontraron en el último muestreo podrían explicarse por la deposición de material fino procedente del desembalse desde la presa de Alcalá del río, pero no se encontró un patrón generalizado en todas las áreas muestreadas.



Figura 2.14. nMDS de las estaciones de muestreo de las zonas de dragado y de las zonas control aguas arriba (Arriba) y aguas abajo (Abajo) antes y después de los dragados de mantenimiento.

	df	MS	Pseudo-F	р
Impact vs Control	1	9996.7	0.46651	0.8353
Time	1	832.29	0.34289	0.9545
Site(Impact vs Control)	1	23762	12.756	0.0114
Date(Time)	3	4460.6	2.3945	0.1117
Impact vs ControlxTime	1	1907.2	0.7452	0.7042
Impact vs ControlxDate(Time)	3	1659.6	0.89089	0.6169
TimexSite(Impact vs Control)	1	3399.4	1.8249	0.1774
Site(Impact vs Control)xDate(Time)	3	1862.8	1.1864	0.256
Res	30	1570.1		
Total	44			

#### Tabla 2.6 Resultados del análisis PERMANOVA.

Los resultados del análisis de la comunidad bentónica mostraron que esta presentaba diferencias entre las distintas zonas muestreadas, pero no se encontraron patrones diferentes en la variación temporal a lo largo del estudio. La PERMANOVA (tabla 2.6) no mostró una interacción significativa entre los factores de "impacto vs control" con el "tiempo" por lo que no pudo detectarse un impacto debido a las obras de dragado realizadas en el periodo de estudio. El nMDS (figura 2.14) mostró ciertas diferencias entre las estaciones del segundo control (Abajo) y las zonas de dragado y del control 1 (Arriba) en todos los periodos de muestreo excepto en el post dragado 3. En este último muestreo se observa una tendencia diferente al resto que podría ser explicada por el efecto del desembalse de la presa. El cambio repentino de los diferentes parámetros fisicoquímicos de la columna de agua (tubidez, oxígeno, salinidad, etc), así como de otros factores físicos podrían haber afectado a la comunidad bentónica de una forma más significativa que las obras de dragado.

Las variaciones temporales de los índices univariantes de las distintas zonas de muestreo se reflejan en la figura (2.15). Se observó una riqueza (S) y diversidad de Shannon (H') de especies mayor en las zonas control de aguas abajo más cercana a la desembocadura con mayor influencia marina. Estos resultados se corresponden con la normalidad observada en los otros estudios de seguimiento temporal realizados en el estuario del Guadalquivir. Los resultados no reflejaron ningún impacto a corto plazo debido a las operaciones de dragado en esta zona en ninguno de estos dos índices. Por el contrario, se detectó un aumento en la abundancia total de los organismos en las estaciones control en el muestreo posterior a las operaciones de dragado que no fue observado en la zona de dragado. Sin embargo, no se detectaron interacciones significativas que pudieran indicar una afección causada por las operaciones de dragado. Por último, se observó una disminución en la abundancia total de los organismos en todas las estaciones en el último periodo de muestreo probablemente explicado por la apertura de la presa, aunque no se puede descartar un efecto debido a la variación temporal natural del sistema.



Figura 2.15. Resultados de la variación temporal en los índices de Riqueza (S), Abundancia total (N) y Diversidad de Shannon (H') en las estaciones de muestreo.

# 2.1.3. RESULTADOS CIENTÍFICOS EN FORMA DE PUBLICACIÓN EN REVISTAS INTERNACIONALES.

A continuación, se presenta el resumen del artículo científico "Environmental consequences of dredged-material disposal in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain", publicado en diciembre de 2020 en la revista internacional del "Journal Citation Report" "Marine Pollution Bulletin" que se encuentra en la cuarta posición de las 107 revistas de la categoría científica "Marine & Freshwater Biology". Esta publicación ha sido el resultado de la evaluación de los impactos de los dragados de mantenimiento de 2015 en el vaciadero marino:

En este estudio se evalúan los posibles impactos de la deposición recurrente de material dragado del estuario del Guadalquivir en un vaciadero marino. A su vez, se analizan cambios en las características del sedimento, así como en procesos de bioacumulación y biomagnificación de metales pesados a través de la red trófica bentónica. Los resultados obtenidos mostraron que las deposiciones de material dragado procedente del Guadalquivir han cambiado permanentemente la granulometría del vaciadero marino hacia un sedimento de mayor tamaño. Esta característica ha permitido que se desarrolle una comunidad de macrofauna diferente, pero más ricas y diversa que las zonas control situadas a varias millas de distancia (Trabajo de 2018). La deposición de material dragado realizada en 2015 tuvo como consecuencia un aumento significativo en la concentración de algunos metales pesados en el vaciadero marino que permaneció a los mismos niveles un año después del vertido. Este aumento podría explicar la menor supervivencia de los anfípodos sometidos a la influencia del sedimento proveniente del vaciadero marino un mes después de la deposición de material en el análisis ecotoxicológico. Sin embargo, este mismo análisis no mostró diferencias en la supervivencia de los anfípodos un año después del vertido. Por otro lado, la concentración de metales pesados y materia orgánica encontrada en la zona del vaciadero marino siempre fue menor que la encontrada en las zonas control (excepto para el cadmio). Esto puede explicarse debido a la granulometría de las zonas control que está compuesta de partículas más finas que muestran más afinidad para los metales pesados y materia orgánica. Aun así, la concentración de metales pesados se clasificó como no contaminado o muy poco contaminado según el índice de geoacumulación en todas las áreas de muestreo durante todo el periodo de estudio. Además, los patrones de bioacumulación y biomagnificacion encontrados en organismos detritívoros y depredadores en toda el área de estudio parecen estar más relacionados con el efecto de la descarga natural de sedimento procedentes del Guadalquivir al Golfo de Cádiz que con los dragados de mantenimiento. Nuestra recomendación es espaciar los eventos de deposición lo máximo posible para que las perturbaciones repetidas en el tiempo no supongan cambios permanentes para las zonas de vertido.

# 2.2 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alba-Tecedor, J. y Sánchez-Ortega, A. 1988. Un método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas corriente basado en el de Hellawell (1978). Limmnetica, 4: 51-56.

Bray, R.J. y Curtis, J.I. 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. Ecological Monographs, 27: 325-349

Buchanan, J.B. 1984. Sediment analysis. En: Holme, N.A. & McIntyre, A.D. (Eds.). IBP Handbook, nº 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. 387 pp

Buchanan, J.B. 1984. Sediment analysis. En: Holme, N.A. & McIntyre, A.D. (Eds.). IBP Handbook, n° 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. 387 pp

Carvalho, S., Constantino, R., Cerqueira, M., Pereira, F., Subida, M.D., Drake, P., Gaspar, M.B., 2013. Short-term impact of bait digging on intertidal macrobenthic assemblages of two south Iberian Atlantic systems. Estuar. Coast. Shelf Sci. 132, 65–76. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.06.017

Clarke, K.R. y Ainsworth, M. 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. Marine Ecology Progress Series, 92: 205-219.

Clarke, K.R. y Ainsworth, M. 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. Marine Ecology Progress Series, 92: 205-219.

Clarke, K.R., Warwick, R.M. 1994. Change in Marine Communities: An approach to Statistical Analysis and Interpretation. PRIMER-E, Plymouth, UK. 172 pp.

Crisp, D.J. 1984. Energy flow measurements. En: Holme, N.A. & McIntyre, A.D. (Eds.). IBP Handbook, n° 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. 387 pp.

David, V., Selleslagh, J., Nowaczyk, A., Dubois, S., Bachelet, G., Blanchet, H., Gouillieux, B., Lavesque, N., Leconte, M., Savoye, N., Sautour, B., Lobry, J., 2016. Estuarine habitats structure zooplankton communities: Implications for the pelagic trophic pathways. Estuar. Coast. Shelf Sci. 179, 99–111. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.01.022

Deniro, M.J., Epstein, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. Geochim. Cosmochim. Acta 42, 495–506.

Deniro, M.J., Epstein, S., 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. Geochim. Cosmochim. Acta 45, 341–351. https://doi.org/10.1016/0016-7037(81)90244-1

Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2019. Human pressures on two estuaries of the Iberian Peninsula are reflected in food web structure. Sci. Rep. 9, 11495. https://doi.org/10.1038/s41598-019-47793-2

Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018. Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats. Mar. Environ. Res. 140, 455–467. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012

Pielou, E.C. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. Journal of Theoretical Biology, 13: 131-144.

Sánchez-Moyano, J.E.; García-Asencio, I.; Donázar-Aramendía, I.; Miró, J.M.; Megina, C.; García-Gómez, J.C. 2017. BENFES, a new biotic index for assessing ecological status of softbottom communities. towards a lower taxonomic complexity, greater reliability and less effort. Marine Environmental Research 132: 41-50.

Schlitzer R. (2016) Ocean Data View. Alfred Wegener Institute, Bremerhaven, Germany. https://odv.awi.de/

Shannon, C.E. y Weaver, W. 1963. The mathematical theory of communication. Univ. of Illinois Press, Urbana, Illinois. 117 pp.

Thrush, S.F., Hewitt, J.E., Cummings, V.J., Green, M.O., Funnell, G.A., Wilkinson, M.R., 2000. The Generality of Field Experiments: Interactions between Local and Broad-Scale Processes. Ecology 81, 399. https://doi.org/10.2307/177436

Underwood, A.J., 1994. On Beyond BACI : Sampling Designs that Might Reliably Detect Environmental Disturbances Author (s): A.J. Underwood Published by : Ecological Society of America Stable URL : http://www.jstor.org/stable/1942110 . ON BEYOND BACI : SAMPLING DESIGNS THAT. Ecol. Appl. 4, 3–15. https://doi.org/10.2307/1942110

Underwood, A.J.J., 1992. Beyond BACI: the detection of environmental impacts on populations in the real, but variable, world. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 161, 145–178. https://doi.org/10.1016/0022-0981(92)90094-Q

Van De Merwe, J.P., Lee, S.Y., Connolly, R.M., Pitt, K.A., Steven, A.D.L., 2016. Assessing temporal and spatial trends in estuarine nutrient dynamics using a multi-species stable isotope approach. Ecol. Indic. 67, 338–345. <u>https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.02.058</u>.

# **3. ESTUDIO DEL ICTIOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR**

Uno de los objetivos generales del convenio en curso se centra en el estudio del ictioplancton (larvas y juveniles de peces), grupo que cuenta con numerosas especies que pueden aportar una información muy relevante sobre su estado, y que es el protagonista de uno de los principales servicios ecosistémicos que el estuario del Guadalquivir aporta: la función como zona de cría de especies de interés pesquero del Golfo de Cádiz. En conjunto, la información que se obtenga debe facilitar la implementación de una estrategia global de gestión del estuario que permita e incluso potencie el uso sostenible de estos recursos, compatibilizándolo con la recuperación ambiental del Guadalquivir y con su conservación.

### **3.1. OBJETIVOS**

- Estudiar la dinámica espacio-temporal de las fases larvarias y juveniles de las diferentes especies de peces presentes en el estuario del Guadalquivir, para proponer medidas de gestión en las que se mejore tanto las condiciones medioambientales como el reclutamiento de larvas de peces que son de interés comercial explotadas por las pesquerías del Golfo de Cádiz.
  - 1.1. Aplicación del protocolo de monitorización a largo plazo para evaluar correctamente las condiciones de la comunidad de ictioplancton en el estuario del Guadalquivir.
- Analizar los efectos del dragado de mantenimiento de 2017 sobre las variables físicoquímicas y las comunidades planctónicas de la columna de agua en zonas poli (Salinas) y mesohalinas (Puntalete).

## **3.2. ACTUACIONES REALIZADAS**

Desde el último informe entregado en marzo de 2020 se han realizado diferentes actividades para cumplir con los objetivos citados anteriormente. En este apartado se mencionan las actividades llevadas a cabo y los resultados analizados hasta el momento actual.

# 3.2.1. SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD DE ICTIOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2020).

Respecto al seguimiento mensual de la comunidad planctónica, se ha continuado con la aplicación del protocolo de monitorización a largo plazo, muestreando en el periodo de mayor actividad de reclutamiento (primavera - verano). En este periodo se ha muestreado mensualmente con 5 campañas (febrero, mayo, junio, julio y agosto), las cuales fueron conjuntas con el equipo de mesozooplancton de la Universidad de Cádiz. Debido al Estado de Alarma y al confinamiento obligatorio por la pandemia los muestreos de los meses de marzo y abril no pudieron realizarse.

### 3.2.1.1. ÁREA DE ESTUDIO

El estuario del río Guadalquivir consta de 110 km de recorrido, comprendidos desde la presa de Alcalá del Río (provincia de Sevilla) aguas arriba hasta su desembocadura en el Golfo de Cádiz entre Sanlúcar de Barrameda (provincia de Cádiz) y el Parque Nacional de Doñana (provincia de Huelva).

A lo largo de su recorrido longitudinal encontramos un gradiente salino que oscila desde agua marina ( $\approx$ 36 PSU) en la zona más próxima a la desembocadura hasta agua dulce ( $\approx$ 0 PSU) en los tramos más altos cercanos a la presa. Además, se caracteriza por ser un sistema, en general, bien mezclado verticalmente (Vanney, 1970). Dentro de este rango, se muestrearon 4 estaciones con distintas salinidades a lo largo de su tramo inferior (Canal, 25 PSU, 15 PSU y 5 PSU; Figura 3.1).



Figura 3.1. Estaciones de muestreo de plancton durante las campañas de abril hasta agosto de 2019.

### **3.2.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS**

### 3.2.1.2.1. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

La toma de muestras de ictioplancton se llevó a cabo desde la embarcación "LBM III", la cual ha sido equipada para realizar diversos tipos de muestreos científicos. Las muestras eran recolectadas con una red de plancton troncocónica de 1 m de diámetro, una manga de 3,44 m de longitud y una luz de malla de 1.000 µm. Los muestreos eran de tipo activo, con el barco en movimiento a una velocidad de 2-3 nudos y siempre durante el periodo de marea llenante, en la zona central del cauce. Los lances consistían en un movimiento oblicuo desde el fondo hasta la superficie, usando para ello una grúa eléctrica, y muestreando así toda la columna de agua. En cada punto se tomaron 3 lances de 10 minutos cada uno para evitar la obturación de la red y la consecuente pérdida de eficiencia de filtrado. El volumen de agua filtrado era medido con un flujómetro General Oceanics 2030R colocado en el aro.

Los muestreos se realizaron con una frecuencia aproximadamente mensual (a excepción de los meses de estado de alarma), llevándose a cabo en un solo día e iniciándose en la estación Canal para luego ir muestreando las demás estaciones río arriba hasta acabar en 5 PSU.

Los muestreos de ictioplancton se llevaron a cabo simultáneamente desde la misma embarcación con muestreos específicos del mesozooplancton, que están siendo analizados por el grupo de la Universidad de Cádiz.

### 3.2.1.2.2. TRATAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Tras la captura de los organismos, estos eran fijados en etanol al 70% para su posterior triado. Actualmente se están separando las especies de peces del resto de organismos capturados de las diferentes campañas. Tras su separación, se pesarán en fresco los diferentes taxones de macrozooplanton (misidáceos, decápodos, isópodos, etc.) para estimar su biomasa. Por otro lado, todos los individuos del ictioplancton serán identificados y cuantificados para su posterior comparación con los años previo del seguimiento.

### 3.2.1.2.3. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS

En cada punto de muestreo se midieron diferentes variables físico-químicas de la columna de agua. Para ello se utilizó una sonda multiparamétrica Eureka Manta 2 que registra en continuo (un valor de cada variable por segundo) las siguientes variables: profundidad, salinidad, pH, turbidez, oxígeno disuelto (DO) y temperatura. En cada punto de muestreo se tomaron 3 perfiles de toda la columna de agua, uno antes de iniciar los lances, otro intermedio y también al final tras terminar el último lance para así tener caracterizada toda la masa de agua en la que se capturaban las muestras.

Además, para otros análisis como es la medida de sólidos totales, materia orgánica e

inorgánica en suspensión y clorofila, se llevó a cabo la toma de muestras de agua con una botella Niskin a media agua.

### 3.2.1.2.3.1. Sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión

Las muestras de agua eran guardadas en botellas topacio y conservadas en hielo hasta la llegada a puerto donde se procedía con el filtrado de las mismas. Para ello se utilizaron filtros de fibra de vidrio con una capacidad de retención de partículas de hasta 0,7 µm (Whatman GF/F). Una vez filtrado un volumen significativo de agua, los filtros eran guardados y conservados en hielo hasta la llegada al laboratorio. El agua filtrada era utilizada para la medición de los nutrientes. Previamente, los filtros eran precombustionados (500°C, 4 h) y posteriormente pesados. Tras el filtrado, se secaban en una estufa a 60°C durante 24 horas para medir el peso seco de cada filtro y obtener la cantidad de sólidos totales (ST) en suspensión. Después se procedió a la combustión de los mismos para obtener la fracción de materia orgánica (MO) e inorgánica (MI).

### 3.2.1.2.3.2. Clorofila

Las muestras de agua cogidas para analizar la concentración de clorofila eran también tomadas a media agua y conservadas en un bote topacio con hielo hasta llegar a puerto, donde se procedía a la filtración de 1 L. Se utilizaron filtros de fibra de vidrio con una capacidad de retención de partículas de 0,7  $\mu$ m, controlando la presión durante el proceso. Las muestras son analizadas mediante espectrofotometría de fluorescencia en el INMAR de la Universidad de Cádiz.

#### **3.2.1.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS**

Los datos obtenidos tras la determinación faunística se resumen en una matriz taxónestación. Con estos datos se pretende describir y analizar los cambios producidos en un gradiente espacio-temporal en las comunidades mediante el cálculo del número de especies, abundancia total y relativa y diversidad. Por otro lado, se procederá a la comparación entre comunidades y sus relaciones con las distintas variables abióticas medidas mediante análisis multivariantes de ordenación o tipo PERMANOVA con diferentes programas estadísticos como son PRIMER 6 ("Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research") y RStudio.

Por otro lado, para estudiar la estructura de la columna de agua en las distintas zonas de muestreo y poder compararlas tanto espacial como temporalmente, la relación de cada variable, tomada con la sonda multiparamétrica, con la profundidad se analizó mediante modelos aditivos que permiten el estudio de relaciones no lineales. En cada zona de muestreo, cada uno de los 3 perfiles realizados se consideró como un nivel aleatorio en el modelo y se obtuvo la predicción del modelo promedio, usando como herramienta el programa RStudio. Para una visualización que

permita la interpretación y la comparación, los datos obtenidos de la forma expuesta son representados con el programa Ocean Data View (Schlitzer, 2016), que realiza una interpolación de esos datos en toda la zona de estudio.

# 3.2.1.3. RESULTADOS DEL SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD DE ICTIOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2019).

En este apartado se muestran los resultados obtenidos del seguimiento en el periodo de 2020. Parte de las muestras físico-químicas recolectadas han sido ya procesadas y analizadas, otras, como las biológicas, están aún en fase de obtención de resultados.

### 3.2.1.3.1. RESULTADOS VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS

En este apartado se muestra un resumen de la distribución espacial y temporal de las distintas variables físico-químicas medidas durante el seguimiento.

# 3.2.1.3.1.1. Sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión y turbidez

En la figura 3.2A se muestran los resultados de ST, MO y MI para cada masa de agua (Canal, 25, 15 y 5 PSU). Como puede observarse, la cantidad de ST, MO y MI aumenta de las masas de aguas de mayor salinidad y más cercanas a la desembocadura hasta las masas de agua menos salinas. Los valores observados en el mes de febrero fueron más elevados que los registrados en años previos, alcanzando los 6018 mg/L en la estación más interna (5 PSU). Esta elevada concentración generalizada en todo el estuario se relaciona con la avenida registrada a finales del mes de diciembre de 2019 (Figura 3.2B) tras un periodo de intensas lluvias en la región. Los niveles descendieron progresivamente desde febrero hasta junio, periodo donde el flujo de descarga fue bajo (< 35 m<sup>3</sup>/s). Aun así, la recuperación temporal de la concentración de ST hasta los valores promedios observados en años anteriores para el mismo periodo fue lenta, lo que provocó que se generase en el estuario un evento persistente de elevada turbidez durante la estación de primavera especialmente.

En relación con la proporción de MI (e inversamente la proporción de MO), los valores más elevados se encuentran generalmente en la estación de 5 PSU, la cual está más próxima a una de las Zonas de Máxima Turbidez (ZMT) del estuario detectada y descrita en los informes previos. Cabe destacar que durante los meses de julio y agosto se observó un aumento generalizado de la proporción de MO en las distintas estaciones, siendo especialmente notable en el exterior (Canal).



Figura 3.2A. Valores mensuales de sólidos en suspensión y porcentaje de materia inorgánica y orgánica de todas las masas de agua muestreadas durante los meses de 2020.



Figura 3.2B. Volumen (m<sup>3</sup>/s) medio diario del caudal circulante en la presa de Alcalá del Río durante el periodo de diciembre 2019 a agosto de 2020. Fuente: Sistema Automático de Información Hidrológica de la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir.



Figura 3.2C. Imagen del satélite Sentinel mostrando la pluma de sedimento en suspensión del Guadalquivir.

### 3.2.1.3.1.2. Clorofila

Los niveles de clorofila (Figura 3.3), la cual es un importante indicador de la producción primaria y biomasa de fitoplancton (Henson *et al.*, 2010), fueron en general más elevados que en años anteriores para el mismo periodo y las mismas masas de agua. Esto probablemente se debió



Figura 3.3. Valores mensuales de clorofila ( $\mu$ g/L) de todas las masas de agua muestreadas durante los meses de abril hasta agosto de 2019.

a que la avenida producida durante el invierno haya aportado una mayor carga de nutrientes al estuario y su desembocadura, los cuales han promovido una mayor proliferación de organismos fitoplanctónicos en los meses posteriores con el ascenso de las temperaturas. Esta hipótesis está en proceso de contrastación ya que aún no tenemos datos de nutrientes de ese periodo. También, las proporciones entre las concentraciones de clorofila entre el exterior y el interior del estuario se han invertido con respecto a años anteriores. Durante este año, con el evento de turbidez extrema descrito, las concentraciones en la estación exterior (Canal) han sido más elevadas que en las internas durante febrero, mayo y junio, cuando los niveles de turbidez fueron notablemente mayores en el interior que en el exterior (Figura 3.5) y por tanto la penetración de la luz en la columna de agua estaba fuertemente limitada en las zonas internas. Como se ha visto en años anteriores y se ha descrito en otros informes, el origen de la clorofila en la columna de agua dentro del estuario es probablemente el microfitobentos, que se resuspende periódicamente con las mareas y el oleaje (por el efecto del viento y por el paso de los barcos). El microfitobento se encuentra menos limitado que el fitoplancton real que se podría generar en la columna de agua, ya que realiza la fotosíntesis cuando baja la marea y la columna de agua sobre las márgenes es pequeña (o incluso en emersión). Así, el interior del estuario parece estar actuando como un reactor y un filtro biológico, que consume los nutrientes procedentes de zona más altas del río. En condiciones de extrema turbidez como las descritas para este año, incluso el microfitobentos
parece estar limitado por la escasa disponibilidad de luz, por lo que la función de reactor y filtro biológico del estuario se ve reducida, lo que produce que una mayor cantidad de nutrientes lleguen a las zonas exteriores provocando un aumento del fitoplancton en estas.

Aun así, en la zona interna, las concentraciones de clorofila siguen tendiendo a ser mayores en las estaciones más aguas arriba, menos salinas, con mayor turbidez y concentración de sólidos en suspensión (figura 3.2A). Esto confirma lo observado en años anteriores, sobre la relación paradójicamente positiva entre turbidez y clorofila, a pesar de que la fotosíntesis se vería limitada por la turbidez, dada la menor penetración de la luz en la columna de agua (Irigoien y Castel, 1997). Como se apuntaba en años anteriores y se ha explicado en el párrafo previo, la fotosíntesis y la producción primaria del estuario parece proceder principalmente del microfitobentos, y en las estaciones con mayor concentración de clorofila (15s y 5s) son aquellas más próximas a la zona de máxima turbidez (descritas en informes previo) cuya dinámica de circulación de agua favorece la resuspensión de partículas y/o la retención de las mismas, entre ellas el microfitobentos (De Jonge y Van Beusekom, 1992).

Otra hipótesis alternativa o complementaria pendiente de confirmación, es que esta avenida podría haber resuspendido una mayor cantidad de microfitobentos o transportado más organismos fotosintéticos desde aguas arriba a la zona baja del estuario.

### 3.2.1.3.1.3. Perfiles físico-químicos de la columna de agua

A continuación, se describen las distintas variables físico-químicas medidas por la sonda multiparamétrica.

### 3.2.1.3.1.3.1 Temperatura

La temperatura presentó una variación mensual incrementando de manera gradual en toda el área de estudio, con valores mínimos en febrero (en torno a 15 °C) y máximos en julio (30 °C) (Figura 3.4). Estos valores coinciden con la evolución temporal registrada años anteriores, aunque este año el mes de julio presentó los valores máximos, en vez de agosto.

Respecto a la variación espacial de la temperatura, cabe destacar que las estaciones más internas presentaron oscilaciones más amplias, alcanzando valores más bajos en invierno y más altos en verano. Además, la turbidez en las zonas internas es mayor (Figura 3.5), por lo que provoca una mayor captación de la radiación solar principalmente en los meses de verano y, en consecuencia, el aumento de su temperatura.



Figura 3.4. Representación gráfica de los valores de temperatura en la zona de estudio durante los meses del seguimiento de 2020.

### 3.2.1.3.1.3.2. Turbidez

Durante el periodo de estudio observó se un descenso de esta variable desde el mes de febrero hasta 3.5). agosto (Figura Se registraron niveles de turbidez extremos en febrero, fecha más próxima al evento de alta descarga de diciembre de 2019 (Figura 3.2B). Los niveles más altos registrados en la sección más río arriba los límites superaron máximos de la sonda (5400 NTU). Los valores extremos se mantuvieron hasta mayo, particularmente en las capas cercanas al fondo de la estación más interna (35 Km), mostrando una clara estratificación vertical. Después de mayo se observó un descenso notable en la mayor parte del estuario, aunque en junio se mantuvieron valores elevados en esa misma zona comparación en а los registrados años anteriores sin eventos de alta descarga. Finalmente, en julio y agosto lo valores alcanzaron niveles similares a los registrados en años previos en toda la sección estudiada.





### 3.2.1.3.1.3.3. Oxígeno disuelto

Las mediciones de la concentración de oxígeno disuelto (Figura 3.6) mostraron una mayor fluctuación temporal entre los distintos meses que espacial entre las distintas estaciones.

La capacidad del agua de mantener oxígeno disuelto se relaciona de forma inversa con la temperatura y con la salinidad, variables. Sin entre otras embargo, durante el mes de febrero, con las temperaturas más bajas registradas, se observaron las concentraciones generalizadas más bajas y una notable dilución longitudinal desde la zona más externa (7 mg/L) a la interna (5 mg/L). Los valores mínimos registrados (4.5 mg/L) coinciden con las zonas de máxima turbidez, relacionándose con esta variable de forma inversa también. El aumento de orgánica materia esta en zona/estación (5 PSU; Figura 3.2A) durante un periodo prolongado de tiempo pudo generar un mayor consumo de oxígeno por microorganismos heterótrofos que provocaron un descenso notable de 1a concentración de oxígeno, al mismo tiempo que descendieron los niveles de pH (Figura 3.7).

En estudios anteriores, varios autores han informado de valores de concentración de oxígeno excesivamente bajos en



Figura 3.6. Representación gráfica de los valores de oxígeno disuelto en la zona de estudio durante los meses del seguimiento de 2020.

diversas zonas del estuario del Guadalquivir, y se ha señalado como uno de los problemas ambientales del mismo. Dado que es ésta una variable crítica para el normal desarrollo de los organismos acuáticos y para el mantenimiento de las funciones del ecosistema, cabe destacar que en ningún momento se alcanzaron valores hipóxicos (< 2.5 mg/L) en la zona baja del estuario durante este periodo de estudio.

### 3.2.1.3.1.3.4. pH

El pH mostró una clara variación temporal y espacial (Figura 3.7). Esta variable está relacionada de forma inversa con la temperatura, por lo que explicaría los descensos observados principalmente en la zona estuarina entre junio y julio, con un leve ascenso en agosto, donde las temperaturas fueron menores a julio. Sin embargo, sus concentraciones en febrero fueron muy inferiores a las de los meses consecutivos a pesar de presentar las temperaturas más bajas. Estas alteraciones del pH pueden deberse а una proliferación de microrganismos heterótrofos gracias a la mayor disponibilidad de recursos tróficos como la materia orgánica observada en ese periodo y en las zonas más internas, los cuales incrementan las concentraciones actividad de  $CO_2$ por la respiratoria, acidificando el medio.





# 3.2.2. EFECTOS DEL DRAGADO DE MANTENIMIENTO DE 2017 SOBRE LAS VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS Y LAS COMUNIDADES PLANCTÓNICAS DE LA COLUMNA DE AGUA EN ZONAS POLI (SALINAS) Y MESOHALINAS (PUNTALETE).

Determinar las fluctuaciones de las características físico-químicas del estuario junto con las causas que las generan y relacionarlas con la comunidad planctónica presente en el Guadalquivir es de gran importancia para la mejora de su gestión y manejo. Es por ello por lo que se plantearon una serie de objetivos en el informe previo para evaluar diferentes situaciones que podrían modificar el hábitat en el que viven las distintas especies del plancton en periodos de tiempo muy cortos (días/semanas), lo cual puede ser crítico para la supervivencia de estos organismos.

En informes previos se han estudiado los distintos efectos causados por los dragados de mantenimiento en la comunidad bentónica y su hábitat. En este caso, el enfoque de este estudio se ha realizado para determinar los posibles efectos del dragado en la columna de agua y en los organismos planctónicos que la habitan. Aunque los dragados a menudo tienen más repercusiones en las comunidades bentónicas debido a la relativa inmovilidad de los organismos (Simonini et al., 2005), una extensa bibliografía ha demostrado que los dragados pueden afectar directamente a los peces (Kjelland et al., 2015; Wenger et al., 2017) y a sus hábitats asociados (Erftemeijer y Lewis, 2006; Jones et al., 2016). Numerosos estudios han analizado los diferentes efectos del incremento de sedimentos en suspensión en el comportamiento (Collin y Hart, 2015), la depredación (Ohata et al., 2011) y la fisiología (Au et al., 2004); otras investigaciones observan el efecto de los contaminantes liberados como metales o sustancias orgánicas hidrófobas (Haynes y Johnson, 2000); algunos de ellos investigan el arrastre de peces en diferentes etapas de su desarrollo (Reine et al., 1998); y pocos estudios evalúan los efectos de los sonidos ocasionados por los dragados (Reine et al., 2014).

Estudios recientes muestran que los peces adultos tienen más probabilidades de sufrir efectos subletales por las operaciones de dragado en lugar de que sean letales debido a su capacidad para alejarse o salir de un área de mayor impacto a una de menor impacto (Wenger et al., 2018). Sin embargo, los huevos, larvas y juveniles están sujetos a impactos letales con mayor frecuencia debido a su menor capacidad móvil (Wenger et al., 2018), así como a los pequeños individuos de macrozooplancton o hiperbentos (Hoffmann y Dolmer, 2000). Por esta razón, las etapas tempranas de la vida de los peces o de los organismos plantónicos pueden ser más sensibles y por tanto mostrar más claramente los impactos del dragado en las especies que habitan en la columna de agua.

Es por ello que este estudio pretende determinar diferentes efectos sobre pequeños

organismos que habitan en la columna de agua como las etapas tempranas de vida de especies de peces, macrozooplancton e hiperbentos durante una operación de dragado de mantenimiento con dos aproximaciones temporales distintas: i) analizar los efectos inmediatos de la draga mientras está trabajando en las variables fisicoquímicas y especies de macrofauna presentes en la columna de agua; ii) analizar los efectos acumulados a corto y medio plazo de la operación de dragado de mantenimiento en las variables fisicoquímicas y las principales especies de macrofauna presentes en la columna de agua en dos zonas con diferentes rangos de salinidad.

### 3.2.2.1. ÁREA DE ESTUDIO

En otoño de 2017 se llevó a cabo una operación de dragado de mantenimiento en varias zonas del estuario. Nuestro estudio se centró en dos zonas de dragado (Figura 3.8), una en la masa de agua polihalina (Salinas) y la otra en la masa de agua mesohalina (Puntalete). Se extrajeron aproximadamente 19600 y 20500 m<sup>3</sup> de material dragado en cada rango, respectivamente, y se llevó a cabo durante 15 días (del 18-11-2017 a 3-12-2017).



Figura 3.8. Zonas de muestreo (polihalina = Salinas; mesohalina = Puntalete) durante el dragado de mantenimiento de 2017.

## **3.2.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS**

## 3.2.2.1. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS Y FÍSICO-QUÍMICAS

Para analizar el efecto inmediato en toda la columna de agua, se recolectaron muestras biológicas contra la corriente principal de agua, antes (frente a la proa) y después (detrás de la popa) de que la masa de agua pasara por la draga mientras estaba en funcionamiento en tres momentos diferentes (Figura 3.9). También se recolectaron muestras de variables fisicoquímicas.

Para analizar el efecto acumulativo a corto y mediano plazo, se recolectaron muestras biológicas y fisicoquímicas en tres campañas antes, cinco campañas durante y tres campañas después del dragado con cuatro réplicas en cada zona. Para analizar las tendencias intraestacionales de las abundancias de los principales organismos encontrados en el estuario, se realizaron comparaciones con el seguimiento mensual realizado en las mismas zonas utilizando los mismos períodos de los dos años anteriores a 2017. No se realizaron operaciones de dragado en ese periodo en 2015, el cual se utilizó como tendencia natural, mientras que en 2016 se realizó un dragado similar, el cual se utilizó para comparar los efectos de ese año con los de 2017.

Las muestras biológicas se recolectaron con una red de plancton de 1 m de diámetro y 1



Figura 3.9. Diseño experimental para analizar los efectos inmediatos en la columna de agua antes y después de que la masa de agua pasara por la draga mientras estaba en funcionamiento.

mm de malla equipada con un flujómetro General Oceanics 2030R. Los los lances oblicuos de 10 min  $(305 \pm 46m^3; \text{media} \pm \text{DE})$  se realizaron con la embarcación "LBM III" a contra corriente a una velocidad de 2 a 2,5 nudos. Las muestras se fijaron en etanol al 70%. Se clasificaron las larvas y juveniles de los peces y el resto de grupos de macrofauna. Los peces se contaron y, cuando fue posible, se identificaron a nivel de especie. El resto de la macrofauna se cuantificó como biomasa en peso fresco por grupo (misidáceos, decápodos e isópodos).

Los perfiles fisicoquímicos de toda la columna de agua se registraron antes de cada lance de plancton con la sonda multiparamétrica (profundidad, temperatura, salinidad, turbidez, concentración de oxígeno disuelto (OD), pH y concentración de clorofila (Chla); Eureka<sup>™</sup> Manta2).

Se tomaron muestras de agua a media profundidad con una botella Niskin para medir la concentración de sólidos totales (TS), nutrientes inorgánicos (NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub>, SiO<sub>4</sub>) y diversos metales (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn). Para medir el total de sólidos en suspensión, se filtró agua a través de filtros de precombustión con un poro de 0,7  $\mu$ m (4 h, 500 ° C) (Whatman GF / F); después de eso, los filtros se secaron (24 h, 60 ° C) y se pesaron. Se obtuvo la materia orgánica en suspensión (MO) e inorgánica (MI) como pérdida de peso por ignición (500 ° C, 4 h). Las muestras de agua filtrada se utilizaron para medir los metales traza acidificándolas con HNO<sub>3</sub> de alta pureza (Suprapur, Merck) y se analizaron mediante espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (Varian ICP 720-ES). Las concentraciones de los nutrientes inorgánicos se determinaron en muestras de agua filtrada, con un autoanalizador (Skalar Sanplus System) utilizando técnicas colorimétricas.

### **3.2.2.2. TRATAMIENTO DE LOS DATOS**

Para investigar los efectos de la operación de dragado en las diferentes variables medidas, se aplicaron modelos lineales mixtos generalizados (GLMM) utilizando el paquete 'Lme4' (Bates et al., 2015). Se ejecutaron diferentes diseños experimentales para cada enfoque.

1) En el enfoque inmediato, se aplicaron modelos a las especies de peces más abundantes (> 2% del total) y a los principales grupos de macrofauna capturados. La distribución normal fue la más adecuada para la biomasa de los grupos de macrofauna y la distribución de Poisson para los datos de conteo de especies de peces con el uso del volumen filtrado como variable de compensación. El diseño experimental incluyó 2 factores: un factor fijo "Momento" (con 2 niveles, "Antes y Después") y 1 factor aleatorio, "Crucero" (con 3 niveles, "1, 2 y 3"), anidado dentro del Momento.

2) En el enfoque de corto y medio plazo, se aplicaron modelos a las especies de peces y grupos de macrofauna más abundantes, así como a todas las variables ambientales medidas para cada zona (polihalina y mesohalina) por separado. La distribución normal fue la más adecuada para la mayoría de las variables respuesta, excepto para los conteos de abundancia de especies de peces, para lo cual usamos una distribución binomial negativa y el logaritmo del volumen filtrado como variable de compensación. El diseño experimental incluyó 2 factores: un factor fijo "Período" (con 3 niveles, "Antes, Durante y Después") y 1 factor aleatorio anidado dentro del Período "Crucero" (con 3 niveles en Antes, 5 niveles en Durante y 3 niveles en Después). Si el

factor Período era significativo, se compararon los distintos niveles mediante un análisis *post hoc* por pares utilizando el paquete "emmeans" (Lenth, 2018).

Se ajustaron modelos aditivos generalizados (GAM) para los perfiles de profundidad de las variables fisicoquímicas registradas con la sonda multiparamétrica. Como los GLMM utilizan un valor único de cada variable de predicción para cada valor de la variable respuesta, los valores predichos de los GAM se promediaron en profundidad obteniendo un valor único representativo de toda la columna de agua. Los resultados de todas las variables se analizaron en cada zona separadamente utilizando el paquete "ggplot2". Todos los análisis se realizaron con el software R 3.5.2 (R Core Team, 2018).

Adicionalmente, se observó el caudal medio diario de la presa Alacalá del Río durante todo el período de estudio para analizar la influencia del aporte de agua dulce (datos proporcionados por Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, http://www.chguadalquivir.es/saih/DatosHistori-cos.aspx) sobre las variables ambientales medidas.

# 3.2.2.3. RESULTADOS DE LOS EFECTOS DEL DRAGADO DE MANTENIMIENTO DE 2017 SOBRE LAS VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS Y LAS COMUNIDADES PLANCTÓNICAS DE LA COLUMNA DE AGUA EN LAS ZONAS DE SALINAS Y PUNTALETE.

# **3.2.2.3.1. EFFECTOS INMEDIATOS**

### 3.2.2.3.1.1 Resultados físico-químicos

Los perfiles de las diferentes variables ambientales registradas con la sonda multiparamétrica se representaron en la Figura 3.10. Se encontró un patrón general tras el dragado para las variables de clorofila, turbidez y salinidad, que consistió en una homogeneización de toda la columna de agua con valores similares tanto en la superficie como en el fondo. Solo el oxígeno disuelto mostró una tendencia inversa, con valores más altos en la superficie después del dragado. El pH mantuvo valores homogéneos en ambos momentos, similares a la temperatura excepto en el crucero 1.



Figura 3.10. Perfiles de las variables ambientales (A: clorofila; B: turbidez; C: oxígeno disuelto; D: temperatura; E: pH; F: salinidad) antes (línea continua) y después (línea discontinua) del paso de la masa de agua por la draga mientras está funcionando en los tres cruceros.

## 3.2.2.3.1.2 Resultados biológicos

Las especies de peces encontradas fueron Engraulis encrasicouls (45,6%), Pomatoschistus spp. (44,9%), Aphia minuta (2,9%), Pomadasys incisus (2,3%), Solea senegalensis (2,2%), Sardina pilchardus (1,1%), Argyrosmus regius (0,5%), Anguilla anguilla (0,3%) y Gobius paganellus (0,2%). Entre el resto de grupos de macrofauna, los misidáceos fueron los más abundantes (77,9%; p.e. Rhopalophthalmus tartessicus, Mesopopdosis slabberi y Neomysis integer), seguidos de los decápodos (17,4%; p.e. Palaemon spp. y Crangon crangon) e isópodos (4,6%; p.e. Synidotea laticauda y Lekanesphaera rugicauda).

Las especies mostraron diferentes respuestas tras el paso de la masa de agua por la draga, aunque las variaciones entre los distintos momentos impidieron encontrar patrones claros. Solo los misidáceos y *Solea senegalensis* mostraron diferencias significativas, aumentando en todos los cruceros (Tabla 3.1). También tendió a aumentar el boquerón *Engraulis encrasicolus*. Contrariamente, decápodos, *Pomatoschistus* spp. *Aphia minuta* y *Pomadasys incisus* tendieron a disminuir. Los isópodos mantuvieron densidades estables delante y detrás de la draga.

Tabla 3.1. Resultados de factor fijo "Momento" en el GLMM de las principales especies de peces (datos
de conteo) y grupos de macrofauna (datos de biomasa) del enfoque inmediato. El nivel "Antes" se utilizó
como intercepto para calcular las estimaciones.

	Estimate	SE	z value	p value
Engraulis encrasicolus	0.328	0.213	1.537	0.124
Pomatoschistus spp.	-0.426	0.411	-1.034	0.301
Aphia minuta	-0.369	0.492	-0.75	0.453
Pomadasys incisus	-0.36	1.195	-0.302	0.763
Solea senegalensis	1.778	0.763	2.329	0.019
	Estimate	SE	t value	p value
Mysids	41.67	10.14	4.111	>0.001
Decapods	-10.01	27.6	-0.362	0.717
Isopodos	0.333	0.981	0.34	0.734

# 3.2.2.3.2. EFFECTOS A CORTO Y MEDIO PLAZO 3.2.2.3.2.1 Resultados físico-químicos

La duración del estudio fue de 81 días entre el primer y el último muestreo, mostrando diferentes patrones temporales entre las distintas variables fisicoquímicas. Las diferencias estadísticas del factor "Período" de los GLMM en todas las variables se resumieron en los gráficos por códigos de letras. El aporte medio diario de agua dulce al estuario (Figura 3.11A) aumentó (> 50 m<sup>3</sup>/s) al final del período del dragado y posteriormente. La turbidez no mostró ningún cambio durante el dragado, sin embargo, sus valores aumentaron después del dragado, siendo significativo en la zona polihalina (Figura 3.11B). La concentración de clorofila mostró una disminución durante el período de dragado, y luego una recuperación leve (Figura 3.11C). La temperatura del agua disminuyó gradualmente de 22,5 °C a 12,5 °C, típico de la transición otoñoinvierno de las regiones templadas del hemisferio norte, aunque esta disminución cesó durante el dragado (Figura 3.11D). El oxígeno disuelto mostró la tendencia inversa durante el estudio (Figura 3.11E), aunque sus valores aumentaron más durante el período de dragado a pesar de que la temperatura se mantuvo estable durante esas fechas. El pH aumentó en ambas zonas durante el dragado, disminuyendo posteriormente a los valores previos. La salinidad se mantuvo estable en ambas zonas durante todo el estudio (Figura 3.11F), aunque tendió a disminuir después del dragado asociado al incremento de entrada de agua dulce en este período.



Figura 3.11. Media diaria de aportes de agua dulce en el estuario del Guadalquivir (A) y valores temporales de las variables fisicoquímicas medidas en la columna de agua (turbidez (B), clorofila (C), temperatura (D), oxígeno disuelto (E), pH (F), salinidad (G)) y biológicas (*Engraulis encrasicolus* (H), *Pomatoschistus* spp. (I), misidáceos (J), decápodos (K), isópodos (L)). Las líneas verticales señalan el período de dragado. Las líneas continuas son modelos aditivos con el método "loess" para las zonas polihalina (rojas) y mesohalina (azules). Los tonos grises significan el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas (p <0.05) entre los niveles del factor Período (antes, durante y después) del GLMM aplicado en cada zona (letras rojas: polihalina;

Los sólidos totales (ST), directamente correlacionado con MI y MO (Figuras 3.12A-C), mostraron el mismo patrón que la turbidez, siendo el período post-dragado cuando se encontraron concentraciones más altas en cada zona, aunque el amplio rango encontrado en la zona mesohalina hizo que ésta no fuera significativamente diferente. Las concentraciones de silicato y nitrito no mostraron diferencias (Figuras 3.12D-E). Los nitratos mostraron un incremento gradual en ambas zonas, con diferencias significativas en la zona polihalina entre todos los períodos (Figura 3.12F). Una tendencia similar mostró el amonio, pero sin diferencias significativas (Figura 3.12G). Los fosfatos no mostraron ninguna diferencia en la zona mesohalina, mientras que los valores medidos en la zona polihalina fueron mayores durante el dragado, con una recuperación parcial posteriormente (Figura 3.12H).



Figura 3.12. Diagrama de cajas de los sólidos totales en suspensión (A), materia inorgánica en suspensión (B), materia orgánica en suspensión (C), SiO<sub>4</sub> (D), NO<sub>2</sub> (E), NO<sub>3</sub> (F), NH<sub>4</sub> (G) y PO<sub>4</sub> (H) en cada zona. Azul: antes del dragado; rojo: durante el dragado; verde: después del dragado. Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05) entre los niveles del factor período en los GLMM de cada zona.

Se encontraron tendencias similares entre las dos zonas en la concentración de la mayoría de los metales analizados, aunque la zona mesohalina no mostró diferencias significativas entre los distintos períodos para ninguno de ellos (Figura 3.13). As, Cd, Co, Cu y Pb no mostraron patrones claros debido a las variaciones entre réplicas (Figura 3.13A-D, H). Ni, a pesar de no ser significativamente diferente entre los períodos, mostró una tendencia acumulativa durante el dragado (Figura 3.13G). Cr y Fe incrementaron gradualmente durante el dragado y continuaron en el período posterior al dragado (Figura 3.13D, F). La concentración de Zn mostró el mayor incremento relativo durante el dragado, con diferentes tendencias después del dragado para la zona polihalina, en la que disminuyó levemente, y la zona mesohalina, en la que se mantuvo alta pero con oscilaciones (Figura 3.13I).



Figura 3.13. Serie temporal de concentraciones de metales (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn; A-I respectivamente) en la columna de agua. Las líneas verticales señalan el período de dragado. Las líneas continuas son modelos más aditivos con el método "loess" para las zonas polihalina (rojas) y mesohalina (azules). Letras diferentes indican diferencias significativas (p <0.05) entre niveles del factor período en los GLMM de cada zona (letras rojas: polihalina; letras azules: mesohalina).

### 3.2.2.3.2.2 Resultados biológicos

Se encontró un total de 16 especies de peces en etapas tempranas de vida con dos especies dominantes que componían más del 90% de la abundancia total del conjunto de peces, el boquerón *Engraulis encrasicolus* (58,3%) y el gobio *Pomatoschistus* spp. (32,8%). En relación con el resto de grupos de macrozooplancton e hiperbentos, se encontraron especies similares a las descritas en el enfoque inmediato, siendo los misidáceos los que presentaron una mayor biomasa (76,6%), seguidos de los decápodos (17,6%) y los isópodos (5,3%).

Las series temporales de las densidades de las especies de peces más abundantes y el resto de la macrofauna se representaron por zonas en la figura 3.11. Se observó un patrón general para la mayoría de los taxones, que mostró una variación de densidad más amplia antes y durante el dragado, así como un patrón temporal que mostró una disminución a lo largo de todo el estudio. No obstante, se encontraron respuestas distintas entre los períodos para cada especie. El boquerón y los misidáceos mostraron patrones similares en ambas zonas, con una marcada disminución desde el inicio del dragado, especialmente en aguas polihalinas, que continuó hasta el último muestreo (Figuras 3.11H, J). Los gobios, isópodos y decápodos no mostraron diferencias entre períodos debido a la alta variabilidad dentro de cada periodo, aunque se observaron tendencias diferentes (Figuras 3.11 I, K, L). Las densidades de isópodos fueron demasiado bajas en la zona polihalina para detectar cambios a lo largo de períodos, mientras que en la zona mesohalina su biomasa mostró un descenso notable durante el dragado en comparación con el último muestreo del período anterior; asimismo, mostró una recuperación parcial en el segundo muestreo después del dragado, aunque no continuó en el siguiente. El gobio y los decápodos mostraron una tendencia similar, pero en zonas opuestas, con una disminución al final del dragado que continuó también en el período posterior al dragado.

La comparación interanual (2015, 2016 y 2017) de *E. encrasicolus*, *Pomatoschistus* spp. y el resto de grupos de macrofauna juntos (el componente principal fueron los misidáceos) en cada zona fueron representados en la Figura 3.14. El boquerón (Figura 3.14A) mostró densidades estables en la zona polihalina durante todo el período en 2015 y 2016, a pesar de la operación de dragado que se realizó en este último año (2016). En cambio, 2017 presentó una mayor abundancia de boquerón antes del dragado, pero disminuyó durante el dragado hasta niveles similares a años anteriores en las mismas fechas. Las densidades de boquerón en la zona mesohalina mostraron una tendencia diferente, con una disminución gradual pero con oscilaciones según el año. De hecho, las variaciones naturales intermensuales encontradas en 2015 fueron superiores a las observadas en años con dragado. La tendencia del resto de la macrofauna (Figura 3.14C) fue similar a la del boquerón en la zona polihalina, y se repitió una disminución gradual en todos los años en la zona mesohalina. El gobio (Figura 3.14B) mostró un patrón distinto en ambas zonas todos los años, excepto en la zona mesohalina en 2016, con un

incremento progresivo al inicio del período estudiado que varió entre fechas, para finalmente disminuir con diferentes pendientes.



Figura 3.14. Densidad de *Engraulis encrasicolus* (A) y *Pomatoschistus* spp. (B), y biomasa del resto de macrofauna (C) durante el estudio del dragado (2017) y en fechas similares en años anteriores (2015 y 2016) en cada zona. Las líneas verticales señalan los períodos de dragado: color verde para 2016 y azul para 2017. Las líneas continuas son modelos aditivos con el método loess para cada año.

# 3.2.2.4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS OBSERVADOS DURANTE EL DRAGADO DE MANTENIMIENTO DE 2017 SOBRE LAS VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS Y LAS COMUNIDADES PLANCTÓNICAS DE LA COLUMNA DE AGUA EN ZONAS POLI (SALINAS) Y MESOHALINAS (PUNTALETE).

Los estuarios son ecosistemas con amplias variaciones ambientales que dificultan la detección del estrés antrópico de los cambios naturales, a menos que el impacto humano sea severo, lo que lleva a la "paradoja de la calidad del estuario" (Elliott y Quintino, 2007). Además, la imposibilidad de establecer controles replicados por zonas, debido a la ausencia de aguas polihalinas o mesohalinas sin dragar en el mismo estuario, hace necesario interpretar estos resultados con cautela. No obstante, los múltiples enfoques temporales (inmediato, corto y medio plazo) aplicados en este estudio, además de comparaciones interanuales, ayudó a discriminar diferentes efectos.

Entre las variables fisicoquímicas, solo el OD y el pH mostraron una clara influencia del dragado, aumentando sus niveles. Estas observaciones contrastan con el supuesto general de que la resuspensión de sedimentos libera sustancias químicas que reaccionan con el OD, reduciendo temporalmente su concentración y acidificando el agua (Jones-Lee y Lee, 2005). En este caso, observando la estratificación del OD en la aproximación inmediata, es posible que las perturbaciones mecánicas como la hélice del barco, además de la acción del brazo de la draga, pudieran mezclar la columna de agua con el aire atmosférico (Bowie et al., 1985), equilibrando la demanda química del OD, e incluso aumentando sus valores. No obstante, la concentración de OD nunca alcanzó niveles inferiores a 6 mg/L durante todo el estudio a cualquier profundidad en ambas zonas y el pH aumentó solo 0.1, lo que no pareció tener un efecto negativo relevante en aguas bien oxigenadas con bajas temperaturas (Jabusch et al., 2008).

Por otro lado, la disminución de OD también se asocia con altos niveles de turbidez persistentes que reducen la penetración de luz en la columna de agua y limitan la actividad de la fotosíntesis (Desmit et al., 2005). Aun así, el estuario del Guadalquivir se considera un sistema turbio donde la producción primaria en la columna de agua es escasa y está restringida a la capa superficial (Ruiz et al., 2015). Por tanto, la producción de oxígeno por parte del fitoplancton se vería poco influida por un incremento temporal de la turbidez. El aumento de la turbidez, directamente correlacionado con el TSS, ha sido ampliamente estudiado como efecto común de las operaciones de dragado en áreas costeras que pueden afectar a la biodiversidad marina (Magris y Ban, 2019; Wenger et al., 2017), pudiendo causar impactos letales y subletales en el 10-20% de las especies de peces, respectivamente (Wenger et al., 2018). Un análisis de imágenes satelitales de superficie mostró incrementos del total de sólidos en suspensión (1000 mg/L aprox.) en plumas durante otra operación de dragado en las zonas altas del mismo estuario (Caballero et al., 2018).

Estas observaciones coincidieron con los perfiles inmediatos registrados después del paso de la masa de agua por la draga en funcionamiento, cuando la homogeneización de la columna de agua incrementó los niveles de turbidez en la superficie. Pero, sorprendentemente, no detectamos cambios significativos en los valores de turbidez promediados en profundidad. La operación de dragado debe haber aumentado necesariamente el sedimento en suspensión y, en consecuencia, la turbidez; pero el efecto parece ser espacialmente muy local y su persistencia temporal corta, por lo que no pudimos detectar cambios significativos en los enfoques de corto y medio plazo. No obstante, la turbidez, la concentración de TSS, SIM y MOS aumentaron después del dragado, lo que parece estar más asociado a mayores aportes de agua dulce observados en este período. González-Ortegón et al. (2010) reportaron observaciones similares durante otras avenidas en el mismo estuario (hasta 700 NTU aprox.), describiendo efectos adversos en la red trófica del estuario a diferentes niveles. El aumento de la exposición a los sedimentos en suspensión puede provocar daños en el tejido y la estructura de las branquias, que obstruyen más fácilmente las branquias y reducen su eficacia en peces y larvas más pequeños (Au et al., 2004). El estuario del Guadalquivir ha sido considerado la zona de cría más productiva e importante de la comarca a pesar de ser la más turbia (Miró et al., 2020). Los altos caudales originados por las mareas y la alta turbidez crónica en el estuario del Guadalquivir (Losada et al., 2017) podrían haber eclipsado el efecto de resuspensión de sedimentos provocado por el dragado en nuestras zonas de muestreo, por lo que no pudimos observar un incremento claro, y por tanto un efecto directo sobre las especies encontradas.

La dinámica de la concentración de clorofila pareció seguir un patrón estacional relacionado con la reducción de temperatura, ya que el dragado no modificó significativamente la turbidez y, en consecuencia, la penetración de la luz. Sin embargo, se observaron valores más altos en los últimos muestreos mientras que la temperatura continuó disminuyendo y la turbidez aumentó. Estas observaciones podrían explicarse por las importaciones de aguas río arriba con mayor producción primaria provocadas por el aumento de los aportes de agua dulce (González-Ortegón y Drake, 2012) y/o una mayor resuspensión de microfitobentos de las riberas (Díez-Minguito y de Swart, 2020; Miró et al., 2020). Asimismo, nutrientes como el nitrato y el amonio, que presentaban tendencias similares a la clorofila, podrían ser importados de los efluentes urabanos y los procesos de nitrificación de aguas arriba cercanas a áreas urbanas y agrícolas (Mendiguchía et al., 2007). Se podrían encontrar diferentes formas de amonio dependiendo de los niveles de pH, con una mayor proporción [amoníaco (NH<sub>3</sub>)] no ionizada asociada a un pH alto, que se ha considerado tóxico para los peces (Brinkman et al., 2009). En nuestro caso, los cambios de pH observados durante el dragado podrían incrementar la proporción de NH<sub>3</sub> alrededor de 0.1-0.2% (zonas poli- y mesohalinas respectivamente), lo que significaría una concentración total encontrada de 0.1 µM NH<sub>3</sub> durante ese período. Por lo tanto, el amoníaco no ionizado mostró niveles muy alejados de las referencias de toxicidad [NH<sub>3</sub> 1.16 µM (Eddy, 2005)]. La concentración de fosfato, cuyo incremento se suele atribuir a los fertilizantes por vía fluvial (Mainstone y Parr, 2002), mostró cambios durante el dragado en aguas polihalinas, aunque las concentraciones alcanzadas fueron inferiores a las encontradas en la zona mesohalina. A nivel global, no pudimos asignar claramente un aumento de nutrientes inorgánicos debido a las operaciones de dragado. Por el contrario, el dragado se ha relacionado principalmente con la removilización de metales asociados a partículas de sedimento en la columna de agua, lo que cambia sus condiciones ambientales y promueve el cambio de metales de un estado particulado a un estado disuelto (Van Den Berg et al., 2001). Este fenómeno podría ser aún más notorio en el estuario del Guadalquivir dado que recibió un vertido tóxico de la mina Aznalcóllar en 1998 (Riba et al., 2002) [aunque diez años después, los estudios demostraron que la disminución de la contaminación por metales en la zona era evidente (Tornero et al., 2014, 2011)]. Se sabe que la oxidación de los sulfuros libera diferentes metales pesados porque los precipitados se degradan (Caille et al., 2003). Este fenómeno se observó en nuestro caso para Cr, Fe, Ni y Zn, con una tendencia acumulativa durante el dragado. Sin embargo, la oxidación de Fe también provoca la precipitación de hidróxidos de hierro que podrían formar una capa adsorbente muy fuerte en la superficie del nuevo fondo recién dragado y disminuir la liberación de metales (Goossens y Zwolsman, 1996). Por otro lado, un estudio previo en el estuario del Guadalquivir de concentración de metales pesados en el sedimento de las mismas zonas observó un incremento de As, Co y Ni tras las operaciones de dragado, especialmente en el sitio polihalínico (Donázar-Aramendía et al., 2018). En nuestras muestras de agua, se encontraron efectos mayores en la misma zona, donde las ligeras diferencias observadas podrían deberse a la salinidad del agua, el potencial de oxidación-reducción del sedimento y el pH del agua (Eggleton y Thomas, 2004).

Los valores máximos registrados en el estuario fueron inferiores a la concentración mínima utilizada en experimentos controlados en laboratorio que prueban los efectos letales de los metales en las etapas tempranas de la vida de los peces (Jezierska et al., 2009). Los experimentos en crustáceos también muestran que los rangos medidos generalmente no causan efectos significativos en los individuos (Lavolpe et al., 2004; Martin y Holdich, 1986). Por lo tanto, se espera que la absorción de metales por los peces y el resto de la macrofauna presente en ambas zonas sea baja en este estudio. Además del efecto del dragado, también las corrientes de marea diarias, las energías eólicas o las tormentas en los sistemas estuarinos pueden causar la removilización periódica de los sedimentos superficiales, liberando metales de forma natural (Eggleton y Thomas, 2004). Las mayores entradas de agua dulce observadas después del dragado, y el incremento asociado a ST, también podrían contribuir a mantener los valores elevados de algunos metales. Por otro lado, algunos metales se pueden liberar y/o reabsorber más fácilmente que otros (Maddock et al., 2007). Podría estar ocurriendo una liberación y reabsorción más rápida

para el Ni y el Cr, que aumentaron rápidamente solo durante el dragado, y una liberación y reabsorción más lenta para el Zn y Fe, que alcanzaron niveles más altos después del dragado. Además, los sedimentos finos podrían permanecer más tiempo en suspensión y, en consecuencia, liberar más metales después del dragado (Maddock et al., 2007). El estuario del Guadalquivir ha presentado eventos de alta turbidez persistente en años húmedos (González-Ortegón et al., 2010), y también es considerado uno de los estuarios de la región con mayores flujos de metales (González-Ortegón et al., 2019) debido a aportes urbanos y agrícolas (Mendiguchía et al., 2007). Dado que los organismos absorben y acumulan trazas de metales durante todo su ciclo de vida, éstos tienen el potencial de causar efectos tóxicos a largo plazo (Rainbow, 2007), por lo que se debe prestar especial atención a la liberación de metales después de situaciones de mayor perturbación del fondo, como períodos de dragado más largos o descargas elevadas. Aun así, esto puede generar una mayor preocupación en los organismos estuarinos de vida más larga, como los peces adultos residentes, que con los de vida corta, como la mayoría de las especies incluidas en este estudio.

Las alteraciones fisicoquímicas de la operación de dragado parecen ser menores en comparación con los cambios naturales observados, sin embargo, se han observado otros posibles efectos en los organismos planctónicos. La limitada capacidad de natación de los individuos pequeños podría imposibilitar que eviten la masa de agua afectada por el dragado. Por lo tanto, la causa principal y directa que podría disminuir las densidades tras el paso de la masa de agua por la draga en funcionamiento es el arrastre hidráulico, pudiendo causar la muerte de individuos por la acción mecánica del brazo de succión (Reine y Clarke, 1998).

Se encontraron diferentes tendencias para especies epibentónicas y pelágicas en el enfoque inmediato. Especies epibentónicas, como *Pomatoshcistus* spp. o decápodos, tendieron a disminuir, probablemente debido al impacto directo de la movilización física de los sedimentos del fondo donde habitan los organismos epibentónicos (Hoffmann y Dolmer, 2000). De hecho, un estudio anterior mostró que *Pomatoschistus* spp. es propenso a un alto arrastre por la succión de una draga con tasas estimadas entre 0.0018 y 0.009 ind./m<sup>3</sup> (Drabble, 2012a). Además, Armstrong et al. (1982) reportaron que el camarón de arena (*Crangon* sp.) tiene las tasas más altas de arrastre por dragas en los estuarios del Pacífico noroeste, con un rango entre 0.08 y 4.44 ind./m<sup>3</sup>, y estimando una pérdida de población durante un proyecto de dragado alrededor de 1.2 a 6.5%. Por el contrario, especies pelágicas como *E. encrasicolus, S. pilchardus, P. incisus* o los misidáceos tendieron a mantener estables sus densidades, o incluso a aumentar en algunos casos. Su comportamiento de habitar en la columna de agua podría minimizar el riesgo de arrastre. La mayoría de los estudios reportan organismos demersales arrastrados (Barletta et al., 2016; Reine y Clarke, 1998); sin embargo, también se han recolectado estadios adultos de especies pelágicas, incluyendo la anchoveta (0.001 ind./m<sup>3</sup>), el arenque (0.01 ind./m<sup>3</sup>) y el capellán (0.01 ind./m<sup>3</sup>)

70

(Armstrong et al., 1982). En larvas de peces, algunos autores estimaron el arrastre de lubina rayada (*Morone saxatilis*), arenque (*Alosa* spp.) y perca blanca (*Morone americana*), incluyendo una operación simultánea de cuatro dragas hidráulicas en el río Delaware, y concluyeron que menos del 1% de la población larvaria total fue arrastrada por las dragas (Burton et al., 1992). En nuestro caso, los resultados obtenidos sin disminuciones significativas para ninguna especie en este enfoque sugieren que el arrastre provocó una baja incidencia sobre las especies epibentónicas y ningún efecto sobre las pelágicas.

Por otro lado, las especies pelágicas exhibieron diferentes tendencias entre el enfoque inmediato y el corto-medio plazo. Se encontró una alta disminución en la densidad justo después del inicio del dragado en E. encrasicolus y misidáceos en la zona polihalina, sugiriendo que esta alteración podría afectar a estas especies. Sin embargo, las comparaciones interanuales encontraron que sus densidades pueden fluctuar de manera similar sin dragado (boquerón en la zona mesohalina de 2015) o mucho después de la actividad del dragado (macrofauna en la zona polihalina de 2016). Asimismo, estos organismos presentaron valores bajos y estables (boquerón en la zona polihalina de 2015-16) o disminuyeron gradualmente (boquerón y macrofauna en la zona mesohalina de 2015-16) a lo largo de esa temporada, ya sea en años con o sin operaciones de dragado. El gobio mostró diferentes tendencias, disminuyendo su densidad notablemente en la zona mesohalina de 2015, cuando no hubo ninguna operación de dragado, e incluso aumentando durante y después del dragado en la zona polihalina de 2016. Estos patrones dificultan dilucidar si estos cambios corresponden a la variabilidad y reducción natural, típicas de este período (Drake et al., 2002), o son un impacto del dragado. Un largo estudio de seguimiento de varios años en el Este del Canal de la Mancha (Reino Unido), que se draga anualmente, observó una reducción temporal y gradual en varias especies, incluida *Pomatoschistus* spp. (Drabble, 2012b). En nuestro caso, no se encontraron diferencias claras entre las densidades estacionales de años anteriores. Algunas de estas especies habitan en todo el tramo del estuario, con mayores densidades en las márgenes menos profundas del Guadalquivir (informes previos). Además, la mayoría de las especies encontradas eran marinas migratorias, como E. encrasicolus, S. pilchardus, S. senegalensis, etc., que ubican su zona de desove en alta mar (Baldó et al., 2006). Estos comportamientos podrían minimizar el impacto mecánico del dragado, que se llevó a cabo en el estuario y solo en medio del canal, limitando el impacto en la función de cría.

En resumen, las modificaciones observadas de las variables fisicoquímicas del agua en comparación con cambios naturales como las descargas elevadas, las diferencias no significativas encontradas en el enfoque inmediato y las fluctuaciones temporales de densidad similares a años anteriores con y/o sin dragado sugieren que esta operación de dragado no causó un impacto severo en la zona baja del estuario del Guadalquivir. Aun así, esto no significa que no haya ningún efecto. Este ecosistema mostró altas fluctuaciones naturales que no permitieron asociar claramente las

variaciones observadas con los efectos del dragado, dando lugar a la 'Paradoja de la Calidad del Estuario' (Elliott y Quintino, 2007). No obstante, como los posibles efectos de esta perturbación eran del mismo orden o menos que los naturales, los organismos planctónicos podrían estar bien adaptados para hacerles frente. La masa de agua polihalina mostró efectos más notorios que las aguas mesohalinas. Además, la operación de dragado se llevó a cabo durante el período de disminución natural del reclutamiento, lo que podría minimizar los efectos sobre la función de cría. Sin embargo, una actividad de dragado durante el período principal de reclutamiento y de desarrollo larvario [marzo a noviembre en el caso de la ría del Guadalquivir; (Drake et al., 2007, 2002)], podría limitar directamente el suministro de larvas al contribuir a tasas más altas de mortalidad y/o reducir el éxito del reclutamiento (Wenger et al., 2017). La evidencia encontrada aquí y los cambios detectados hacen aconsejable implementar programas de monitoreo sistemático a cualquier proyecto de dragado. La experiencia acumulada y el uso de nuevos enfoques pueden permitir detectar con mayor claridad la naturaleza del efecto de estas operaciones, permitiendo el diseño de estrategias de control específicas para mitigar impactos, así como una evaluación exhaustiva de la efectividad de estas estrategias (Wenger et al., 2018), promoviendo una gestión pesquera más sostenible.

## **3.3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Armstrong, D.A., Stevens, B.G., Hoeman, J., 1982. Distribution and abundance of Dungeness crab and Crangon shrimp, and dredged-related mortality of invertebrates and fish in Grays Harbor, Washington. Tech. Report. Sch. Fish. Univ. Washington, Washingt. Dep. Fish. U.S. Army Eng. Dist. Seattle.

Au, D.W.T., Pollino, C.A., Wu, R.S.S., Shin, P.K.S., Lau, S.T.F., Tang, J.Y.M., 2004. Chronic effects of suspended solids on gill structure, osmoregulation, growth, and triiodothyronine in juvenile green grouper Epinephelus coioides. Mar. Ecol. Prog. Ser. 266, 255– 264. https://doi.org/10.3354/meps266255

Baldó, F., García-Isarch, E., Jiménez, M.P., Romero, Z., Sánchez-Lamadrid, A., Catalán, I.A., 2006. Spatial and temporal distribution of the early life stages of three commercial fish species in the northeastern shelf of the Gulf of Cádiz. Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 53, 1391–1401. https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.04.004

Barletta, M., Cysneiros, F.J.A., Lima, A.R.A., 2016. Effects of dredging operations on the demersal fish fauna of a South American tropical-subtropical transition estuary. J. Fish Biol. 1–31. https://doi.org/10.1111/jfb.12999

Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., Walker, S., 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using Ime4. J. Stat. Softw. 67, 1–48. https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01

Bowie, G.L., Mills, W.B., Porcella, D.B., Campbell, C.L., Pagenkopf, J.R., Rupp, G.L., Jhonson, K.M., Chan, P.W., Gherini, S.A., 1985. Rates, constants, and kinetics formulations in surface water quality modeling. EPA/600/3-85/040 June, 455 pp.

Brinkman, S.F., Woodling, J.D., Vajda, A.M., Norris, D.O., 2009. Chronic Toxicity of Ammonia to Early Life Stage Rainbow Trout. Trans. Am. Fish. Soc. 138, 433–440. https://doi.org/10.1577/t07-224.1

Burton, W., Weisberg, S., Jacobson, P., 1992. Entrainment effects of maintenance hydraulic dredging in the Delaware River Estuary on Striped Bass Ichthyoplankton. Rep. Submitt. to Delaware Basin Fish Wildl. Manag. Coop. Trenton, NJ.

Caballero, I., Navarro, G., Ruiz, J., 2018. Multi-platform assessment of turbidity plumes during dredging operations in a major estuarine system. Int. J. Appl. Earth Obs. Geoinf. 68, 31–41. https://doi.org/10.1016/j.jag.2018.01.014

Caille, N., Tiffreau, C., Leyval, C., Morel, J.L., 2003. Solubility of metals in an anoxic sediment during prolonged aeration. Sci. Total Environ. 301, 239–250. https://doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00289-9 Collin, S.P., Hart, N.S., 2015. Vision and photoentrainment in fishes: The effects of natural and anthropogenic perturbation. Integr. Zool. 10, 15–28. https://doi.org/10.1111/1749-4877.12093

De Jonge, V. N. & Van Beusekom, J. E. E. (1992) Contribution of resuspended microphytobenthos to total phytoplankton in the Ems estuary and its possible role for grazers. Netherlands Journal of Sea Research 30, 91–105.

Desmit, X., Vanderborght, J.P., Regnier, P., Wollast, R., 2005. Control of phytoplankton production by physical forcing in a strongly tidal, well-mixed estuary. Biogeosciences 2, 205–218. https://doi.org/10.5194/bg-2-205-2005

Díez-Minguito, M., Baquerizo, A., Ortega-Sánchez, M., Navarro, G., Losada, M.A., 2012. Tide transformation in the Guadalquivir estuary (SW Spain) and process-based zonation. J. Geophys. Res. Ocean. 117, 1–14. https://doi.org/10.1029/2011JC007344

Díez-Minguito, M., de Swart, H.E., 2020. Relationships Between Chlorophyll-a and Suspended Sediment Concentration in a High-Nutrient Load Estuary: An Observational and Idealized Modeling Approach. J. Geophys. Res. Ocean. 125, no. https://doi.org/10.1029/2019JC015188

Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018. Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats. Mar. Environ. Res. 140, 455–467. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012

Drabble, R., 2012a. Projected entrainment of fish resulting from aggregate dredging. Mar. Pollut. Bull. 64, 373–381. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.10.033

Drabble, R., 2012b. Monitoring of East Channel dredge areas benthic fish population and its implications. Mar. Pollut. Bull. 64, 363–372. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.10.035

Drake, P., Arias, A.M., Baldó, F., Cuesta, J.A., 2002. Spatial and temporal variation of the nekton and hyperbenthos from a temperate European estuary with regulated freshwater inflow. Estuaries 25, 451–468. https://doi.org/10.1007/BF02695987

Drake, P., Borlán, A., González-Ortegón, E., Baldó, F., Vilas, C., Fernández-Delgado, C., 2007. Spatio-temporal distribution of early life stages of the European anchovy Engraulis encrasicolus L. within a European temperate estuary with regulated freshwater inflow: effects of environmental variables. J. Fish Biol. 70, 1689–1709. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01433.x

Eddy, F.B., 2005. Ammonia in estuaries and effects on fish. J. Fish Biol. 67, 1495–1513. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2005.00930.x Eggleton, J., Thomas, K. V., 2004. A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. Environ. Int. 30, 973–980. https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.03.001

Elliott, M., Quintino, V., 2007. The Estuarine Quality Paradox, Environmental Homeostasis and the difficulty of detecting anthropogenic stress in naturally stressed areas. Mar. Pollut. Bull. 54, 640–645. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.02.003

Erftemeijer, P.L.A., Lewis, R.R., 2006. Environmental impacts of dredging on seagrasses: A review. Mar. Pollut. Bull. 52, 1553–1572. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.09.006

González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A., Cuesta, J. a, Fernández-Delgado, C., Vilas, C., Drake, P., 2014. Freshwater scarcity effects on the aquatic macrofauna of a European Mediterranean-climate estuary. Sci. Total Environ. 503–504, 9. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.020

González-Ortegón, E., Drake, P., 2012. Effects of freshwater inputs on the lower trophic levels of a temperate estuary: physical, physiological or trophic forcing? Aquat. Sci. 74, 455–469. https://doi.org/10.1007/s00027-011-0240-5

González-Ortegón, E., Laiz, I., Sánchez-Quiles, D., Cobelo-Garcia, A., Tovar-Sánchez, A., 2019. Trace metal characterization and fluxes from the Guadiana, Tinto-Odiel and Guadalquivir estuaries to the Gulf of Cadiz. Sci. Total Environ. 650, 2454–2466. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.290

González-Ortegón, E., Subida, M.D., Cuesta, J.A., Arias, A.M., Fernández-Delgado, C., Drake, P., 2010. The impact of extreme turbidity events on the nursery function of a temperate European estuary with regulated freshwater inflow. Estuar. Coast. Shelf Sci. 87, 311–324. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2010.01.013

Goossens, H., Zwolsman, J.J.G., 1996. An evaluation of the behaviour of pollutants during dredging activities. Terra Aqua 62, 20–28.

Haynes, D., Johnson, J.E., 2000. Organochlorine, heavy metal and polyaromatic hydrocarbon pollutant concentrations in the Great Barrier Reef (Australia) environment: A review. Mar. Pollut. Bull. 41, 267–278. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00134-X

Henson S. A, Sarmiento J. L, Dunne J. P. *et al.* (2010) Detection of anthropogenic climate change in satellite records of ocean chlorophyll and productivity. Biogeosciences, 7, 621–640.

Hoffmann, E., Dolmer, P., 2000. Effect of closed areas on distribution of fish and epibenthos. ICES J. Mar. Sci. 57, 1310–1314. https://doi.org/10.1006/jmsc.2000.0921

Irigoien, X., y Castel, J. (1997). Light Limitation and Distribution of Chlorophyll Pigments in a Highly Turbid Estuary : the Gironde (SW France ). Estuarine, Coastal and Shelf Science, 44, 507–517.

Jabusch, T., Melwani, A., Ridolfi, K., Connor, M., 2008. Effects of Short-term Water Quality Impacts Due to Dredging and Disposal on Sensitive Fish Species in San Francisco Bay. San Fr. Estuary Inst. US Army Corps Eng. San Fr. Dist. Thomas.

Jezierska, B., Ługowska, K., Witeska, M., 2009. The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). Fish Physiol. Biochem. 35, 625–640. https://doi.org/10.1007/s10695-008-9284-4

Jones, R., Bessell-Browne, P., Fisher, R., Klonowski, W., Slivkoff, M., 2016. Assessing the impacts of sediments from dredging on corals. Mar. Pollut. Bull. 102, 9–29. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.10.049

Jones-Lee, A., Lee, G.F., 2005. Water Quality Aspects of Dredged Sediment Management. Water Encycl. https://doi.org/10.1002/047147844x.wq1507

Kjelland, M.E., Woodley, C.M., Swannack, T.M., Smith, D.L., 2015. A review of the potential effects of suspended sediment on fishes: potential dredging-related physiological, behavioral, and transgenerational implications. Environ. Syst. Decis. 35, 334–350. https://doi.org/10.1007/s10669-015-9557-2

Lavolpe, M., López Greco, L., Kesselman, D., Rodríguez, E., 2004. Differential toxicity of copper, zinc, and lead during the embryonic development of Chasmagnathus granulatus (Brachyura, varunidae). Environ. Toxicol. Chem. 23, 960–967. https://doi.org/10.1897/02-645

Lenth, R., 2018. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means.

Losada, M.A., Díez-Minguito, M., Reyes-Merlo, M.A., 2017. Tidal-fluvial interaction in the Guadalquivir River Estuary: Spatial and frequency-dependent response of currents and water levels. J. Geophys. Res. Ocean. 122, 847–865. https://doi.org/10.1002/2016JC012264.Received

Maddock, J.E.L., Carvalho, M.F., Santelli, R.E., Machado, W., 2007. Contaminant metal behaviour during re-suspension of sulphidic estuarine sediments. Water. Air. Soil Pollut. 181, 193–200. https://doi.org/10.1007/s11270-006-9290-z

Magris, R.A., Ban, N.C., 2019. A meta-analysis reveals global patterns of sediment effects on marine biodiversity. Glob. Ecol. Biogeogr. 28, 1879–1898. https://doi.org/10.1111/geb.12990

Mainstone, C.P., Parr, W., 2002. Phosphorus in rivers - Ecology and management. Sci. Total Environ. 282–283, 25–47. https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00937-8 Martin, T.R., Holdich, D.M., 1986. The acute lethal toxicity of heavy metals to peracarid crustaceans (with particular reference to fresh-water asellids and gammarids). Water Res. 20, 1137–1147. https://doi.org/10.1016/0043-1354(86)90060-6

Mendiguchía, C., Moreno, C., García, M., 2007. Evaluation of natural and anthropogenic influences on the Guadalquivir River ( Spain ) by dissolved heavy metals and nutrients. Chemosphere 69, 1509–1517. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.082

Miró, J.M., Megina, C., Donázar-Aramendía, Í., Reyes-Martínez, M.J., Sánchez-Moyano, E., García-Gómez, J.C., 2020. Environmental factors affecting the nursery function for fish in the main estuaries of the Gulf of Cadiz (south-west Iberian Peninsula). Sci. Total Environ. 737, 139614. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139614

Ohata, R., Masuda, R., Ueno, M., Fukunishi, Y., Yamashita, Y., 2011. Effects of turbidity on survival of larval ayu and red sea bream exposed to predation by jack mackerel and moon jellyfish. Fish. Sci. 77, 207–215. https://doi.org/10.1007/s12562-010-0320-9

R Core Team, 2018. A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing. https://www.R-project.org/.

Rainbow, P.S., 2007. Trace metal bioaccumulation: Models, metabolic availability and toxicity. Environ. Int. 33, 576–582. https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.007

Reine, K., Clarke, D., 1998. Entrainment by hydraulic dredges – A review of potential impacts. DOER Tech. Note Collect. 1–14.

Reine, K.J., Clarke, D., Dickerson, C., 2014. Characterization of underwater sounds produced by hydraulic and mechanical dredging operations. J. Acoust. Soc. Am. 135, 3280–3294. https://doi.org/10.1121/1.4875712

Reine, K.J., Dickerson, D.D., Clarke, D.G., 1998. Environmental win- dows associated with dredging operations. U.S. Army Corps Eng. Eng. Res. Dev. Center, Vicksburg, MS, Tech. Note DOER-E1 1–14.

Riba, I., DelValls, T.A., Forja, J.M., Gómez-Parra, A., 2002. Influence of the Aznalcóllar mining spill on the vertical distribution of heavy metals in sediments from the Guadalquivir estuary (SW Spain). Mar. Pollut. Bull. 44, 39–47. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00171-0

Ruiz, J., Macías, D., Losada, M. A., Díez-Minguito, M. y Prieto, L. (2013) A simple biogeochemical model for estuaries with high sediment loads: Application to the Guadalquivir River (SW Iberia). Ecological Modelling, 265, 194–206

Ruiz, J., Polo, M.J., Díez-Minguito, M., Navarro, G., Morris, E.P., Huertas, E., Caballero,

I., Contreras, E., Losada, M.A., 2015. The Guadalquivir Estuary: A Hot Spot for Environmental and Human Conflicts, in: Environmental Management and Governance. Coastal Research Library. pp. 199–232. https://doi.org/10.1007/978-3-319-06305-8

Schlitzer R. (2016) Ocean Data View. Alfred Wegener Institute, Bremerhaven, Germany. https://odv.awi.de/

Simonini, R., Ansaloni, I., Cavallini, F., Graziosi, F., Iotti, M., Massamba N'Siala, G., Mauri, M., Montanari, G., Preti, M., Prevedelli, D., 2005. Effects of long-term dumping of harbordredged material on macrozoobenthos at four disposal sites along the Emilia-Romagna coast (Northern Adriatic Sea, Italy). Mar. Pollut. Bull. 50, 1595–1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.031

Tornero, V., Arias, A.M., Blasco, J., 2011. Following the Aznalcóllar toxic spill. Environ. Res. 111, 1033–1036. https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.07.011

Tornero, V., Arias, A.M., Blasco, J., 2014. Trace element contamination in the Guadalquivir River Estuary ten years after the Aznalcóllar mine spill. Mar. Pollut. Bull. 86, 349–360. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.044

Van Den Berg, G.A., Meijers, G.G.A., Van Der Heijdt, L.M., Zwolsman, J.J.G., 2001. Dredging-related mobilisation of trace metals: A case study in The Netherlands. Water Res. 35, 1979–1986. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00452-8

Vannéy, J.R. (1970). L'hydrologie du bas Guadalquivir. Instituto de Geografía Aplicada del Patronato "Alonso de Herrera", Madrid, 174 pp.

Wenger, A.S., Harvey, E., Wilson, S., Rawson, C., Newman, S.J., Clarke, D., Saunders, B.J., Browne, N., Travers, M.J., Mcilwain, J.L., Erftemeijer, P.L.A., Hobbs, J.P.A., Mclean, D., Depczynski, M., Evans, R.D., 2017. A critical analysis of the direct effects of dredging on fish. Fish Fish. 1–19. https://doi.org/10.1111/faf.12218

Wenger, A.S., Rawson, C.A., Wilson, S., Newman, S.J., Travers, M.J., Atkinson, S., Browne, N., Clarke, D., Depczynski, M., Erftemeijer, P.L.A., Evans, R.D., Hobbs, J.P.A., McIlwain, J.L., McLean, D.L., Saunders, B.J., Harvey, E., 2018. Management strategies to minimize the dredging impacts of coastal development on fish and fisheries. Conserv. Lett. 11, 1–10. <u>https://doi.org/10.1111/conl.12572</u>.

# 4. ANEXOS 1 y 2.

Contents lists available at ScienceDirect





## Marine Pollution Bulletin

journal homepage: www.elsevier.com/locate/marpolbul

## Environmental consequences of dredged-material disposal in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain



I. Donázar-Aramendía<sup>a,\*</sup>, J.E. Sánchez-Moyano<sup>b</sup>, I. García-Asencio<sup>b</sup>, J.M. Miró<sup>a</sup>, C. Megina<sup>c</sup>, J.C. García-Gómez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area., Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain

<sup>b</sup> Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain

<sup>c</sup> Biodiversidad y Ecología Acuática, Seville Aquarium R+D+I Biological Research Area, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain

#### ARTICLE INFO

Keywords: Disposal Toxicity Trace metals Biomagnification Bioaccumulation Guadalquivir

#### ABSTRACT

In this study we assessed the effects of the recurrent disposal of dredged material from the Guadalquivir estuary (south-western Spain) in a marine disposal area. We analysed shifts in sediment characteristics as well as bioaccumulation and biomagnification of heavy metals through the benthic food web. Results showed that the significant increase in concentration of some heavy metals observed in the marine disposal area after the latest disposal event could be attributed to the deposition of river-dredged sediments. This increase could also explain the decreased amphipod survival in the ecotoxicology analysis. Heavy metal concentrations in organisms indicated some bioaccumulation in deposit feeders and predators but with no clear patterns nor biomagnification through the food web. Hence, combining studies that monitor shifts in sediment characteristics and their possible consequences for the food web seems to be an interesting approach that should be assessed further in this type of studies.

#### 1. Introduction

Dredging activities are especially undertaken in navigable estuaries to maintain security in navigation (OSPAR, 2008; Bates et al., 2015). Subsequent direct disposal of the dredged material in open waters is still a priority management option (Harvey et al., 1998; Katsiaras et al., 2015). These activities can modify the physicochemical, biochemical and biological properties of the ecosystem (Bolam, 2012; Guerra et al., 2009). Therefore, dredging and disposal are serious environmental concerns in coastal management (Marmin et al., 2016; Moog et al., 2015; Van Dolah et al., 1984).

The rapid development of urban and industrial areas on rivers and coasts in the past century has posed serious environmental contaminants into estuaries (Bárcena et al., 2017). Most contaminants accumulate in the sediments, which act as a repository and a resource of pollutants for the water column (Souza et al., 2015). Heavy metals represent substances of special interest due to their durability in the system (Nicolau et al., 2006). Thus, heavy metal pollution has become a major issue in estuarine environments (Buruaem et al., 2012) due to their potential toxicity and tendency to bioaccumulate (Bárcena et al., 2017). Slight changes in the water and sediment conditions, such as those that occur in dredging and disposal operations, may modify the mobility and bioavailability of metals (Cesar et al., 2014; Guerra et al., 2009; Katsiaras et al., 2015; Wilber et al., 2007). As a consequence, those released contaminants can concentrate and be biomagnified in marine organisms in the food chain (Roberts and Forrest, 1999). Dumping of dredged material may also cause increases in water column turbidity, change organic matter and change the sediment structure, which are some of the main impacts to the benthic environment (Cesar et al., 2014; OSPAR, 2008). Therefore, monitoring is highly necessary in dredging and dumping activities, especially when the option chosen is the deposition of dredged material in a marine site (Bocchetti et al., 2008).

In this study we assess the effect of the recurrent disposal of dredged material from the Guadalquivir estuary (south-western Spain) in a marine disposal area. This estuary, through a 90 km long navigation channel, is the entrance to Seville harbour, the only inland harbour on the Iberian Peninsula. Every few years it is necessary to perform maintenance dredging works to ensure navigability (Díez-Minguito, 2012). Part of the sediment dredged along the channel is disposed in an

\* Corresponding author.

E-mail address: idonazar@us.es (I. Donázar-Aramendía).

https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111736

Received 29 July 2019; Received in revised form 28 August 2020; Accepted 30 September 2020 Available online 16 October 2020

0025-326X/ © 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

authorised marine disposal area established in 2010. Sediment in the estuary has been receiving historic metal contamination for centuries, and in April 1998 a toxic mining spill was accidentally discharged into the estuary (Tornero et al., 2014). Although there are systematic contamination controls carried out in these operations, there is a potential impact in the marine disposal area. The recurrence of a potential anthropogenic disturbance in time is also an important factor too (Glasby and Underwood, 1996; Villnäs et al., 2013). Every event of sediment disposal after dredging operations can be considered a short-term or 'pulse' disturbance (Glasby and Underwood, 1996). The repetition of these events could generate a series of short-term responses in the sediment characteristics, followed by a recovery (to some extent) and convergence to a previous state, a permanent change or a combination of these two processes (Underwood, 1994).

The divergent results obtained in disposal impact studies have made it necessary to evaluate environmental effects case by case (Bolam et al., 2006; Bolam and Rees, 2003; Donázar-Aramendía et al., 2018a; Harvey et al., 1998; Katsiaras et al., 2015; OSPAR, 2008; Simonini et al., 2005). Moreover, bioaccumulation and ecotoxicology assessments for different species is one of the procedures of increasing importance in monitoring programmes of sediment disposal (Marmin et al., 2014). The effects of bioaccumulation of heavy metals through the food web have been little studied. In this context, the aim of this study was (i) to assess the effect of the dredged material disposal on the physical and chemical characteristics of the sediment and water column, (ii) to determine the variation of heavy-metal concentrations and (iii) to analyse their toxicity and bioaccumulation within the food web. We hypothesise that the discharge of estuarine sediment constitutes a pulse disturbance having a short-term effect on the characteristics of the sediment, and the recurrence of this pulse effect will lead to a permanent change. Also, the remobilisation of contaminants would have increased the metal contamination and toxicity, and these metals would have accumulated in the food web.

#### 2. Methods

#### 2.1. Study area

This historic marine disposal area is described by Donázar-Aramendía et al. (2018a). Briefly, the disposal area is situated five miles offshore in an open water area off the river mouth of the Guadalquivir estuary, south-western Spain (Fig. 1). The disposal area has a rectangular shape with a surface area of 662,571 m<sup>2</sup>. The bottom is 20 m in depth with sediments composed principally of fine sand and mud (Usero et al., 2008). The seafloor is influenced by terrigenous inputs of the Guadalquivir River and the hydrodynamic conditions of the Gulf of Cádiz, with predominantly west-to-east currents (Sainz and Ruiz, 2006). These features give the surrounding areas similar sedimentary characteristics and biological communities (Fa et al., 2003; Gonzalez and Dias, 2004). This disposal area has been receiving dredged material from harbours and the Guadalquivir estuary in four events (2010: 338,652 m<sup>3</sup>; 2011: 353,488 m<sup>3</sup>; 2013: 354,795 m<sup>3</sup>; and present study in August 2015: 314,275 m<sup>3</sup>), (data from Autoridad Portuaria de Sevilla).

#### 2.2. Sampling design

In total, three sampling surveys were carried out: once before disposal (July 2015 to test the previous effects of the recurrent disposals), and twice more afterwards (October 2015, and August 2016, to analyse the effects of this latest perturbation on the system). Three sampling areas were established in the same environment: one within the marine disposal area (DA) and two controls located approximately three miles from the affected area ( $C_1$  and  $C_2$ ) (Fig. 1). Controls were located at the same depth in a similar area with equal hydrological and geomorphic characteristics (Sainz and Ruiz, 2006). Distances between controls and the disposal area were selected to avoid any possible impacts, indeed

previous studies have demonstrated that there are not influence from the disposal operation in the control areas (Donázar-Aramendía et al., 2018a) (Fig. 1).

At each control and disposal area, three samples were taken randomly for sediment analysis with a van Veen grab  $(0.15 \text{ m}^2 \text{ total sampling area})$ . Grain size distribution was measured as percentages of 100 g of dry sediment graded through a sieve net (5 mm, 2 mm, 1 mm, 0.5 mm, 0.250 mm, 0.125 mm, 0.063 mm). Particulate organic matter (POM) was determined by calculating the weight difference between the dry sediment sample of three replicates (at 60 °C until dried weight stabilisation) and after combustion (500 °C for 4 h). Apparent redox potential was measured by a pH meter (WTW pH 1970i) with SenTix ORP electrode. Water turbidity was analysed with a multiparametric probe through all the water column (Eureka Manta 2).

For the heavy metal and trace element concentration analysis (As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sr, V, Zn), another three samples per area were taken from the uppermost 2 cm of the surface. In the laboratory, sediment samples were air-dried, crushed and sieved though a 2 mm sieve and then ground to < 60  $\mu$ m. These samples were digested with aqua regia (1:3 conc. HNO<sub>3</sub>/HCl) in a microwave digester. Quantification of elements in the extracts was achieved using a VARIAN ICP 720-ES (simultaneous ICP-OES with axially viewed plasma). The accuracy of the analytical methods was assessed through a reference soil sample from the Wageningen Evaluating Programs for Analytical Laboratories for soils, International Soil-analytical Exchange (WEPAL; ISE).

The pollution load index (PLI) was calculated as an estimate of the overall sediment contamination and permits a comparison of pollution between sites at different times (Angulo, 1996; Ghosh et al., 2018). This index is widely used to assess the pollution in soil and dust (Zhang et al., 2018 and citations therein). It was firstly proposed by Tomlinson et al. (1980) by calculating the concentration factor, defined as the ratio of the actual content of a given heavy metal with respect to the background value. The PLI for a set of n polluting metals is defined as the geometric mean of the concentration factor values for the n metals. This index was calculated through the concentrations of As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn. Regional background values were established by Carretero et al. (2011) for Doñana National Park to the silty clayey sediment of the Holocene geological record:

#### $P_{Li=\sqrt[n]{C_{F1}\times C_{F2}\times C_{F3}\times....\times C_{Fn}}}$

The index of geoaccumulation (Igeo) proposed by Müller (1979) has been used as a relative measure of metal pollution in sediments for As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn. This index is calculated by the ratio of log<sub>2</sub>(heavy-metal concentration) in sediment to 1.5 times background metal concentration: Igeo =  $\log_2(Cn/1.5 \times Bn)$ , where Cn is the concentration of the element n, and Bn is the background concentration data of that element. Background levels were those of Carretero et al. (2011). Following Müller (1979), the index values were divided into seven groups: unpolluted (Igeo  $\leq 0$ ); very low polluted ( $0 \leq Igeo \leq 1$ ); low polluted ( $1 \leq Igeo \leq 2$ ); moderately polluted ( $2 \leq Igeo \leq 3$ ); heavily polluted ( $3 \leq Igeo \leq 4$ ); very heavily polluted ( $4 \leq Igeo \leq 5$ ) and extremely polluted (Igeo > 5).

For toxicity analysis, a ten-day static sediment toxicity test was conducted with the amphipod *Ampelisca brevicornis* (Costa, 1853), (Riba et al., 2003; Rodríguez-Romero et al., 2016). Toxicity tests with amphipods has been demonstrated as a useful tool for sediment quality assessment (Riba et al., 2003) and is frequently corresponded with benthic ecological response (Long et al., 2001). *A. brevicornis* has been widely used in the Atlantic coast for pollution sediment assessment (Riba et al., 2004) and the standard ten-day bioassays can be used for dredged material characterisation (Casado-Martinez et al., 2007). Indeed, Spanish legislation 'RDL 79/2019, 22 de febrero' adopts the Interministerial Commission on Marine Strategies in dredged material management and urges the use of this amphipod bioassay for sediment assessment in some cases (Rodríguez-Romero et al., 2016). Amphipod



Fig. 1. Location of the disposal and control areas.

test were conducted according to Rodríguez-Romero et al. (2013 and citations therein). Briefly: Test organisms were collected from a clean intertidal zone by sieving the sediments through a 0.5 mm mesh. The amphipods were transported to the laboratory and placed in a 20 L tank with filtered sea water and native sediment and acclimated for 7 days. In this stage, organisms were gradually acclimated with constant aeration (1 °C/day) to the test temperature (22 °C), with natural photoperiod. Tests were conducted in 2 L tanks containing 200 mL of sediment previously sieved through a 1 mm mesh, and 800 mL of overlying water. After the sediment was deposited, aeration was provided, and after 24 h, 20 individuals were added per replicate. The tests included five replicates per area plus five additional replicates for control with clean sediment from the zone of origin of the amphipods. After 10 days the full tank was sieved and the survivors counted. Some authors consider that when the percentage survival is less than 70% and the survival in the control is over 90% the sediment is considered toxic (Casado-Martinez et al., 2007).

For the analysis of carbon and nitrogen isotopes and heavy metals from the biota, fauna was collected in three surveys with a van Veen grab ( $0.05 \text{ m}^2$ ) and an epibenthic sledge ( $46 \times 25 \text{ cm}$ , 2.5 mm net mesh size). The number of samples was enough to obtain a representative number of species of the benthic community (Donázar-Aramendía et al., 2018a). All samples were sieved through a 0.5 mm mesh sieve and organisms were sorted by species, transferred to the laboratory in refrigerated containers and kept alive for 24 h to evacuate their gut content. In order to determine the isotopic composition of sediment organic matter (SOM), sediment was taken from the upper 2 cm of the van Veen grab sample. In the laboratory, species identification was confirmed and fauna were rinsed in distilled water.

Organisms were dried at 60  $^{\circ}$ C for at least 48 h and ground to a powder. For the heavy-metal analysis, individuals of the same species were separated and 0.3 g of each dried sample was processed using the same procedure as used for the sediment.

Muscle tissue samples of fish and molluscs were dissected. A pool of

several organisms was used when the individuals had low biomass values (< 0.3 mg dry weight). Sediment samples were acidified with 0.1 M HCl to remove carbonates, and were then oven-dried at 60 °C. Subsamples of powdered materials were weighed to the nearest 0.3 mg and placed into tin capsules for  $\delta$  <sup>13</sup>C and  $\delta$  <sup>15</sup>N determinations. All samples were combusted at 1020 °C using a continuous-flow isotope ratio mass spectrometry system by means of a Flash HT Plus elemental analyser coupled to a Delta-V Advantage isotope ratio mass spectrometer via a CONFLO IV interface (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany).

#### 2.3. Data analysis

To assess graphically the effect of the disposal on water turbidity, a generalised additive mixed model (GAMM) was fitted using three random replicates per area and date. Predictions of the model were represented graphically with the Ocean Data View (ODV) software (Schlitzer, 2019) to observe the temporal variations.

To examine the effects of the disposal in the study area, a permutational univariate analysis of variance (PERMANOVA) (Anderson, 2001) was performed, based on Euclidean similarity matrixes of each sedimentary variable using 9999 permutations. When the total number of possible permutations to obtain the *p*-values were low (< 150) we used the estimate obtained by Monte Carlo sampling (Anderson and Robinson, 2003). The experimental design included two crossed fixed factors: 'Impact vs Control' with two levels (the potentially impacted area and control areas); and 'Time' with two levels (before and after the latest disposal event). The design also included two random factors: 'Area' nested within 'Impact vs Control', with three levels (DA, C1, C2); and the sampling dates 'Dates' nested within 'Time', with three levels (Jul 15, Oct 15 and Aug 16). For trace metal concentration a PERMA-NOVA multivariate analysis of variance was also performed based on the Euclidean distance matrix of the concentrations of selected trace metals according to Tornero and Hanke (2016) in dredged material disposal assessment: As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn. This multivariate analysis was followed by a univariate analysis of each metal, with the same experimental design and methodology.

According to a Before After Control Impact (BACI) design, if the disposal has an impact, the disposal area will change over time from 'before' to 'after' with a different pattern when compared to control areas (C1 and C2). This difference can be detected as a significant 'Impact vs Control'  $\times$  'Time' interaction (Guerra et al., 2009). Also, the control areas should not show differences between them. In this sense, it is important to notice that the factor 'Area' is nested within 'Impact vs Control' and, given the asymmetric design of this study, this terms only estimate the variance between the two control areas (Anderson et al., 2008). As reported by Donázar-Aramendía et al. (2018a), when the saturated model (with all explained terms included in the model) generated negative estimates of some components of variation (this indicates that the model in turn is a poor one, according to Anderson et al., 2008), model selection was performed by excluding the affected terms, one by one, beginning with those of higher order (interactions), and provided that their *p*-values were higher than 0.25 (Anderson et al., 2008). Following this process with all the analyses performed here (both the multivariate and the univariate PERMANOVA), the factor 'Area' and its interactions with 'Dates' and with 'Time' were excluded from all models; hence, there were no differences between the control areas in any case. Significant interactions, if detected, were explored further in separate analyses, within the levels of the interacting factors; i.e., the significant interactions between 'Impact vs Control' and 'Dates' were further analysed separately by disposal area and control areas.

To test temporal and spatial variation of heavy-metal concentration in the three areas over all sampling dates, a principal component analysis (PCA) was also applied. All the analyses were carried out in IBM SPSS for Windows and PRIMER v 6.0 software (Clarke and Gorley, 2006). To assess the bioaccumulation of trace metals in organisms, the bioaccumulation factor (BF) was calculated based on Negri et al. (2006). It was calculated by the ratio between the metal concentration in the organisms and that in the sediments. Organisms were grouped in trophic groups because it was not possible to find same species across all areas and dates. Bioaccumulation was considered when bioaccumulation factor were greater than 1 (Trevizani et al., 2016).

To test biomagnification of trace metals over the food web, linear regression models were used to examine the relationship between metal concentrations and trophic position of species. To estimate consumer trophic position in the disposal area and in the controls, we applied a novel Bayesian approach using the package 'tRophicPosition' in R (Quezada-Romegialli et al., 2018). This combines Markov Chain Monte Carlo Simulation with stable isotope data. This approach includes the variability of the baseline isotope values and the trophic discrimination factor, which is an advantage with respect to the classic approaches to estimate trophic position (Hetherington et al., 2018). We used isotope values of the sediment as baseline trophic position of consumers in the disposal area and in a combination of the two control areas since they did not show differences between them and numbers of species found were low. This package implements a Bayesian model:

$$\delta^{15}N_{consumer} = \delta^{15}N_{baseline} + \text{TDF}(\text{TP} - \lambda)$$

where  $\lambda$  is the baseline trophic level and TDF is the trophic discrimination factor from Post (2002). Posterior modes of trophic position were extracted and linear models calculated to test the relationship between trophic position and metal concentrations of the studied species. Metal concentrations were log-transformed.

### 3. Results

Water turbidity assessments did not show any temporal or spatial pattern (Fig. 2.).

Sediment analysis values showed that the disposal area had lower percentage of fines (the fraction smaller than 0.063 mm) than the control areas at all the sampling dates (Fig. 3). Univariate PERMANOVA analysis showed significantly (p < 0.01) higher POM and percentage of fines in controls than in the disposal area (Table 1). Also, there was no difference in these parameters between the two control areas despite the distance between them. In addition, there were no significant interactions between the factors 'Impact vs Control' and 'Time'.

On the other hand, the control areas showed generally higher heavy-metal concentrations than did the disposal area (Fig. 3). Control areas showed similar heavy-metal concentrations across all sampling dates (Fig. 3). In contrast, in October 2015, the disposal area showed an increase in heavy-metal concentration, which remained at the same level in August 2016 (Fig. 3). Only Hg showed no clear spatial or temporal patterns.

Heavy-metal concentration did not show significant differences between the two control areas at any sampling date. Moreover, As, Cd, and Hg concentrations did not show significant differences between the disposal and control areas. Multivariate PERMANOVA results of trace metal concentrations, as well as univariate analysis for PLI, Cr, Cu, Ni, Pb, and Zn showed a significant 'Impact vs Control'  $\times$  'Time' interaction (Table S1). Concentrations of these metals increased in October 2015, one month after the prompt disposal of 2015, while in the control areas they remained at the same preoperational levels (Fig. 3). In August 2016, most metal concentrations were at the same levels as in October 2015 in the disposal area (Fig. 3). PERMANOVA analysis of separated samples of the interacting factors showed significant differences before and after the prompt disposal in the disposal area and no differences in the controls for the multivariate analysis, PLI, Cr, Pb and Zn. Although concentrations of Cu and Ni showed significant differences before and after the prompt disposal both in disposal and control areas, the tendencies were different.



Fig. 2. Patterns of variation of water turbidity NTU (Nephelometric Turbidity Units) in the three areas (DA: Disposal area, C1: Control1, C2: Control 2) across the sampling dates.

 $\rm I_{geo}$  for all the metals analysed showed at all the sampled points and periods an unpolluted and very low polluted sediment ( $\rm I_{geo}<0$  and  $\rm I_{geo}<1$ ). PCA analysis, based on all sediment parameters, is plotted in Fig. 4. Although both control areas were several miles apart, they presented very similar environmental characteristics and were different from the disposal area. However, after the disposal of the dredged material in summer 2015 there was a homogenisation between the disposal area and the two control areas. PC1 axis accounted for 62.0% of the variation in the data; most variability from this axis could be attributed to heavy-metal concentrations according to eigenvector values. PC2 explained 11.9% of the variation, which was based mainly on grain size characteristics and Hg concentration.

#### 3.1. Ecotoxicological analysis

Survival percentages of the ecotoxicological analysis were expressed with respect to the percentage of survival of the controls (100%). Results showed different percentages of survival in the different areas across all periods (Fig. 5). Before disposal, there was lower sediment toxicity in the disposal area than in the two control areas. After the disposal, toxicity in the disposal area increased and reached the levels of the control areas, which presented lower toxicity than before the disposal. In the final survey, a year after the disposal operations, survival was similar in the three areas and reached more than 80%.

### 3.2. Metal concentrations in organisms

Since a certain biomass of organisms is necessary to analyse metal concentration, only the most abundant were taken for this purpose: the polychaetes *Sternaspis scutata* (Ranzani, 1817), *Nephtys hombergii* (Savigny in Lamarck, 1818) and *Glycera tesselata* (Grube, 1863), the echinoderms *Oestergrenia digitata* (Montagu, 1815) and *Amphiura chiajei* (Forbes, 1843), the tanaid *Apseudopsis latreillii* (Milne Edwards, 1828), the decapods *Diogenes pugilator* (P. Roux, 1829), *Upogebia tipica* (Nardo, 1869) and *Goneplax rhomboides* (Linnaeus, 1758), the mollusc *Turritella turbona* (Monterosato, 1877) and a fish species of the family Gobidae.


Fig. 3. Patterns of variation of some variables of the sediment in the three areas (DA: Disposal area, C1: Control1, C2: Control 2) across the sampling dates. Vertical bars represent ± standard error.

Organisms were classified according to these trophic groups: predator and deposit feeders.

Bioaccumulation of As, Cd, Cu, Hg, Sr and Zn was detected, and concentration levels and bioaccumulation are shown in Table 2. Concentration of As in organisms ranged from 3.86 to  $63.19 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . The lowest metal concentration was found in predators in control areas in August 2016 (3.86 mg·kg<sup>-1</sup>) and the highest in deposit feeders in July 2015 in the three areas (42.75 mg·kg<sup>-1</sup> in DA to  $63.19 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  in C2).

Generally, predators showed lower values than deposit feeders. Bioaccumulation of As was observed in deposit feeders in all areas at all dates sampled except in October 2015 in the disposal area. In predators, bioaccumulation was observed only in October 2015, both in control and in disposal areas.

The concentration of Cd ranged from 0.05 to  $1.39 \text{ mg·kg}^{-1}$ . The lowest values were observed in predators in C1 at the three sampling dates and the highest in deposit feeders in the control areas in July

Univariate PERMANOVA results in the studied areas based on the Euclidian distanced matrix of the sediment variables. \*p estimation obtained by Monte Carlo sampling.

	df	MS	Pseudo-F	p	Unique perms
Dadam					
Impact vs control	1	2 7202	2 00F - 03	0.0572	0845
Time	1	2.7393 4 94E + 04	2.901-03	0.9372	2043
Datas (tima)	1	$4.04E \pm 04$	122 79	0.0249	0941
Impact vs control × time	1	$1.17E \pm 0.03$	123.70 2.1EE 02	0.0001	9041
Rec	22	$2.03E \pm 00$	2.15E-03	0.9622	9835
Total	22	944.93			
Total	20				
Turbidity					
Impact vs control	1	44.754	0.18982	0.6731	9849
Time	1	185.36	0.11833	0.7894*	3
Dates (time)	1	1732.8	7.3493	0.0061	9850
Impact vs control $\times$ time	1	8.1214	3.44E - 02	0.8592	9847
Res	22	235.77			
Total	26				
Organia mattar					
Impact va control	1	62 707	14 105	0.0015	0947
Time	1	02.707	14.195 2.41E 02	0.0015	9047
Dates (time)	1	26 622	8 2004	0.9010	0945
Impact vs control × time	1	1 025 02	0.2904 4 14E 02	0.0007	0021
	22	1.03E - 02	4.14E - 03	0.9300	9031
Total	22	4.4170			
Total	20				
Percentage of fines					
Impact vs control	1	3302.8	11.27	0.0053	9844
Time	1	31.504	0.92826	0.3501*	3
Dates (time)	1	1.55E + 00	5.29E - 03	0.9464	9836
Impact vs control $\times$ time	1	41.652	0.14213	0.7183	9857
Res	22	293.05			
Total	26				



**Fig. 4.** Outcome of PCA analysis for the three areas (DA: Disposal area, C1: Control1, C2: Control 2) using the sediment variables before (B) and after (A) the prompt disposal in summer 2015.

2015. Bioaccumulation was detected in deposit feeders in the three areas in July 2015 but not in predators. In October 2015 all trophic groups showed bioaccumulation in the three areas.

Values of Cu concentration ranged from 6.89 to  $185.44 \text{ mg} \text{kg}^{-1}$ . The highest concentration levels were detected in deposit feeders in the three areas in October 2015. Predators in the disposal area also showed higher values compared to those in the controls at all sampling dates. Bioaccumulation factor were also higher in October 2015 in deposit feeders of the three areas. In the disposal area, predators showed bioaccumulation of Cu at all sampling dates similar to deposit feeders except in July 2015. In contrast, in the controls predators never showed bioaccumulation.



Fig. 5. Results of the toxicity test of the sediment of the three areas (DA: Disposal area, C1: Control1, C2: Control 2) at all sampling dates.

The highest concentrations of Hg were found in October 2015 in the three areas. In predators this concentration was higher than in deposit feeders, reaching values of  $5.04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  in the disposal area. In July 2015 these values were lower and became undetectable in August 2016. Both deposit feeders and predators showed bioaccumulation in October 2015 in all three areas.

Sr concentrations ranged from 100.71 to 1625.78  $mg kg^{-1}$ . Values were always higher in deposit feeders than in predators, except predators in the disposal area, which also showed high concentration compared to the other areas in August 2016. The highest bioaccumulations factor was found in deposit feeders in the disposal area at the three sampling dates.

A higher concentration of Zn was detected in October 2015 in all areas except in the deposit feeders of the disposal area. Bioaccumulation was always detected for Zn in all the trophic groups in the three areas except in one control area in July and August. Highest bioaccumulation factor was detected in predators in the disposal area in October 2015. In the other sampling dates bioaccumulation factor were also higher in the disposal area than in the control areas.

#### 3.3. Trophic position

Trophic position was calculated at all sampling dates since there were insufficient species found to adjust the linear models. In the disposal area, the highest trophic position was detected in *U. tipica* and *G. tesselata*. In control areas the highest levels were shown by *O. digitata*, Gobidae and *N. hombergii*.

Linear models only detected a positive significant relationship between trophic position and metal concentration for Zn in the disposal area (estimate = 3.685, std. = 1.457, t = 2.529, p = 0.0299).

#### 4. Discussion

Our results confirm that a single disposal event may constitute a pulse disturbance for some environmental variables, but it may have a longer temporal extent for some others (increases in the concentrations of some trace metals). These disturbances repeated recurrently can impose a permanent change for variables, such as sediment grain size, which have consequences for other characteristics of the sediment and for the biological community. Several studies assessing the impacts of dredged material disposal in marine environments have determined that their effects are mostly site-specific (Donázar-Aramendía et al.,

Mean values of trace metal concentration  $(mg kg^{-1})$  in sediment and organisms grouped in trophic guilds. Bold letters indicate bioaccumulation factor > 1 in organisms. Missing values indicate absence of species or insufficient biomass.

	Before			After										
	Jul 15			Oct 15				Aug 16						
	C1	C2	DA	C1	C2	DA	C1	C2	DA					
Sedimen	t													
As	12.44	11.30	9.48	14.65	14.10	11.88	14.14	14.12	11.01					
Cd	0.19	0.18	0.17	0.19	0.18	0.21	0.22	0.21	0.23					
Co	8.19	8.62	5.98	8.19	8.72	8.04	8.61	7.98	7.95					
Cr	46.57	48.14	19.51	46.87	48.09	34.52	46.15	43.40	32.94					
Cu	47.63	46.52	18.13	42.87	43.14	29.22	45.93	46.09	31.66					
Hg	0.15	0.11	0.10	0.05	0.00	0.01	0.07	0.38	0.23					
Ni	25.14	25.51	12.59	24.14	25.10	19.86	24.03	23.18	19.27					
Pb	33.17	33.36	17.74	33.71	34.03	25.73	30.81	30.11	23.25					
Sr	262.80	273.67	186.36	278.70	286.87	254.98	300.80	299.16	331.33					
V	61.90	65.92	29.02	66.75	67.72	49.70	71.68	67.70	52.69					
Zn	99.84	97.28	58.67	96.39	96.42	75.51	101.92	101.09	78.98					
Deposit	feeders													
As	43.11	63.19	42.75	19.79	21.86	9.14	18.83	17.75	13.20					
Cd	1.26	1.39	0.64	0.45	0.60	0.28	0.38	0.31	0.21					
Со	6.18	10.67	3.61	4.91	6.78	0.85	3.25	2.49	1.59					
Cr	20.20	22.15	6.70	8.49	10.50	3.20	11.82	7.50	2.93					
Cu	32.36	35.07	14.74	168.84	185.44	118.33	76.45	56.01	72.26					
Hg	0.11	0.22	0.18	0.93	1.35	0.57	0.25	0.27	0.00					
Ni	15.27	19.36	7.75	8.48	10.93	2.54	10.49	6.94	3.59					
Pb	18.25	22.43	7.66	11.56	12.24	2.19	15.33	9.53	4.43					
Sr	252.29	301.40	782.18	1128.74	1098.26	1147.94	1053.09	1084.30	1625.78					
V	22.42	24.33	8.81	12.53	15.73	4.36	13.32	10.75	5.82					
Zn	110.53	106.43	84.73	145.42	220.86	92.10	98.28	113.62	91.87					
Predator	S													
	4.94			33.62	20.32	15.49	3.87	3.86	8.90					
As	0.13			0.21	0.21	0.49	0.05	1.04	0.23					
Cd	0.40			1.20	0.78	0.99	0.16	-0.00	0.71					
Со	3.01			2.83	3.88	4.04	2.86	5.39	1.76					
Cr	6.89			25.35	29.60	70.72	10.36	29.37	108.38					
Cu	0.14			1.78	2.69	5.04	0.24	0.00	0.00					
Hg	1.66			2.43	2.07	1.88	2.19	3.71	1.59					
Ni	2.96			3.24	3.54	2.10	2.85	5.82	1.17					
Pb	326.53			297.71	280.36	616.14	458.24	727.04	1145.52					
Sr	3.82			3.57	4.74	3.40	4.26	8.99	2.79					
V	75.23			182.34	150.47	181.49	84.59	119.52	114.83					

2018a; Marmin et al., 2014; OSPAR, 2008). Moreover, there have been few studies focusing on the impact of disposal events in an ongoing disposal area which are still active (Bolam et al., 2011 and citations therein). Here we assessed both the effects of recurrent disposals in an active marine disposal area and the effects of a prompt deposition on sediment characteristics and their implications for the food web. There are various factors that may modulate the impact of disposals, such as the amount of sediment deposited and the season, water depth, hydrodynamics and the similarity of the dredged material to the native sediment (Marmin et al., 2014; Powilleit et al., 2006).

In fact, the main effects of dredged material disposal involve physicochemical disturbances in (i) the water column and (ii) the sea bed (Ceia et al., 2013).

In some studies, physicochemical effects on the water column due to dredged material disposal have been reported (Simboura et al., 2007). One of the main impacts resulting from disposal is the increase in turbidity, which can lead to changed metabolic rates of filter feeders and reduce larval recruitment and growth (Witt et al., 2004). A punctual effect (or pulse disturbance) necessarily occurs immediately after disposal, but in the first sampling time after the disposal (one month after the last disposal event), turbidity levels measured were within the range occurring naturally in this zone (it must be considered that it is within the influence area of a highly turbid estuary). An important variable to determine the potential impact of an increase in turbidity is, other than the level reached, the duration of the event (Kjelland et al., 2015). In

accordance with our results, Fredette and French (2004) reported that water-column impacts are minimal and short-term and could be comparable to natural processes (OSPAR, 2008). Hence, disturbances that affect macrofaunal communities are more related to the physicochemical characteristics of the sediment (OSPAR, 2008).

On the other hand, literature reviewed in OSPAR (2008), assessed that one of the main effects of disposal operations is changes in sediment structure, which may adversely affect organisms. This habitat alteration is due mainly to the deposition of fine-grained sediment. This agrees with more recent studies, which have found similar significant changes to finer grains (Katsiaras et al., 2015). Conversely, Simonini et al. (2005) and Smith and Rule (2001) found no influence on grain size, Cruz-Motta and Collins (2004) found that although an increase in the coarse material in a disposal area was registered just after disposal, the main matrix of fine material was maintained. Harvey et al. (1998) found similar patterns after disposal; an increase in coarser sediment with more organic content than the natural bottom sediment was detected but differences decreased with time back to the natural conditions. In contrast, Vivan et al. (2009) found a shift in grain size to more coarse sediment in the first month after disposal. Munari and Mistri (2014) also found a change in the particle sizes of sediment from siltyclayey to sandy. In Spain, legislation encourages the selection of disposal areas with similar grain size characteristics to that of the dredged material extracted (Buceta et al., 2015). A close match between grain size distribution of the dredged material and the native sediments has been reported to be an important factor in the ecological impacts of disposal operations (Wilber et al., 2007). Our results showed that the marine disposal area bottom is characterised by fine sand at all samples and there was no variation with time, although there was a high variability in the sediment characteristics of the disposal area, which indicates a higher degree of patchiness in this area. This grain size composition is normal for open-water zones situated off the mouth of large estuaries and influenced by the terrigenous inputs of the river (Gray and Elliott, 2009). However, differences in grain size distribution and POM between the disposal area and the two control areas were found. While the two control areas had greater fines and POM content. the disposal area had more sand and lower POM. The Guadalquivir estuary is one of the principal exporters of dissolved organic matter in the Gulf of Cádiz (González-Ortegón et al., 2018); this agrees with results found in the controls, which would receive the fine fraction from the estuary and have higher concentrations than in the disposal area. Moreover, this shows that the sediments deposited in the disposal area had been dredged in the estuary from areas with some different sediment characteristics from those of the receptor area. Indeed, Donázar-Aramendía et al. (2018b) reported values of percentage of fines in the dredging area of the Guadalquivir estuary of 37.65  $\pm$  46.39, which showed the high variability in the bottom of the estuary. Given the continuous influence of Guadalquivir river discharge, the natural trend of this disposal area would be to homogenise with the surrounding environment, but the recurrence of disposal operation maintains a permanent difference. The prompt disposal in summer 2015 did not constitute any additional change in the physical characteristics of the disposal area.

Several studies have found shifts in the chemical characteristics of sediment due to variations in heavy-metal concentrations (Bolam et al., 2011; Katsiaras et al., 2015; Stronkhorst et al., 2003). The last authors found changes depending on the trace metal analysed. Others, such as Roberts and Forrest (1999), did not find significant changes, or they found little indication of an impact on the disposal area (OSPAR, 2008). The significant increase in some heavy-metal concentrations observed in an area after disposal agree with these results and could be attributed to the deposition of river-dredged sediments with a higher concentration of those metals. In fact, González-Ortegón et al. (2019) suggested a high concentration of Cu and Ni due to the influence of the intense agriculture in the Guadalquivir river basin. In the study mentioned above (Donázar-Aramendía et al., 2018b), the authors found the values of trace metals in the dredged area of the Guadalquivir: As:  $5.80 \pm 0.79 \, \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $\pm$  0.12 mg kg<sup>-1</sup>, 4.06  $\pm$  0.54 mg kg<sup>-1</sup>, 8.70  $\pm$  1.5  $0.13 \pm 0.12 \,\mathrm{mg \cdot kg^{-1}}$ Cd: Cr:  $7.81 \pm 0.70 \,\mathrm{mg \cdot kg^{-1}},$ Cu: Hg:  $8.70 \pm 1.59 \,\mathrm{mg \cdot kg^{-1}},$  $0.22 \pm 0.19 \,\mathrm{mg} \,\mathrm{kg}^{-1}$ Ni: Pb:  $16.13 \pm 1.36 \text{ mg} \text{kg}^{-1}$ , Zn:  $35.33 \pm 4.63 \text{ mg} \text{kg}^{-1}$ . These values are similar or slightly lower than those found in the disposal area, which may indicate an accumulation of these metals because of repeated disposal events over the years. Moreover, these increases remained for one year for some metals, which may be seen as a more 'press-like' disturbance.

In spite of this, concentrations of heavy metals were never higher in the disposal area than in the two control areas. The higher levels of heavy-metal concentration found in the control areas could be due to the fact that heavy metals potentially show an affinity for mud particles and are accumulated where fine-grained sediments are present (George et al., 2007). Evidence of this process can be found in a wide variety of marine systems and localities (Boldrin et al., 1989; and references therein). Metal concentrations in the continental shelf of this area are explained by the contribution of the Tinto-Odiel, Guadiana and, mainly, the Guadalquivir estuary (González-Ortegón et al., 2019).

Levels of toxic metal concentration in all samples were similar to those found by Usero et al. (2008) in the Gulf of Cádiz and by Tornero et al. (2014) in the Guadalquivir. In this sense, according to Ruiz (2001) the base levels obtained in the Gulf of Cádiz,  $I_{geo}$  for Cr, Pb and Zn, showed 'unpolluted' sediment at all sampling periods and areas, and for

Cu showed a 'very low pollution' in the two control areas.

Dauvin (2008) pointed out that the use of the amphipod toxicity test in European waters has to increase, since those tests have been more widely applied in estuarine habitats of North America or New Zealand rather than in Europe. Bioassays have showed different results when assessing the toxicity of dredging and disposal operations. For example, in Guerra et al. (2009), Stronkhorst et al. (2003), Bolam et al. (2011) and Roberts and Forrest (1999) there were no effects on amphipod survival in their toxicity tests; meanwhile in Cesar et al. (2014), bioassays suggested that the disposal of dredged material altered sediment quality and the toxicity was related to metal contamination. Organisms in disposal areas usually showed high resilience to perturbations (Bolam et al., 2011; Bolam and Rees, 2003). However, different chemical contents in disposed dredge sediments could impact the macrofaunal community, weakening their survival, reproduction and recruitment processes, due to the mobility and bioavailability of toxic heavy metals (Guerra et al., 2009; Katsiaras et al., 2015). Previous studies in the same area had found that the disposal area did not show an increase in the abundance of some species observed in control areas (Donázar-Aramendía et al., 2018a). The increase in the toxicity of the sediment after the prompt disposal in summer 2015 in the disposal area was attributed presumably to an increase in hazardous metal concentration. In preoperational samples, toxicity trials with sediment from the control areas showed a lower survival in amphipods than those with sediment from the disposal area, while after the prompt disposal the survival rates homogenised. This increase in the apparent toxicity in the disposal area was consistent with the observed increase in the concentration of some metals. In the final samples from August 2016, a universal increase in survival was observed; we do not have a clear explanation for this result, which could be related either to the condition of the experimental amphipods in their natural habitats or to some uncontrolled variable during experimentation. However, the environmental conditions and the treatments were equal for both control and disposal areas, and again there were no differences in survival between disposal and control areas, in contrast to preoperational trials.

Assessment of benthic condition is vital in monitoring programmes, since trace metals and other contaminants accumulate in marine sediment and may lead to an impact on the environment (Parnell et al., 2008). Macrofauna from benthic habitats are sensitive to sediment quality and make up a group in which different trophic strategies are present (Parnell et al., 2008; Gamito and Furtado, 2009). Several studies focusing on programmes monitoring bioaccumulation of pollutants in organisms have used few suspension feeding species such as clam cockles and mussels (Martín-Díaz et al., 2005). However, organisms which feed directly on the sediment may reflect more accurately the sediment toxicity. Macrofauna trophic structure includes different trophic levels of both prey and predator species. Moreover, since they are in an intermediate position in the food web, they may constitute a significant pathway for bioaccumulation and biomagnification of pollutants (Costa-Dias et al., 2010). Thus, contaminants can concentrate in their tissues and be transported up the food web (Parnell et al., 2008).

In this study we used a multispecies approach, with a measure of the trophic position of these species. However, a major issue when analysing metal content in organisms is that a relatively high biomass of each species is necessary, which was difficult to find in all the areas and dates. Despite of the low amount of data of trace metal concentration, mostly in predators, some conclusions may be extracted. We found bioaccumulation of some heavy metals in deposit feeders. As, Cd, Hg, Sr and Zn were identifiable in the organisms in all areas, both before and after the disposal of summer 2015. Only copper was accumulated specifically after the disposal, but in all areas. On the other hand, predators showed bioaccumulation of the same metals but without a clear pattern, sometimes only in the disposal area and in one control. Only Zn and Hg were present in all areas after the disposal. Bioaccumulation of Cu was seen only in the disposal area after the disposal of summer 2015, at high concentration compared to the

organisms in the control areas. These patterns suggest that the bioaccumulation found both in the disposal area and in the controls is due mainly to metal transportation from the main rivers into the Gulf of Cádiz (González-Ortegón et al., 2019), rather than being an effect of the prompt disposal. In other studies, bioaccumulation found after a disposal event were low and/or returned to levels at the reference site after the operations; Stronkhorst et al. (2003) found bioaccumulation of Hg and Zn in starfish at the disposal site but at not more than twice the levels of those at the reference site. Bocchetti et al. (2008) and Fredette and French (2004) used suspension feeders as bioindicators of pollutant bioavailability after a disposal event. In both studies the low bioaccumulation of trace metals found returned to preoperational levels.

To our knowledge there have been few studies analysing biomagnification in dredging or disposal events. Our results showed that there were no patterns of biomagnification through the food web. We only found a significant relationship between the log-transformed concentration of zinc and the trophic position of the species in the disposal area. Thus, this could indicate an effect in the disposal area where these pollutants are amplified in the system. However, the low number of species found in this area with enough biomass to analyse both stable isotopes and trace metals makes more exhaustive research necessary. These results agree with Dauvin (2008), who found no biomagnification of Cd, Cu, Pb or Zn at any level of an estuarine food web. Conversely, in other studies, authors have found biomagnification of Hg in the estuarine food web (Coelho et al., 2013). These authors also pointed out that the age of the organisms or the time of exposure to the contaminants are important factors in these studies. This would explain the absence of patterns, being due to the relatively short lifetime of the macrofauna (Compton et al., 2017).

The historical depositions of dredged sediment from the Guadalquivir estuary in the disposal area constitute pulse disturbances which, accumulated in time, have permanently modified the sediment characteristics (present study) and the biological communities (Donázar-Aramendía et al., 2018a). These modifications include a transformation to a coarser grain size in the disposal area compared to the reference areas. The coarser sediment has led to lower organic matter content and trace metal concentrations. The prompt disposal in summer 2015 increased significantly the concentration of some trace metals, which remained at the same level one year after the deposition. This increase in heavy metal content was reflected in the increase in toxicity of the sediment. In spite of these modifications, the same bioaccumulation patterns found in organisms in the disposal and control areas showed that the bioaccumulation seems to have an origin in the metals transported by the principal estuaries in the Gulf of Cádiz. The unique relationship between the zinc concentration and the trophic position of the organisms in the disposal area, which was absent in the controls, may indicate an impact that necessitates further research. Bioaccumulation analysis and ecotoxicology for different species are procedures with increasing importance in programmes monitoring sediment disposal (Marmin et al., 2014). Moreover, our results showed that in this type of disposal areas it is necessary space in time the disposal and to permit certain grade of recovery. Otherwise, these pulse disturbances repeated without enough recovery time may lead to permanent changes with consequences to the physicochemical characteristics of the sediments which in turn would affect all the biological community. In spite of this the perturbation generates by the disposal over the year is localized and seems not to have consequences to the environment around it. As suggested by Donázar-Aramendía et al. (2018a, 2018b), the site-specific characteristics of these impacts make it necessary to continue investigating this topic, incorporating new approaches. For example, understanding food webs would allow better knowledge of bioaccumulation and biomagnification (Pasquaud et al., 2007).

#### CRediT authorship contribution statement

The authors contributed equally in designing the study. I.D., J.E.S., I.G, C.M. and J.M. performed the research. I.D., C.M. and J.C. analysed the data. I.D. and J.E.S.M. wrote the first manuscript and all authors contributed substantially to revisions.

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111736.

#### Declaration of competing interest

The authors declare no competing financial and/or non financial interests.

#### Acknowledgments

We thank the Autoridad Portuaria de Sevilla (APS) and the Acuario de Sevilla for financial and logistical support. This work was partially supported by the V Plan Propio Universidad de Sevilla via two predoctoral grants (I. Donázar-Aramendía, J.M. Miró). Isotopic analyses were carried out at the Laboratorio de Isótopos Estables of the Estación Biológica de Doñana (LIE-EBD, Spain; www.ebd.csic.es/lie/index. html). We thank Dr. Craig Layman for his invaluable help with stable isotope interpretation

#### References

- Anderson, M.J., 2001. Permutation tests for univariate or multivariate analysis of variance and regression. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 58, 626–639. https://doi.org/10.1139/ f01-004.
- Anderson, M.J., Robinson, J., 2003. Generalized discriminant analysis based on distances. Aust. New Zeal. J. Stat. 45, 301–318.
- Anderson, M., Gorley, R.N., Clarke, K., 2008. PERMANOVA+ for Primer: Guide to Software and Statistical Methods. Primer-E, Plymouth.
- Angulo, E., 1996. The Tomlinson pollution load index applied to heavy metal, "musselwatch" data: a useful index to assess coastal pollution. Sci. Total Environ. 187, 19–56. https://doi.org/10.1016/0048-9697(96)05128-5.
- Bárcena, J.F., Claramunt, I., García-Alba, J., Pérez, M.L., García, A., 2017. A method to assess the evolution and recovery of heavy metal pollution in estuarine sediments: past history, present situation and future perspectives. Mar. Pollut. Bull. 124, 421–434. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.07.070.
- Bates, M.E., Fox-Lent, C., Seymour, L., Wender, B.a., Linkov, I., 2015. Life cycle assessment for dredged sediment placement strategies. Sci. Total Environ. 511, 309–318. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.003.
- Bocchetti, R., Fattorini, D., Pisanelli, B., Macchia, S., Oliviero, L., Pilato, F., Pellegrini, D., Regoli, F., 2008. Contaminant accumulation and biomarker responses in caged mussels, Mytilus galloprovincialis, to evaluate bioavailability and toxicological effects of remobilized chemicals during dredging and disposal operations in harbour areas. Aquat. Toxicol. 89, 257–266. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.07.011.
- Bolam, S.G., 2012. Impacts of dredged material disposal on macrobenthic invertebrate communities: a comparison of structural and functional (secondary production) changes at disposal sites around England and Wales. Mar. Pollut. Bull. 64, 2199–2210. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.07.050.
- Bolam, S.G., Rees, H.L., 2003. Minimizing impacts of maintenance dredged material disposal in the coastal environment: a habitat approach. Environ. Manag. 32, 171–188. https://doi.org/10.1007/s00267-003-2998-2.
- Bolam, S.G., Rees, H.L., Somerfield, P., Smith, R., Clarke, K.R., Warwick, R.M., Atkins, M., Garnacho, E., 2006. Ecological consequences of dredged material disposal in the marine environment: a holistic assessment of activities around the England and Wales coastline. Mar. Pollut. Bull. 52, 415–426. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005. 09.028.
- Bolam, S.G., Barry, J., Bolam, T., Mason, C., Rumney, H.S., Thain, J.E., Law, R.J., 2011. Impacts of maintenance dredged material disposal on macrobenthic structure and secondary productivity. Mar. Pollut. Bull. 62, 2230–2245. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2011.04.012.
- Boldrin, A., Jurac'ić, M., Menegazzo Vitturi, L., Rabitti, S., Rampazzo, G., 1989. Geochemical considerations on trace element distributions in suspended matter and sediments at the river-sea interface, Adige River mouth, northern Adriatic sea. Appl. Geochem. 4, 409–421. https://doi.org/10.1016/0883-2927(89)90016-4.
- Buceta, J.L., Lloret, A., Antequera, M., Obispo, R., Sierra, J., Martínez-Gil, M., 2015. Nuevo marco para la caracterización y clasificación del material dragado en España. RIBAGUA - Rev. Iberoam. del Agua 2, 105–115. https://doi.org/10.1016/j.riba.2015. 11.001.
- Buruaem, L.M., Hortellani, M.A., Sarkis, J.E., Costa-Lotufo, L.V., Abessa, D.M.S., 2012. Contamination of port zone sediments by metals from large marine ecosystems of Brazil. Mar. Pollut. Bull. 64, 479–488. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.01. 017.

- Carretero, M.I., Pozo, M., Ruiz, F., Rodríguez Vidal, J., Cáceres, L.M., Abad, M., Muñoz, J.M., Gómez, F., Campos, J.M., González-Regalado, M.L., Olías, M., 2011. Trace elements in Holocene sediments of the southern Doñana National Park (SW Spain): historical pollution and applications. Environ. Earth Sci. 64, 1215–1223. https://doi. org/10.1007/s12665-011-0936-9.
- Casado-Martinez, M.C., Forja, J.M., DelValls, T.A., 2007. Direct comparison of amphipod sensitivities to dredged sediments from Spanish ports. Chemosphere 68, 677–685. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.01.077.
- Ceia, F.R., Patrício, J., Franco, J., Pinto, R., Fernández-Boo, S., Losi, V., Marques, J.C., Neto, J.M., 2013. Assessment of estuarine macrobenthic assemblages and ecological quality status at a dredging site in a southern Europe estuary. Ocean Coast. Manag. 72, 80–92. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2011.07.009.
- Cesar, A., Lia, L.R.B., Pereira, C.D.S., Santos, A.R., Cortez, F.S., Choueri, R.B., De Orte, M.R., Rachid, B.R.F., 2014. Environmental assessment of dredged sediment in the major Latin American seaport (Santos, Sa&tild;o Paulo - Brazil): an integrated approach. Sci. Total Environ. 497–498, 679–687. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv. 2014.08.037.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N., 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. Prim. Plymouth UKhttps://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x. 192 p.
- Coelho, J.P., Mieiro, C.L., Pereira, E., Duarte, a.C., Pardal, M.a., 2013. Mercury biomagnification in a contaminated estuary food web: effects of age and trophic position using stable isotope analyses. Mar. Pollut. Bull. 69, 110–115. https://doi.org/10. 1016/j.marpolbul.2013.01.021.
- Compton, T.J., Holthuijsen, S., Mulder, M., van Arkel, M., Schaars, L.K., Koolhaas, A., Dekinga, A., ten Horn, J., Luttikhuizen, P.C., van der Meer, J., Piersma, T., van der Veer, H.W., 2017. Shifting baselines in the Ems Dollard estuary: a comparison across three decades reveals changing benthic communities. J. Sea Res. 127, 119–132. https://doi.org/10.1016/j.seares.2017.06.014.
- Costa-Dias, S., Freitas, V., Sousa, R., Antunes, C., 2010. Factors influencing epibenthic assemblages in the Minho Estuary (NW Iberian Peninsula). Mar. Pollut. Bull. 61, 240–246. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.02.020.
- Cruz-Motta, J.J., Collins, J., 2004. Impacts of dredged material disposal on a tropical softbottom benthic assemblage. Mar. Pollut. Bull. 48, 270–280. https://doi.org/10.1016/ j.marpolbul.2003.08.002.
- Dauvin, J.-C., 2008. Effects of heavy metal contamination on the macrobenthic fauna in estuaries: the case of the Seine estuary. Mar. Pollut. Bull. 57, 160–169. https://doi. org/10.1016/j.marpolbul.2007.10.012.
- Díez-Minguito, M., 2012. Tidal wave reflection from the closure dam in the Guadalquivir Estuary (Sw Spain). Coast. Eng. Proc. 1–8.
- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018a. Impact of dredged-material disposal on soft-bottom communities in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain. Mar. Environ. Res. 139, 64–78. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.05. 010.
- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018b. Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): a BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats. Mar. Environ. Res. 140, 455–467. https://doi.org/10.1016/j.marenvres. 2018.07.012.
- Fa, D., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asensio, I., García-Gómez, J., Finlayson, C., Sheader, M., 2003. A comparative study of the marine ecoregions of the southern Iberian Peninsula, as identified from different coastal habitats. Boletín del Inst. Español Oceanogr. 19, 135–147.
- Fredette, T.J., French, G.T., 2004. Understanding the physical and environmental consequences of dredged material disposal: history in New England and current perspectives. Mar. Pollut. Bull. 49, 93–102. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004. 01.014.
- Gamito, S., Furtado, R., 2009. Feeding diversity in macroinvertebrate communities: a contribution to estimate the ecological status in shallow waters. Ecol. Indic. 9, 1009–1019. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2008.11.012.
- George, D.A., Hill, P.S., Milligan, T.G., 2007. Flocculation, heavy metals (Cu, Pb, Zn) and the sand-mud transition on the Adriatic continental shelf, Italy. Cont. Shelf Res. 27, 475–488. https://doi.org/10.1016/j.csr.2005.06.013.
- Ghosh, S., Rabha, R., Chowdhury, M., Padhy, P.K., 2018. Source and chemical species characterization of PM10 and human health risk assessment of semi-urban, urban and industrial areas of West Bengal, India. Chemosphere 207, 626–636. https://doi.org/ 10.1016/j.chemosphere.2018.05.133.
- Glasby, T.M., Underwood, A.J., 1996. Sampling to differentiate between pulse and press perturbations. Environ. Monit. Assess 42, 241–252. https://doi.org/10.1007/ BF00414371.
- Gonzalez, R., Dias, J.M.A., 2004. Sediment dispersal patterns on the northern Gulf of Cadiz shelf: which areas are influenced by anthropogenic sand starvation? J. Coast. Res. SI 39, 446–449.
- González-Ortegón, E., Amaral, V., Baldó, F., Sánchez-Leal, R.F., Bellanco, M.J., Jiménez, M.P., Forja, J., Vilas, C., Tovar-Sanchez, A., 2018. Sources and coastal distribution of dissolved organic matter in the Gulf of Cadiz. Sci. Total Environ. 630, 1583–1595. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.293.
- González-Ortegón, E., Laiz, I., Sánchez-quiles, D., Cobelo-garcia, A., Tovar-sánchez, A., 2019. Trace metal characterization and fl uxes from the Guadiana, Tinto-Odiel and Guadalquivir estuaries to the Gulf of Cadiz. Sci. Total Environ. 650, 2454–2466. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.290.

Gray, Stuart J., Elliott, M., 2009. Ecology of Marine Sediments: From Science to Management.

Guerra, R., Pasteris, A., Ponti, M., 2009. Impacts of maintenance channel dredging in a northern Adriatic coastal lagoon. I: effects on sediment properties, contamination and toxicity. Estuar. Coast. Shelf Sci. 85, 134–142. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2009. 05.021.

- Harvey, M., Gauthier, D., Munro, J., 1998. Temporal changes in the composition and abundance of the macro-benthic invertebrate communities at dredged material disposal sites in the Anseh Beaufils, Baie des Chaleurs, Eastern Canada. Mar. Pollut. Bull. 36, 41–55. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(98)90031-5.
- Hetherington, E.D., Seminoff, J.A., Dutton, P.H., Robison, L.C., Popp, B.N., Kurle, C.M., 2018. Long-term trends in the foraging ecology and habitat use of an endangered species: an isotopic perspective. Oecologia 188, 1273–1285. https://doi.org/10. 1007/s00442-018-4279-z.
- Katsiaras, N., Simboura, N., Tsangaris, C., Hatzianestis, I., Pavlidou, a., Kapsimalis, V., 2015. Impacts of dredged-material disposal on the coastal soft-bottom macrofauna, Saronikos Gulf, Greece. Sci. Total Environ. 508, 320–330. https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2014.11.085.
- Kjelland, M.E., Woodley, C.M., Swannack, T.M., Smith, D.L., 2015. A review of the potential effects of suspended sediment on fishes: potential dredging-related physiological, behavioral, and transgenerational implications. Environ. Syst. Decis. 35, 334–350. https://doi.org/10.1007/s10669-015-9557-2.
- Long, E.R., Hong, C.B., Severn, C.G., 2001. Relationships between acute sediment toxicity in laboratory tests and abundance and diversity of benthic infauna in marine sediments: a review. Environ. Toxicol. Chem. 20, 46–60. https://doi.org/10.1002/etc. 5620200105.
- Marmin, S., Dauvin, J.-C., Lesueur, P., 2014. Collaborative approach for the management of harbour-dredged sediment in the Bay of Seine (France). Ocean Coast. Manag. 102, 328–339. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2014.10.012.
- Marmin, S., Lesueur, P., Dauvin, J.C., Samson, S., Tournier, P., Gallicher Lavanne, A., Dubrulle-Brunaud, C., Thouroude, C., 2016. An experimental study on dredge spoil of estuarine sediments in the bay of seine (France): a morphosedimentary assessment. Cont. Shelf Res. 116, 89–102. https://doi.org/10.1016/j.csr.2016.01.010.
- Martín-Díaz, M.L., Blasco, J., González De Canales, M., Sales, D., DelValls, T.Á., 2005. Bioaccumulation and toxicity of dissolved heavy metals from the Guadalquivir Estuary after the Aznalcóllar mining spill using Ruditapes philippinarum. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 48, 233–241. https://doi.org/10.1007/s00244-003-9202-9.
- Moog, O., Stubauer, I., Haimann, M., Habersack, H., Leitner, P., 2015. Effects of harbour excavating and dredged sediment disposal on the benthic invertebrate fauna of River Danube (Austria). Hydrobiologia. https://doi.org/10.1007/s10750-015-2476-x.
- Müller, G., 1979. Schwermetallen in den Redimen des rheins. Umschau 79, 778–783. Munari, C., Mistri, M., 2014. Spatio-temporal pattern of community development in dredged material used for habitat enhancement: a study case in a brackish lagoon. Mar. Pollut. Bull. 89, 340–347. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.09.039.
- Negri, A., Burns, K., Boyle, S., Brinkman, D., Webster, N., 2006. Contamination in sediments, bivalves and sponges of McMurdo Sound, Antarctica. Environ. Pollut. 143, 456–467. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.12.005.
- Nicolau, R., Galera-Cunha, A., Lucas, Y., 2006. Transfer of nutrients and labile metals from the continent to the sea by a small Mediterranean river. Chemosphere 63, 469–476. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.08.025.
- OSPAR, 2008. Literature Review on the Impacts of Dredged Sediment Disposal at Sea OSPAR Commission, Review Literature and Arts of the Americas.
- Parnell, Ed P., Groce, A.K., Stebbins, T.D., Dayton, P.K., 2008. Discriminating sources of PCB contamination in fish on the coastal shelf off San Diego, California (USA). Mar. Pollut. Bull. 56, 1992–2002. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.08.023.
- Pasquaud, S., Lobry, J., Elie, P., 2007. Facing the necessity of describing estuarine ecosystems: a review of food web ecology study techniques. Hydrobiologia 588, 159–172. https://doi.org/10.1007/s10750-007-0660-3.
- Post, D.M., 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methos, and assumptions. Ecology 83, 703–718. https://doi.org/10.2307/3071875.
- Powilleit, M., Kleine, J., Leuchs, H., 2006. Impacts of experimental dredged material disposal on a shallow, sublittoral macrofauna community in Mecklenburg Bay (western Baltic Sea). Mar. Pollut. Bull. 52, 386–396. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2005.09.037.
- Quezada-Romegialli, C., Jackson, A.L., Hayden, B., Kahilainen, K.K., Lopes, C., Harrod, C., 2018. tRophicPosition, an r package for the Bayesian estimation of trophic position from consumer stable isotope ratios. Methods Ecol. Evol. 9, 1592–1599. https:// doi.org/10.1111/2041-210X.13009.
- Riba, I., DelValls, T.A., Forja, J.M., Gómez-Parra, A., 2003. Comparative toxicity of contaminated sediment from a mining spill using two amphipods species: Corophium volutator (Pallas, 1776) and Ampelisca brevicornis (A. Costa, 1853). Bull. Environ. Contam. Toxicol. https://doi.org/10.1007/s00128-003-8878-x.
- Riba, I., Casado-Martínez, C., Forja, J.M., Del Valls, A., 2004. Sediment quality in the Atlantic Coast of Spain. Environ. Toxicol. Chem. 23, 271–282. https://doi.org/10. 1897/03-146.
- Roberts, R.D., Forrest, B.M., 1999. Minimal impact from long-term dredge spoil disposal at a dispersive site in Tasman Bay, New Zealand. New Zeal. J. Mar. Freshw. Res. 33, 623–633. https://doi.org/10.1080/00288330.1999.9516905.
- Rodríguez-Romero, A., Khosrovyan, A., Del Valls, T.A., Obispo, R., Serrano, F., Conradi, M., Riba, I., 2013. Several benthic species can be used interchangeably in integrated sediment quality assessment. Ecotoxicol. Environ. Saf. 92, 281–288. https://doi.org/ 10.1016/j.ecoenv.2013.02.015.
- Rodríguez-Romero, A., Khosrovyan, A., DelValls, T.A., Riba, I., 2016. Dredged material characterization and management frameworks: a case study at the port Vilagarcia (NW, Spain). J. Hazard. Mater. 302, 129–136. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat. 2015.09.034.
- Ruiz, F., 2001. Trace metals in estuarine sediments from the southwestern Spanish coast. Mar. Pollut. Bull. 42, 482–490.
- Sainz, A., Ruiz, F., 2006. Influence of the very polluted inputs of the Tinto-Odiel system on the adjacent littoral sediments of southwestern Spain: a statistical approach.

Chemosphere 62, 1612–1622. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.06.045. Schlitzer, R., 2019. Ocean Data View.

- Simboura, N., Papathanassiou, E., Sakellariou, D., 2007. The use of a biotic index (Bentix) in assessing long-term effects of dumping coarse metalliferous waste on soft bottom benthic communities. Ecol. Indic. 7, 164–180. https://doi.org/10.1016/j.ecolind. 2005.11.006.
- Simonini, R., Ansaloni, I., Cavallini, F., Graziosi, F., Iotti, M., Massamba N'Siala, G., Mauri, M., Montanari, G., Preti, M., Prevedelli, D., 2005. Effects of long-term dumping of harbor-dredged material on macrozoobenthos at four disposal sites along the Emilia-Romagna coast (Northern Adriatic Sea, Italy). Mar. Pollut. Bull. 50, 1595–1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.031.
- Smith, S.D.A., Rule, M.J., 2001. The effects of dredge-spoil dumping on a shallow water soft-sediment community in the Solitary Islands Marine Park, NSW, Australia. Mar. Pollut. Bull. 42, 1040–1048. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00059-5.
- Souza, I.S. de, Araujo, G.S. de, Cruz, A.C.F., Fonseca, T.G., Camargo, J.B.D.A. de, Medeiros, G.F., Abessa, D.M. de S., 2015. Using and integrated approach to assess the sediment quality of an estuary from the semi-arid coast of Brazil. Mar. Pollut. Bull. 104, 70–82. https://doi.org/10.1017/CB09781107415324.004.
- Stronkhorst, J., Ariese, F., Van Hattum, B., Postma, J.F., De Kluijver, M., Den Besten, P.J., Bergman, M.J.N., Daan, R., Murk, A.J., Vethaak, A.D., 2003. Environmental impact and recovery at two dumping sites for dredged material in the North Sea. Environ. Pollut. 124, 17–31. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00430-X.
- Tomlinson, D.L., Wilson, J.G., Harris, C.R., Jeffrey, D.W., 1980. Problems in the assessment of heavy-metal levels in estuaries and the formation of a pollution index. Helgoländer Meeresuntersuchungen 33, 566–575. https://doi.org/10.1007/ BF02414780.
- Tornero, V., Hanke, G., 2016. Chemical contaminants entering the marine environment from sea-based sources: a review with a focus on European seas. Mar. Pollut. Bull. 112, 17–38. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.091.
- Tornero, V., Arias, A.M., Blasco, J., 2014. Trace element contamination in the Guadalquivir River Estuary ten years after the Aznalcóllar mine spill. Mar. Pollut. Bull. 86, 349–360. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.044.

- Trevizani, T.H., Figueira, R.C.L., Ribeiro, A.P., Theophilo, C.Y.S., Majer, A.P., Petti, M.A.V., Corbisier, T.N., Montone, R.C., 2016. Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms and sediments from Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. Mar. Pollut. Bull. 106, 366–371. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.02.056.
- Underwood, A.J., 1994. On Beyond BACI : Sampling Designs that Might Reliably Detect Environmental Disturbances Author (s): A. J. Underwood Published by : Ecological Society of America Stable URL: http://www.jstor.org/stable/1942110. on beyond baci : sampling designs that. Ecol. Appl. 4, 3–15. https://doi.org/10.2307/1942110.
- Usero, J., Morillo, J., El Bakouri, H., 2008. A general integrated ecotoxicological method for marine sediment quality assessment: application to sediments from littoral ecosystems on Southern Spain's Atlantic coast. Mar. Pollut. Bull. 56, 2027–2036. https:// doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.08.009.
- Van Dolah, R.F., Calder, D.R., Knott, D.M., 1984. Effects of dredging and open-water disposal on benthic macroinvertebrates in a South Carolina Estuary. Estuaries 7, 28–37. https://doi.org/10.2307/1351954.
- Villnäs, A., Norkko, J., Hietanen, S., Josefson, A.B., Lukkari, K., Norkko, A., 2013. he role of recurrent disturbances for ecosystem multifunctionality. Ecology 94, 2275–2287. https://doi.org/10.1890/12-1716.1.
- Vivan, J.M., Di Domenico, M., de Almeida, T.C.M., 2009. Effects of dredged material disposal on benthic macrofauna near Itajaí Harbour (Santa Catarina, South Brazil). Ecol. Eng. 35, 1435–1443. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.06.005.
- Wilber, D.H., Clarke, D.G., Rees, S.I., 2007. Responses of benthic macroinvertebrates to thin-layer disposal of dredged material in Mississippi Sound, USA. Mar. Pollut. Bull. 54, 42–52. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.08.042.
- Witt, J., Schroeder, A., Knust, R., Arntz, W.E., 2004. The impact of harbour sludge disposal on benthic macrofauna communities in the Weser estuary. Helgol. Mar. Res. 58, 117–128. https://doi.org/10.1007/s10152-004-0177-3.
- Zhang, Y., Li, S., Chen, Z., Wang, F., Chen, J., Wang, L., 2018. A systemic ecological risk assessment based on spatial distribution and source apportionment in the abandoned lead acid battery plant zone, China. J. Hazard. Mater. 354, 170–179. https://doi.org/ 10.1016/j.jhazmat.2018.04.054.

Contents lists available at ScienceDirect







journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv

# Environmental factors affecting the nursery function for fish in the main estuaries of the Gulf of Cadiz (south-west Iberian Peninsula)



J.M. Miró<sup>a,\*</sup>, C. Megina<sup>b</sup>, I. Donázar-Aramendía<sup>a</sup>, M.J. Reyes-Martínez<sup>c</sup>, J.E. Sánchez-Moyano<sup>d</sup>, J.C. García-Gómez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain

<sup>b</sup> Biodiversidad y Ecología Acuática, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain

Instituto Universitario de Investigación Marina (INMAR), University of Cádiz, Puerto Real, Cádiz, Spain

<sup>d</sup> Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain

#### HIGHLIGHTS

#### GRAPHICAL ABSTRACT

- Different freshwater inputs strongly change environmental properties of estuaries.
- Estuaries with salinity gradient have higher densities of early life stages of fish.
- Low freshwater input limits the function of estuaries as nursery ground.
- Organic matter in Guadalquivir supports the highest densities of aquatic macrofauna.
- Recurrent jellyfish blooms alter pelagic community and functioning of estuaries.

#### ARTICLE INFO

Article history: Received 24 February 2020 Received in revised form 30 April 2020 Accepted 19 May 2020 Available online 27 May 2020

Editor: Daniel Wunderlin

Keywords: Estuary Freshwater input Salinity gradient Organic matter Nursery function Early life stages of fish



#### ABSTRACT

Hydrological, geomorphological, physicochemical and biological factors influence the nursery function of estuaries. Our study compared the environmental conditions and the assemblages of early life stages of fish in the main four estuaries of the Gulf of Cadiz (Cadiz Bay, Guadalquivir, Odiel-Tinto and Guadiana). Samples were taken within each estuary and on their adjacent coast, during the dry-warm seasons of 2016, 2017 and 2018. Results showed that rivers with smaller basins had a very low freshwater input and their estuaries, Odiel-Tinto and Cadiz Bay, were essentially sea extensions into the land, containing similar physicochemical conditions to nearshore zones, as well as similar assemblages and densities of early life stages of fish. Open water masses of these estuaries do not have important nursery functions. In contrast, inner zones of estuaries with bigger basins and higher freshwater discharges, Guadalquivir and Guadiana, have different environmental characteristics and a long transition zone with a well-defined salinity gradient. Their assemblages and densities of early life stages of fish were different between them and with other estuaries. The Guadalquivir estuary held the highest abundance of larval and early juvenile fish, as well as macrozooplankton biomass. The most abundant fish species in all zones of every estuary was the anchovy Engraulis encrasicolus; the Guadalquivir inner zone had the highest density. High concentration of suspended organic matter, provided by freshwater input and correlated with total suspended solid, suspended inorganic matter and turbidity, was the physicochemical characteristic more typical of the Guadalquivir. This characteristic, in addition to the salinity gradient, could explain the highest densities of macrozooplankton found in this estuary, and consequently, of early fish stages. Recurrent jellyfish blooms were

\* Corresponding author. *E-mail address:* jmmiro@us.es (J.M. Miró).

https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139614 0048-9697/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved. observed in Cadiz Bay and the inner zone of Guadiana, affecting their nursery functions. Odiel-Tinto showed altered physicochemical and biological characteristics, which may need further specific research. © 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

#### 1. Introduction

More than 60% of the Earth's population are living in coastal areas (Ray, 2006) and rapid urban and agriculture development (Lee et al., 2012; Wu et al., 2019) are affecting environmental conditions of rivers, wetlands, floodplains and estuaries by flow alteration and high sediment, nutrient or pollutant inputs (González-Ortegón et al., 2015; González-Ortegón and Drake, 2012; Rolls and Bond, 2017). Additionally, global climate change is imposing complementary modifications; recent studies, based on 30 years of historical data, have found a significant decrease in precipitations in south-central European and Mediterranean river basins (Xoplaki et al., 2004). This, together with anthropogenic water abstraction for diverse uses, has resulted in an increase in the number of days with low flow (Lobanova et al., 2018; Papadimitriou et al., 2016), especially during the summer (Wanders et al., 2015). These modifications have been reported to decrease the ecological status of affected ecosystems (Poff and Zimmerman, 2010), with fish being a taxonomic group of most concern (Schinegger et al., 2016). EU member states have legislated to manage and protect all running waters under the Marine Strategy Framework Directive (MSFD, European Commission, 2008), but the River Basin Management Plans from 2018 indicated that 60% of European water bodies failed to achieve good ecological status, as they are affected by a complex set of stressors (European Environment Agency, 2018).

Of the different aquatic ecosystems impacted, estuaries are particularly important because they play an essential role in the nursery function of many species, especially for marine fishes (Strydom et al., 2003). These ecosystems generally provide high food availability and good predator refuge for early life stages of these fishes (Boesch and Eugene, 1984; Elliot and Hemingway, 2002). However, human activity can modify this function, disturbing the hydrological regime and the characteristics of the transitional zone between coastal and riverine waters (Fernández-Delgado et al., 2007; Whitfield and Wooldridge, 1994; Whitfield et al., 2012). These modifications, in their turn, affect essential biological characteristics such as the base of food webs (in situ primary production and detrital organic matter) and how matter and energy transfer first to zooplankton and then to early life stages of fishes (Donázar-Aramendía et al., 2019; Warry et al., 2016). For instance, excess nutrient inputs can cause eutrophication with toxic algae blooms (Wolanski et al., 2006) or jellyfish proliferation (Purcell et al., 1999); sediment inputs can increase turbidity and, consequently, limit photosynthetic activity and primary productivity pushing the food webs to a more heterotrophic status (Ruiz et al., 2017b; Soetaert et al., 2006).

No two estuaries have the same biotic and abiotic characteristics, since the quantity and quality of their habitats are often diverse (Vasconcelos et al., 2009). Geomorphological variables such as river and delta basin areas, barrier sands, estuary length, inlet width, mean depth or intertidal flat area also contribute to their diverse estuary functioning (Amezcua et al., 2019; Saintilan, 2004). As stated by Whitfield (1999), if fish consistently respond to the environment, the assemblages inhabiting similar types of estuaries in a particular region would be expected to reflect this similarity; hence, studies comparing assemblages of early stages of fish and environmental conditions between different estuaries of the same region are essential tools for understanding what factors influence their successful recruitment and for learning how to manage these factors sustainably, potentially improving ecosystem services (Harrison and Whitfield, 2006). Also, this kind of study shows which estuaries are more productive for the different species, which estuaries can supply more recruits to adult stocks and, consequently, which areas should be protected as a supporter ground for proper ecosystem function and fishery management in the region. However, most studies focus on adult fish, not in early life stages. Estuarine research on early fish stages that compare the assemblages and environmental conditions of two or more estuaries, using the same sampling methods, effort, periods and climatic regions, is still limited (but see Montoya-Maya and Strydom, 2009; Ramos et al., 2012; Strydom et al., 2003 for examples). Moreover, this kind of studies in temperate estuaries is scarce, with a few examples in South Africa (Grange et al., 2000; Harris and Cyrus, 2000; Whitfield, 1994) but none in Europe. Nearshore areas of estuaries can also be important rearing grounds (Able et al., 2013; Araújo et al., 2018), and some authors (Beck et al., 2001) proposed that a study of nursery function should also include a comparison with other surrounding habitats.

The Gulf of Cadiz (GoC) includes several permanently open estuaries with different freshwater inflow regimes and geomorphology types (González-Ortegón et al., 2018, 2019) and, most likely, different environmental (salinity gradient, turbidity, organic matter, etc.) and biological (prey availability, chlorophyll concentration, etc.) characteristics (Drake et al., 2002; Drake and Arias, 1991; Faria et al., 2006). The proximity of these estuaries within this region and, hence, the similar influence of some external factors (relative geographical position, climate, larval supply coming from the same stock, connectivity, global water body circulation within the North Atlantic, etc.) enable an informative comparison of specific variables that govern the use of estuaries by early life stages of fishes.

The main goals of this study are i) to assess the potential function of these estuaries as nursery areas by comparing their early life stages of fish assemblages with their adjacent coastal zones, ii) to compare the structure and composition of early life stages of fish assemblages in estuaries with different hydrogeomorphological and environmental characteristics and iii) to identify which variables affect assemblage distributions and quantify their influence in the nursery success of each estuary by comparing their early life fish relative abundances while controlling for methodology and time period. The working hypotheses were: i) estuaries with similar characteristics would have similar early life stage assemblages of fish, but key environmental variables would generate differences in these assemblages; ii) inner estuarine zones would have higher relative abundance than their adjacent coastal zones.

#### 2. Material and methods

#### 2.1. Study area

The study focused on a particular temperate North Atlantic region at the entrance of the Mediterranean Sea, the Gulf of Cadiz (South-west of the Iberian Peninsula), which exhibits some typical Atlantic and Mediterranean climate characteristics, and where the fishery has an important economic and employment role (Marti, 2018). Specifically, it was carried out in the four main, permanently open estuaries: Guadiana, Odiel-Tinto, Guadalquivir and Cadiz Bay (Fig. 1) and their nearshore zones.

Guadiana estuary  $(37^{\circ}13'33''N - 7^{\circ}24'51''W)$  is a rock-bounded system approximately 80 km in length. It is a mesotidal well-mixed estuary with an amplitude range of 2 m, and its maximum depth varies between 5 and 17 m. It is oriented north–south and is the connection of Guadiana River (810 km long and 67,129 km<sup>2</sup> basin area) with the Atlantic Ocean (Garel and Ferreira, 2015). The input of freshwater to the estuary is



Fig. 1. Study area in the Gulf of Cadiz with sampling stations (blue: inner estuarine stations; red: nearshore stations). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

controlled by Alqueva Dam, whose annual average discharge between 2016 and 2018 was 13.5 m<sup>3</sup>/s (Pulo do Lobo station, 60 km from river mouth–Portuguese Environment Agency–http://snirh.pt), but it oscillates across seasons by the rainfalls (Chícharo et al., 2001; Faria et al., 2006).

Odiel-Tinto estuary (37°12′30″N - 6°56′31″W) is a salt-marshes system of 14,900 ha, whose main water channels are 25 km long in total. It is a mesotidal well-mixed estuary with an amplitude range of 2 m (Ruiz et al., 1998), and its channel depth oscillates between 3 and 15 m. It is formed by the Odiel (128 km) and Tinto (83 km) rivers (4761 km<sup>2</sup> total basin area), whose mean water flows were approximately 4.1 m<sup>3</sup>/s (Calañas station, 50 km from river mouth) and 2.8 m<sup>3</sup>/s (Candón station + Villarrasa station, 40 km from river mouth), respectively during 2016–2018 (Agencia de Medio Ambiente y Agua de Andalucía, http://www.agenciamedioambienteyagua.es).

Guadalquivir estuary (36°51′27″N - 6°21′12″W) is a well-mixed mesotidal system with 110 km long channel and 3 m amplitude range (Díez-Minguito et al., 2012). The main channel is navigable and has an average depth of 7.1 m (Ruiz et al., 2015). Guadalquivir River (680 km long and 57,527 km<sup>2</sup> basin area) is connected to the estuary by Alcalá del Río Dam, which controls the water river flow with a mean discharge of 39.7 m<sup>3</sup>/s (Alcalá del Río station, 110 km from the river mouth) during 2016–2018 (SAIH Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, http://www.chguadalquivir.es/saih/DatosHistoricos.aspx).

Cadiz Bay (36°30′03″N-6°12′33″W) is a low-inflow, dynamically short and tidally driven estuary, with an amplitude range of 3 m, that can be divided into two basins: the inner and outer bays (Zarzuelo

et al., 2015). The outer bay (7000 ha) is affected by waves, tidal currents and low freshwater discharges of Guadalete River (166 km long and 5960 km<sup>2</sup> basin area), with a mean water flow of approximately 4.1 m<sup>3</sup>/s (Arcos Dam station + Guadalcaucín Dam station, 58 km from the river mouth) during 2016–2018 (SAIH Hidrosur, http://www. redhidrosurmedioambiente.es/saih/). Sandy bottoms (90%) and rocky shores and cliffs (10%) characterise this area, which has a mean depth of 15 m (Sánchez-Lamadrid et al., 2002). The inner bay (5000 ha) is a semi-enclosed coastal lagoon with shallow waters of 3 m average depth and an artificial channel that is 8 m deep. This zone is characterised by muddy bottoms, large intertidal flats, a dense tidal channel network and by the dominance of seagrasses and seaweeds meadows (mainly Zostera noltii, Z. marina, Cymodocea nodosa and Caulerpa prolifera; Brun et al., 2015).

Following the geological classification of estuary types by Roy et al. (2001), Cadiz Bay is considered as type I, while Odiel-Tinto, Guadalquivir and Guadiana as type II. In relation with the water bodies, Guadalquivir and Guadiana estuaries are characteristic for their longitudinal salinity gradient (Chícharo et al., 2001; Vanney, 1970), in contrast with Odiel-Tinto and Cadiz Bay, which are essentially marine (Cánovas et al., 2007; Zarzuelo et al., 2017) during the dry-warm season.

#### 2.2. Field sampling

Sampling was carried out during the dry-warm season (June–July) of 2016, 2017 and 2018. Samples were taken from 20 stations with

3–5 replicates of each one: 5 stations per estuary, 3 in the inner zone of estuaries and 2 in the adjacent nearshore of the river mouth (Fig. 1). In the estuaries with salinity gradient (Guadiana and Guadalquivir), stations were spread along the salinity range (between 25 and 5 PSU); in completely marine estuaries (Odiel-Tinto and Cadiz Bay), stations were spatially distributed, covering most of the area.

Samples were always collected in the flood tide with a plankton net of 1 m diameter and 1 mm mesh size equipped with a flow-meter General Oceanics 2030R. Oblique tows of 12 min  $(294 \pm 77 \text{ m}^3; \text{ mean} \pm \text{SD})$  were done with a boat at a speed of 2–2.5 knots. Samples were fixed in 70% ethanol and the early fish stages were sorted from the rest of macrozooplankton organisms. Fishes were identified and quantified whenever possible, to species level, and macrozooplankton biomass was calculated in fresh weight.

Three replicated physicochemical profiles of the whole water column were recorded in every station with a multiprobe (depth, temperature, salinity, turbidity, dissolved oxygen concentration (DO), oxygen saturation (OS), pH and chlorophyll concentration (Chla); Eureka<sup>TM</sup> Manta2). Water samples were taken at mid-depth with a Niskin bottle to measure chlorophyll (to calibrate the fluorimeter of the multiprobe) and total suspended solids (TSS) concentration. To measure total suspended solids (TSS), water was filtered through 0.7  $\mu$ m pore precombusted (4 h, 500 °C) filters (Whatman GF/F); thereafter filters were dried (24 h, 60 °C) and weighted. Suspended organic (SOM) and inorganic matter (SIM) were obtained as weight loss by ignition (500 °C, 4 h). Chlorophyll filters (Whatman GF/F) were kept frozen (-20 °C) until fluorometric analysis by FP-8000 series Spectrofluorometer Software Manual (JASCO Corporation, 2011).

#### 2.3. Data analysis

Fish abundances were standardised by filtered volume and expressed as number of individuals/1000 m<sup>3</sup>. Density data were organized in a species/sample abundance matrix, and a Bray–Curtis similarity matrix was calculated on fourth-root-transformed data with the addition of a dummy variable (value = 1) (Clarke et al., 2006), as a distance measure among samples (Bray and Curtis, 1957).

The differences in the multivariate structure of the early life stages of fish assemblages were analysed in a distance-based permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) (Anderson, 2001; Mcardle and Anderson, 2001). The experimental design included 3 crossed fixed factors: location (with 4 levels, "Guadiana, Odiel-Tinto, Guadalquivir and Cadiz Bay" [GN/OT/GQ/CB]), zone (with 2 levels, "Inner estuary and Nearshore") and year (with 3 levels, "2016, 2017 and 2018"), as well as 1 random factor, "Station", nested within "Location", "Zone" and "Year". The sampling units were the 3-5 replicate tows randomly selected at each "Station". Significant interactions, if detected, were further explored in separate analyses, within the levels of the interacting factors, i.e. the significant interactions between "Location" and "Zone" were further analysed separately by GN/OT/GQ/CB estuaries and inner estuary/nearshore zones. When appropriate, significant terms in the separated models were analysed individually using pair-wise comparison with the PERMANOVA test.

The distances between samples of every location were represented by principal coordinates analysis (PCO). SIMPER (Clarke, 1993) was used to identify the percentage contribution that each taxon made to the measures of similarity and dissimilarity among the different levels of the crossed fixed factors of location and zone. Multivariate analyses were performed using the software PRIMER v6.1.11 and PERMANOVA+ v1.0.1 statistical package (Clarke and Gorley, 2006).

We examined significant differences in total abundance (ind./1000  $m^3$ ) using PERMANOVA tests on Euclidean distance matrices, in an approach similar to parametric ANOVA (Anderson, 2001), using the same design as for assemblage structure. When appropriate, significant terms in the full model were analysed individually using pair-wise comparison with the PERMANOVA test.

To obtain a single value for physicochemical variables recorded with the multiprobe, to use them as covariates, a generalised additive mixed model was fitted in every station, using the replicated individual profiles as random and obtaining the common smoother (Zuur et al., 2015). This allows an appropriate single mean value to represent the complete water column. Results of all environmental variables, together with macrozooplankton and jellyfish abundance, were plotted with boxplot grouped by location and zone using the package "ggplot2" of R 3.5.2 software (R Core Team, 2018).

To identify which factors were the most important in characterising differences between the assemblages of each location and zone, a distance-based redundancy analysis (dbRDA) was carried out. A matrix was constructed using stations as columns and mean values of the environmental variables as rows. Hydrogeomorphological variables such as river length, estuary length, river basin area, mean bottom depth and daily annual mean of freshwater input (see data in study area section) were also included. Variables that were highly correlated ( $r \ge 0.7$ ) were excluded (turbidity, TSS, SIM, OS, river and estuary length) from the analysis. Multicollinearity of the selected variables was further analysed with a variance inflation factor (VIF) test using the "vif" function from the "car" package (Fox and Weisberg, 2011) in R software. All variables from the selected best model had a VIF < 10 (Zuur et al., 2009). Selected variables were normalised and a similarity matrix based on the Euclidian distance was calculated. A similarity matrix based on Bray Curtis distance with the fourth-root-transformed mean value of every station in each location and zone during each year was constructed for early life stages of fish assemblage. Both matrices and the relationship analysis were performed using the software PRIMER v6.1.11.

#### 3. Results

#### 3.1. Assemblage analysis

In total, 20839 fish individuals in early life stages belonging to 34 species, 20 genera, 19 families and 8 orders were caught both in estuarine and in nearshore zones at the 20 stations during the summer season of 2016, 2017 and 2018 (Table 1). Among the locations, a total of 23 species were collected in Guadalquivir, 21 in Guadiana, 19 in Odiel-Tinto and 16 in Cadiz Bay.

The assemblage structure varied among random stations within the same zone and also varied interactively between locations and zones and between locations and years; that is, the differences between inner estuary and nearshore zones were not the same in all locations, and the differences among years were also different in distinct locations (Table 2).

PERMANOVA analysis, separating nearshore and inner estuary levels of factor zone (Table 3), did not reveal differences between the nearshore zones of all locations but did show significant differences among inner estuaries. Pair-wise comparison showed that the two inner estuaries with a well-developed salinity gradient, GQ and GN, were different between them and the rest of estuaries, while the two estuaries with marine environment, OT and CB, were not different between them. Additionally, differences among years were significant both in inner estuaries and in their near coastal zones, without a clear common pattern.

PERMANOVA analysis, separating every location (Table 4), detected differences among nearshore and inner estuaries in GQ and GN but not in CB and OT. The PCO plots for each estuary clearly show these differences among the two types of estuaries (Fig. 2). Year was significantly different in GN, OT and CB but not in GQ. Post hoc pairwise analysis of the factor year did not show any pattern in common for the three estuaries in their inner zones.

SIMPER analysis of location and zones combined showed that the anchovy *Engraulis encrasicolus* was the species most consistent in all cases (Table 5). Additionally, in CB, the inner estuarine zone was also represented by *Diplodus annularis* and *Hippocampus hippocampus*,

Spatial distribution and total mean densities (ind./1000 m<sup>3</sup>) of fish early life stages in Cadiz Bay, Guadalquivir, Odiel-Tinto and Guadiana inner estuary and adjacent nearshore zones during the dry-warm season of 2016, 2017 and 2018.

Order	Family	Genera	Species	Cadiz	Bay	Guadalq	uivir	Odiel-1	ìnto	Guadi	ana
				Nearshore	Inner Estuary	Nearshore	Inner Estuary	Nearshore	Inner Estuary	Nearshore	Inner Estuary
Perciformes	Ammodytidae		Ammodytidae sp.	0	0	0.10	0	0	0	0	0
Anguilliformes	Anguillidae	Anguilla	Anguilla anguilla	0	0	0	0.47	0	0	0	0
Perciformes	Gobiidae	Aphia	Aphia minuta	0	0	2.47	0.06	0	0.06	0	0
Perciformes	Scianidae	Argyrosomus	Argyrosomus regius	0	0	0.85	13.16	0	0.07	0	0
Atheriniformes	Atherinidae	Atherina	Atherina sp.	0	0.10	0	0	0	0.06	0	0
Beloniformes	Belonidae	Belone	Belone belone	0	0.11	0	0	0	0	0	0
Perciformes	Blenniidae		Blenniidae sp.	0.15	0	0.49	0	2.91	0.86	1.26	0
Perciformes	Callionymidae		Callionymus sp.	0	0	0	0	1.74	0.65	0.46	0
Clupeiformes	Clupeidae		Clupeidae sp.	0	0	0	0.06	0	0	0.29	0.14
Perciformes	Moronidae	Dicentrarchus	Dicentrarchus punctatus	0	0.10	0	3.46	0	0	0	0
Pleuronectiformes	Soleidae	Dicologlossa	Dicologlossa cuneata	0	0	0.49	0	1.79	0	0.19	0
Perciformes	Sparidae	Diplodus	Diplodus annularis	3.32	5.57	1.69	0.29	6.94	1.04	5.38	0.08
Perciformes	Sparidae	Diplodus	Diplodus sp.	0	0.11	0	0	0	0	0.47	0
Clupeiformes	Engraulidae	Engraulis	Engraulis encrasicolus	24.52	25.25	48.57	761.31	39.67	10.63	21.41	162.09
Batrachoidiformes	Batrachoididae	Halobatrachus	Halobatrachus didactylus	0.41	0.73	0	0.09	0	0	0	0
Syngnathiformes	Syngnathidae	Hippocampus	Hippocampus hippocampus	0	0.95	0.12	0	0.12	0.91	0	1.66
Perciformes	Labridae		Labridae sp.	0	0	0.24	0	0.10	0.27	0	0.23
Perciformes	Blenniidae	Lipophrys	Lipophrys pholis	0.71	0.31	0.23	0	0	0	0.10	0
Perciformes	Mugilidae	Chelon	Chelon auratus	0	0	0	0.12	0	0	0	0
Perciformes	Mugilidae	Chelon	Chelon ramada	0	0	0	0.07	0	0	0	0
Perciformes	Sparidae	Pagrus	Pagrus pagrus	0	0	0	0	0	0	0.49	0
Perciformes	Haemulidae	Pomadasys	Pomadasys incisus	0	0	1.01	0	1.46	0	0.93	0
Perciformes	Gobiidae	Pomatoschistus	Pomatoschistus sp.	0	0.95	0	409.42	0.23	0.73	0.19	89.64
Pleuronectiformes	Soleidae	Solea	Solea senegalensis	0	0.22	0.12	0.12	0.72	0.92	0.38	0.14
Pleuronectiformes	Soleidae		Soleidae sp.	0	0	1.47	0	0.38	0.53	0.12	0.25
Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus	Syngnathus acus	0	0.45	0	0	0.25	0.20	0.10	4.07
Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus	Syngnathus typhle	0	0.55	0	0.35	0	0.06	0	13.74
Perciformes	Carangidae	Trachurus	Trachurus trachurus	0	0	0.38	0	2.02	0.15	0.12	0
Perciformes	Scianidae	Umbrina	Umbrina cirrosa	0.21	0	0.38	0.09	0	0	0	0
Unknown			Unknown sp1	0	0	0	0	0	0	0.12	0
Unknown			Unknown sp2	0	0	0	0	0	0	1.11	0
Unknown			Unknown sp3	0	0	0	0	0.13	0	0	0
Unknown			Unknown sp4	0	0.20	0	0	0.11	0.07	0	0
Unknown			Unknown sp5	0	0	0	0	0	0	0.12	0

#### Table 2

PERMANOVA results of the Bray-Curtis similarity matrix based of the fourth root transformed community data.

Source	df	MS	Pseudo-F	P (perm)	Unique perms
Location	3	13,199	4.64	>0.001	9915
Zone	1	27,036	9.74	>0.001	9943
Year	2	13,866	4.99	>0.004	9945
Location × Zone	3	14,056	4.94	>0.001	9923
Location × Year	6	5091.2	1.78	0.011	9898
Zone  imes Year	2	3886.4	1.40	0.166	9919
Location $\times$ Zone $\times$ Year	6	2429	0.85	0.697	9880
Station(Zone × Location × Year)	36	2863.4	4.71	>0.001	9771
Res	205	607.4			
Total	264				

while the nearshore zone was dominated only by *E. encrasicolus* with more than a 95% of similarity contribution. In Odiel-Tinto estuary, other than *E. encrasicolus*, *D. annularis* and *Blenniidae* sp1 also contributed to the nearshore zone similarity, and *H. hippocampus*, *Blenniidae* sp1 and *Solea senegalensis* to the similarity of the inner estuarine zone. Similar to OT, in the nearshore zones of both the GQ and GN estuaries, *E. encrasicolus* and *D. annularis* were the species that most contributed to their similarity. In the inner zones of estuaries with well-developed salinity gradient, the contribution of anchovies decreased (45.5% in GQ and 54.1% in GN), sharing the habitats with the goby *Pomatoschistus* sp., which had a 40.9% in GQ and 24.2% in GN. Additionally, other species were characteristic of the GQ estuarine zone, such as *Argyrosomus regius*, and of GN, such as *Syngnathus typhle* and *S. acus*.

Total abundance of early fish life stages varied significantly between locations and zones, with higher values in the inner estuarine zones with a longitudinal salinity gradient, GQ and GN (Fig. 3). In addition, the inner estuary of GQ was the zone with highest density—up to 5

#### Table 3

PERMANOVA results of the Bray-Curtis similarity matrix based of the fourth root transformed community data for separate zone levels thereafter significant interaction Location × Zone.

Source			Inner estuary	/		Nearshore					
	df	MS	Pseudo-F	P(perm)	perms	df	MS	Pseudo-F	P(perm)	perms	
Location	3	28,619	11.37	>0.001	9913	3	3533.9	1.02	0.435	9941	
Year	2	5287.1	2.14	0.032	9934	2	11,420	3.42	0.005	9938	
Location × Year	6	3858.8	1.53	0.050	9907	6	3657.7	1.06	0.409	9912	
Station(Location $\times$ Year)	24	2558.1	4.35	>0.001	9788	12	3473.9	5.46	>0.001	9846	
Res	121	587.4				84	636.2				
Total	156					107					

PERMANOVA results of the Bray-Curtis similarity matrix based of the fourth root transformed community data for separate location levels thereafter significant interaction Location × Zone.

Source	BC	BC			GQ			OT			GN		
	df	Pseudo-F	P(perm)										
Zone	1	1.46	0.217	1	12.45	>0.001	1	2.49	0.058	1	5.17	0.011	
Year	2	2.90	0.014	2	0.82	0.592	2	4.06	0.004	2	3.29	0.012	
$Zone \times Year$	2	0.88	0.561	2	0.90	0.540	2	1.12	0.372	2	1.23	0.295	
Station(Zone $\times$ Year)	9	2.43	>0.001	9	10.15	>0.001	9	2.90	>0.001	9	5.90	>0.001	
Res	31			60			60			54			
Total	45			74			74			68			



Fig. 2. Ordination diagrams of Principal Coordinates Analysis (PCO) on early life fish stages of fish assemblage for each location (Cadiz Bay, Guadalquivir, Odiel-Tinto and Guadiana). Samples coded by zones.

times more than GN (t = 2.40; p = 0.03) and 25 times more than CB (t = 2.88; p = 0.01) and OT (t = 3.27; p < 0.01). No significant differences were found along years, and between nearshore zones.

#### 3.2. Environmental analysis

Boxplot of all variables were presented by location and zone for the complete study period (Fig. 4), in addition to their mean and range values in the appendix (Table A.1). Salinity clearly showed the different structure of the studied estuaries, with lower values and a wide range of variation in the inner zones of those estuaries with well-developed salinity gradient, like GQ and GN. The nearshores of all estuaries and inner zones of OT and CB showed a salinity of the typical marine environment. Related to this, the two estuaries with a well-developed salinity gradient showed higher turbidity, which was also directly correlated

with TSS, SOM and SIM. The highest values were found in GQ inner estuary, followed by the inner zone of GN. In both estuaries, turbidity increased gradually in upstream stations. In the rest of the zones, the water was clearer. As expected, inner zones showed higher temperatures in every estuary, while nearshore zones presented a gradient with lower temperature in GN and gradually increasing towards the more inner part of the GoC. Generally, the estuaries presented higher values of DO and OS in their nearshore than in their inner estuarine zones, with a more conspicuous difference in GQ. With regard to chlorophyll concentration, CB showed similar values in the internal and external bay, and OT and GN showed clearly higher values in their inner estuarine zones, while this pattern was inverted in GQ. With respect to macrozooplankton biomass, the estuarine zones of GQ and GN showed high densities, being higher in GQ than in GN. Similar taxonomic groups were found in both estuaries, mainly isopods, decapods

Results of SIMPER analysis on the abundance of all larval and juvenile fish species from every zone (Inner Estuary and Nearshore) of the four studied locations (Cadiz Bay, Guadalquivir, Odiel-Tinto and Guadiana).

Nearshore				Inner estuary							
Species	Av. abund	Contrib. %	Cum. %	Species	Av. abund	Contrib. %	Cum. %				
Cadiz Bay											
Average similarity: 33.18	1 49	95 56	95 56	Average similarity: 33.79	1.66	78 68	78 68				
Engradits enclusicolus	100115 encrusicolus 1.49 93.30 93.30 En				0.60	13.37	92.05				
Guadalquivir				mppocumpus mppocumpus	0.51	5.25	33.30				
Average similarity: 28.69				Average similarity: 65.12							
Engraulis encrasicolus	1.81	91.73	91.73	Engraulis encrasicolus	4.31	45.45	45.45				
Diplodus annularis	0.33	2.82	94.55	Pomatoschistus sp.	3.70	40.88	86.32				
Aphia minuta	0.28	1.44	95.98	Argyrosomus regius	1.35	10.42	96.74				
Odiel Tinto											
Average similarity: 46.98				Average similarity: 40.44							
Engraulis encrasicolus	2.18	83.04	83.04	Engraulis encrasicolus	1.49	89.52	89.52				
Diplodus annularis	0.80	8.49	91.54	Hippocampus hippocampus	0.28	3.07	92.58				
Blenniidae sp1	0.54	3.86	95.40	Blenniidae sp1	0.26	1.78	94.36				
				Solea senegalensis	0.23	1.52	95.88				
Guadiana											
Average similarity: 27.72				Average similarity: 45.49							
Engraulis encrasicolus	1.52	68.10	68.10	Engraulis encrasicolus	2.65	54.12	54.12				
Diplodus annularis	0.83	20.54	88.64	Pomatoschistus sp.	1.89	24.21	78.33				
Blenniidae sp1	0.34	6.28	94.91	Syngnatus thyple	1.18	14.50	92.83				
Unknown 2	0.23	1.09	96.01	Syngnatus acus	0.51	3.62	96.45				

and mysids, with this last order being the most abundant. Jellyfish were found in the GN and CB estuaries. GN had the highest densities, with *Blackfordia virginica* as the principal species along with ctenophores of the genus *Bolinopsis*. Also, large individuals of the jellyfish *Catostylus tagi* were found in high densities (we are not providing an estimation of these densities because it cannot be properly estimated with a plankton net). Although there were not important amounts of jellyfish in 2016 (just *C. tagi* in polyhaline station), in 2017 and 2018, there were blooms of the exotic *B. virginica* invading the polyhaline and mesohaline waters (24–7 PSU) of the inner estuary, with mean densities of 1918 ± 621 and 2346 ± 717 ind./100 m<sup>3</sup> (mean ± SE), respectively, and a maximum density of 5290 ind./100 m<sup>3</sup>. Otherwise, the CB estuary contained high densities of the ctenophores *Bolinopsis sp.*, although this was just in the inner bay of 2017 (71 ± 13 ind./100 m<sup>3</sup>) and both zones in 2018 (inner bay: 3 ± 1 ind./100 m<sup>3</sup>; outer bay: 32 ± 20 ind./100 m<sup>3</sup>). The



**Fig. 3.** Total abundance (mean  $\pm$  SE) of early life stages of fish per location and zone during the all studied period (2016–2018). Asterisks indicate significant differences between inner estuary and nearshore zones of every location. Different letters indicate significant differences among locations within each zone.

same species of ctenophores was also caught in GQ nearshore samples but with low total biovolume.

The structure of fish larval assemblages was related to the selected environmental variables (Fig. 5). The ordination analysis obtained a correlation of 42.8%, and the first two dbRDA axes accounted for 28.2% of the total variation. Salinity, which was inversely related with freshwater input, basin area (directly correlated with estuary length and river length), macrozooplankton and SOM (directly correlated with turbidity, TSS and SOM) separate the inner GN and GQ assemblages from the rest of zones in the first axis. Along axis two, variables such as jellyfish, temperature and Chla grouped assemblages of both CB zones and several stations of GN inner estuary; inversely related to these variables, pH, DO (directly correlated with OS) and bottom depth associated the assemblages of the rest of nearshore zones.

#### 4. Discussion

Assemblages of early fish stages showed clear differences among locations and zones across the Gulf of Cadiz. This variation is significantly related to some hydrogeomorphological, physicochemical and biological variables, especially salinity gradient generate by freshwater input, temperature, bottom depth, suspended organic matter, chlorophyll-a, macrozooplankton and jellyfish. Nevertheless, other variables may also influence the assemblage variations such as some intrinsic characteristics of each system or some effects derived from anthropic pressures. However, the differences observed were not as initially hypothesised. During the marked dry season characterising this region, rivers with smaller basins, showed a very low freshwater input and their estuaries, OT and CB, were essentially sea extensions into the land, with similar physicochemical conditions to nearshore zones, as well as similar assemblages of early life stages of fish. In contrast, GQ and GN estuaries were distinct between them and the rest of the zones. As expected, the regional climatic and environmental conditions impose similar characteristics for all external zones and we highly influenced by the general conditions in the GoC. The main environmental variability among coastal areas was the temperature gradient, increasing as it enters the GoC (Vargas et al., 2003). Some differences were



**Fig. 4.** Boxplot of all variables (TSS: total suspended solid; SOM: suspended organic matter; SIM: suspended inorganic matter; DO: dissolved oxygen; OS: oxygen saturation) at each location (CB: Cadiz Bay; GQ: Guadalquivir; OT: Odiel-Tinto; GN: Guadaiana) and zone (inner estuary: blue; nearshore: red) during the study period (dry-warm seasons of 2016, 2017 and 2018).(For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)



**Fig. 5.** Ordination of sampling stations along the first two axes of the distance-based redundancy analysis (dbRDA) relating all species with environmental variables (blue arrows) during 2016, 2017 and 2018. Chla: chlorophyll-a; SOM: suspended organic matter; DO: dissolved oxygen; CB: Cadiz Bay; GQ: Guadalquivir; OT: Odiel-Tinto; CN: Guadiana.(For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

also observed in DO and OS, with lower values in CB, probably associated to its particular embayment morphology, which potentially reduced water renovation. The lower mean bottom depth of its inner bay allowed an increased temperature as well. Still, these differences did not appear to limit the biological community and did not generate significant differences in the distribution of early life stages of fish, the structure of their assemblages and their total densities. This homogenous condition in nearshore zones helps to discern more accurately which environmental variables (biotic and abiotic) of the inner zones estuaries cause differences in the assemblages. The main captured species in all nearshore zones and inner estuaries without a salinity gradient (OT and CB) was Engraulis encrasicolus, followed by individuals of families Sparidae (Diplodus annularis) and Blenniidae. A similar species composition was found by Baldó et al. (2006) in a study of ichthyoplankton in offshore and coastal waters of the Gulf of Cadiz; E. encrasicolus was the most abundant species during the same season, although they found higher abundances in GQ and OT adjacent coastal zones than in GN (a trend also observed in this study but without statistical significance). All these zones showed similar marine environmental conditions, characterised by high and homogeneous salinity, clear waters and low macrozooplankton biomass. Only the OT inner estuary seems to behave in a different manner, showing the lowest average density and pH. However, this is an essentially marine estuary with comparatively high chlorophyll concentration, which, in its non-turbid waters, would tend to increase pH during the day by means of a more intense photosynthetic activity. This estuary is strongly affected by long-term metal mining activity which discharges an acid drainage into the estuary and imposes a heavy contamination of metals (Nieto et al., 2007). Also, bottom depth seems to influence its assemblages, as other authors have found for demersal fish composition (Araújo et al., 2002): stations close to the estuary inlet were the deepest of the study, due to the navigation channel for vessels to the inner port.

Conversely, larval and early juvenile fish assemblages in GN and GQ inner estuaries were significantly different from each other and all other estuarine and nearshore zones. These estuaries, which drain the two largest basins in the region, maintain continuous freshwater input even in the dry season, which maintains a well-developed salinity gradient. Salinity has been shown to strongly influence biological communities, especially the fish assemblages (Amezcua et al., 2019; Araújo et al., 2018; Barletta et al., 2004) and the nursery function of estuaries (França et al., 2009; Whitfield and Harrison, 2003). One of the more abundant species, and the only characteristic species of these estuaries with reduced salinity, was the goby *Pomatoschistus* sp. It is a benthic resident estuarine species (Dolbeth et al., 2007; Pampoulie et al., 1999). Previous studies in GQ and GN have reported the high contribution of the goby to their assemblage structures (Drake et al., 2002; Faria et al., 2006), but it also inhabits coastal areas and lagoons, and it has been recorded in intertidal channels of the CB saltmarshes (Drake and Arias, 1991). With a comparative purpose, this research focused on a habitat well represented in all studied estuaries—the open water masses (from the bottom to the surface), which includes the larger water bodies, main channels and seagrass meadows (Brun et al., 2015).

Although both estuaries presented a similar transitional salinity zone, some distinctive features arose between them, showing differences to their densities and assemblages of early life stages of fish. For example, species such as Argyrosomus regius and Dicentrarchus punctatus, which are important for the fishery sector in the region (Catalán et al., 2006; González-Quirós et al., 2011), are characteristics of GQ inner zone. In GN, species of Syngnathidae were more representative, where the tidal saltmarshes and seagrass meadows (Cunha et al., 2013) could provide favourable habitats for these species (Foster and Vincent, 2004). Even more illustrative is the case of the anchovy E. encrasicolus. This species was the most abundant in the region during the studied period and was dominant in all zones. It is a marine migrant species that is very important for the fisheries of the region (Ruiz et al., 2017a), and its recruitment period is during the warm-dry season (Baldó et al., 2006; Drake et al., 2007). Its importance as a dominant and abundant species has been previously reported in the Guadiana estuary (Faria et al., 2006), Cadiz Bay (Drake and Arias, 1991), Guadalquivir estuary (Drake et al., 2007) and in coastal water in the Gulf of Cadiz (Baldó et al., 2006). Our comparative approach, using the same methodology, sampling gears and study period during three consecutive warmdry seasons, supports the importance of this species in the whole region and all estuaries, showing the Guadalquivir estuary as its main nursery area with a notable highest density.

De Carvalho-Souza et al. (2018) showed that environmental conditions such as moderate turbidity levels (<100 NTU), stable freshwater discharges (30–40 m<sup>3</sup>/s), mesohaline waters, high food availability of mysids (e.g. Mesopodopsis slabberi and Rhopalophthalmus tartessicus) and warm temperature, were the most significant to explain the abundance of E. encrasicolus in the Guadalquivir estuary. However, the Guadiana inner estuary also presented similar environmental characteristics but exhibited a notably lower macrozooplankton biomass than Guadalquivir with an average abundance four times lower. A similar pattern has been found for mesozooplankton, with different studies estimating a much higher copepods density in GQ (~30,000 ind/m<sup>3</sup>; Taglialatela et al., 2014) than in GN (~7000 ind/m<sup>3</sup>; Chícharo et al., 2006) during the dry-warm season. The main physicochemical differences between these two estuaries were higher concentration of TSS and the associated values of SIM, SOM and turbidity in GQ, as well as a higher input of freshwater. Freshwater input not only affects salinity, but is also a main source of nutrients, sediment and organic matter, which influence the biological community and the nursery function of estuaries (González-Ortegón and Drake, 2012). The contribution of sediment by the drainage is higher in Guadalquivir due to the geomorphology of the basin and its high soil erosion rate because of traditional agriculture land use (Carmona, 2015). For the heterotrophic portion of the estuarine food web, a higher load of sediment has been described to dilute higher quality food resources (e.g. cellular phytoplankton) and may constitute a difficulty for mesozooplankton and hyperbenthos (mainly copepods and mysids) (Fockedey and Mees, 1999; Gasparini et al., 1999). Still, the associated higher concentration of suspended organic matter (detritus) can also provide food to zooplankton [directly

(Islam and Tanaka, 2006; Vilas et al., 2008) or through microbial food web (Goosen et al., 1999)], which, in its turn, support early life stages of fishes. Baldó and Drake (2002) showed that copepods and mysids were the two greatest principal preys, respectively, of the post-larval stage of *E. encrasicolus* in the Guadalquivir estuary; the same prey but in the opposite order was found for the juvenile stage. Donázar-Aramendía et al. (2019), in their comparison between the food webs structure of GQ and GN using stable isotopes, found that allochthonous organic matter in the form of detritus can play an essential role in the food webs of the GQ, compensating for the limited phytoplankton production due to higher turbidity, thus maintaining a high biomass of copepods and mysids. These authors also found evidence of higher diversity of basal resources in GQ food webs, whose positive relationship with fish production had been previously suggested (Hoffman et al., 2015).

On the other hand, high turbidity levels in the Guadalquivir estuary has been reported to limit light availability for phytoplankton, reducing the photic depth of the water column and constraining its primary production (Ruiz et al., 2017b). However, the chlorophyll concentration measured in this study was not particularly low, having similar or even higher values than other clearer zones. OS and pH levels, in contrast, were the lowest in inner GQ (except for anomalous pH in internal OT), indicating low photosynthetic activity in the water column. A previous study proposed that Chla in GO estuary could be supported by upstream water reservoirs or irrigation channels from adjacent agriculture fields, in addition to autochthonous production when environmental conditions of turbidity and temperature were favourable for photosynthesis (González-Ortegón and Drake, 2012). However, recent studies of phytoplankton assemblages in the Guadalquivir estuary reveal that diatoms of the genera Navicula and Nitzschia are some of the most abundant cells in its waters (Cañavate et al., 2019); they have been documented as the most common epipelic microphytobenthos (MPB) of the biraphid diatoms (Underwood, 2001). The resuspension of MPB due to flood tide and wind action is typical in highly turbid estuaries (Brito et al., 2012; Irigoien and Castel, 1997; Statham, 2012), where its chlorophyll contribution to water column has been reported to represent an important proportion when compared to the contribution of real phytoplankton (Cadée and Hegeman, 1974; De Jonge and Van Beusekom, 1992). Due to high turbidity levels in GO, photosynthesis is limited by phytoplankton in the water column, but not in the riversides where a dense mat of MPB developed (personal observation), the water depth is lower and the ebb tide exposes intertidal mudflats to sunlight. Up to now, there has not been a precise estimation of the contribution of the MPB to the primary production of the system and the chlorophyll concentration in the water column, but the evidence presented here supports that this would be particularly important in the GQ estuary.

Gelatinous zooplankton is a final important factor for assemblages of early stages of fish in the Gulf of Cadiz estuaries and the potential nursery function that they can play. The Guadiana estuary contained high densities of jellyfish, which decreased the larval and juvenile fish densities and also increased the density variations among years and stations (Personal observation; Chicharo et al., 2009; Muha et al., 2017). A similar effect was found for the macrozooplankton biomass. In the years when blooms of *Blackfordia virginica* were observed in polyhaline and mesohaline waters (2017 and 2018), oligohaline stations (<6 PSU), where the medusas were absent, contained higher concentrations of macrozooplankton and early stages of fish in comparison with the whole inner estuarine zone during 2016. These results show that the jellyfish bloom in the lower part of the estuary works like a barrier (~30 km) for the zooplankton assemblages, which moved and concentrated upstream. The lower densities of this species recorded previously (>100 ind./100m<sup>3</sup> and a maximum density of 3700 ind./100m<sup>3</sup>; Chícharo et al., 2009) may indicate an intensification of this invasion. According to Muha et al. (2017), before construction of Alqueva Dam, this species was not present in the GN estuary, but after the dam's construction, low river discharges provided one of the main factors for its expansion in this ecosystem. Indeed, Guadiana estuary received a mean annual freshwater input three times lower than Guadalquivir estuary despite having a greater river basin area. Ecohydrological studies in the GN estuary demand higher discharges from Alqueva Dam during the dry-warm season to yield a higher plankton productivity and biomass and control jellyfish proliferation (Muha et al., 2012; Wolanski et al., 2006). Currently, this jellyfish has not been reported in the GQ estuary despite being a species that inhabits brackish waters (Marqués et al., 2017; Mills and Sommer, 1995), the proximity to GN and the long history of this invasion (it was reported for the first time in 2001; Muha et al., 2012), which could have facilitated its colonisation. The higher freshwater discharges and muddy bottoms could hinder the settlement of the polypoid phase, which needs a hard substrate. Nevertheless, B. virginica is still a potential risk for the GQ estuary and its nursery function. In contrast, the ctenophore Bolinopsis sp. was found in more locations of the GoC, in addition to inner zone of GN. CB estuary showed high densities in both zones, and it was also present in GQ nearshore zone with low biovolume. However, it has been observed with important abundances in both zones of GO during other periods (personal observation; Diz et al., 2015). Jellyfish are key elements in plankton assemblages when demographic blooms occur with a significant impact by predation and competition with zooplanktivorous consumers such as fish larvae (Boero, 2013; Purcell and Arai, 2001; Robinson et al., 2014). The case of GN is of particular concern, as this is one of the most productive estuaries in the region, with a large transitional zone and well-developed salinity gradient, which is recurrently blocked by jellyfish blooms during the main recruitment period in the region. This must necessarily affect the nursery function and the fishery industry and can be partially responsible for the quantitative differences found between the GN and GQ nursery grounds.

#### 5. Conclusion

Estuaries have the capability to work as a nursery ground, but not all of them succeed because it depends on the characteristics that their habitats provide, which are strongly affected by anthropogenic alterations and the preferences of fish. The four main estuaries of the Gulf of Cadiz are impacted by human activity, as are most estuaries around the world; significantly, damming and water abstraction may have deep effects on environmental conditions, the assemblages of zooplankton and early life stages of fish, and the use that the latter do of estuaries as nursery ground. Estuaries whose rivers discharge enough freshwater to preserve a well-developed horizontal salinity gradient (i.e. the Guadalguivir and Guadiana estuaries) maintain different and denser assemblages in their inner zones. Open water masses of estuaries with scarce river flow maintain essentially marine environmental conditions (i.e. the Odiel-Tinto and Cadiz Bay estuaries) similar to the nearshore zones, and cannot be considered to have an important nursery function. Additionally, the occurrence of jellyfish blooms are also enhanced by water scarcity and could affect the biological community by interfering with the nursery function of estuaries and the fishery industry, as is the case in the Guadiana estuary. Otherwise, high levels of suspended sediment and turbidity limit pelagic primary production, which may be partially compensated by other sources such as microphytobenthos. Still, suspended organic matter associated with this sediment feeds the base of the food web through the heterotrophic pathway, which could maintain a high productivity of ecosystems, as in Guadalquivir estuary. This estuary presented the densest amount of early fish stages and macrozooplankton in the GoC, with the anchovy Engraulis encrasicolus being the most abundant species during the period studied, which provides the most important recruitment stock for the fishery in the region. As a practical conclusion to manage nursery grounds in the GoC, the present fishery production in the region may be supported by a productive equilibrium depending on riverine inputs of sediment into Guadalquivir estuary. The high and quasi-permanent turbidity in this estuary is a present concern, and its reduction is a commonly claimed objective.

Any modification in this sense, even with the objective to improve its ecological status, should be done with caution and be closely monitored. On the other hand, the other potentially highly productive estuary in the region, Guadiana, is currently impoverished due to recurrent blooms of jellyfish, associated with scarce freshwater discharges into the estuary. An improvement of discharge management, as previously claimed by several authors, is possible and would notably improve the nursery function, ecological status and fishery production in the region.

Supplementary data to this article can be found online at https://doi. org/10.1016/j.scitotenv.2020.139614.

#### **CRediT authorship contribution statement**

J.M. Miró: Conceptualization, Methodology, Software, Validation, Formal analysis, Investigation, Data curation, Writing - original draft. C. Megina: Conceptualization, Methodology, Software, Formal analysis, Investigation, Writing - original draft, Project administration. I. Donázar-Aramendía: Methodology, Investigation, Resources, Writing - review & editing. M.J. Reyes-Martínez: Methodology, Investigation, Writing - review & editing. J.E. Sánchez-Moyano: Formal analysis. J.C. García-Gómez: Conceptualization, Supervision, Funding acquisition, Writing - review & editing.

#### **Declaration of competing interest**

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Acknowledgements

We thank Autoridad Portuaria de Sevilla (APS) and Acuario de Sevilla for financial and logistical support. This work was partially supported by the V Plan Propio Universidad de Sevilla via two predoctoral grants (I. Donázar-Aramendía, J.M. Miró). We thank to Agencia de Medio Ambiente y Agua de Andalucía, Confederación Hidrográfica del Guadalquivir and Portuguese Environment Agency for river discharges data support. We thank all the members of the LBM who participate in field surveys and in samples processing.

#### References

- Able, K.W., Wuenschel, M.J., Grothues, T.M., Vasslides, J.M., Rowe, P.M., 2013. Do surf zones in New Jersey provide "nursery" habitat for southern fishes? Environ. Biol. Fish 96, 661–675. https://doi.org/10.1007/s10641-012-0056-8.
- Amezcua, F., Ramirez, M., Flores-Verdugo, F., 2019. Classification and comparison of five estuaries in the southeast Gulf of California based on environmental variables and fish assemblages. Bull. Mar. Sci. 95, 139–159. https://doi.org/10.5343/bms.2018.0018.
- Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. Austral Ecol 26, 32–46.
- Araújo, F.G., Azevedo, M.C.C., Silva, M.A., Pessanha, A.L.M., Gomes, I.D., Gomes da Cruz-Filho, A., 2002. Environmental influences on the demersal fish assemblages in the Sepetiba Bay, Brazil. Estuar. Res. Fed. 25, 441–450.
- Araújo, F.G., Rodrigues, F.L., Teixeira-Neves, T.P., Vieira, J.P., Azevedo, M.C.C., Guedes, A.P.P., Garcia, A.M., Pessanha, A.L.M., 2018. Regional patterns in species richness and taxonomic diversity of the nearshore fish community in the Brazilian coast. Estuar. Coast. Shelf Sci. 208, 9–22. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.04.027.
- Baldó, F., Drake, P., 2002. A multivariate approach to the feeding habits of small fishes in the Guadalquivir Estuary. J. Fish Biol. 61, 21–32. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb01758.x.
- Baldó, F., García-Isarch, E., Jiménez, M.P., Romero, Z., Sánchez-Lamadrid, A., Catalán, I.A., 2006. Spatial and temporal distribution of the early life stages of three commercial fish species in the northeastern shelf of the Gulf of Cádiz. Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 53, 1391–1401. https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.04.004.
- Barletta, M., Barletta-Bergan, A., Saint-Paul, U., Hubold, G., 2004. The role of salinity in structuring the fish assemblages in a tropical estuary. J. Fish Biol., 45–72 https://doi. org/10.1111/j.1095-8649.2004.00582.x.
- Beck, M.W., Heck, K.L., Able, K.W., Childers, D.L., Eggleston, D.B., Gillanders, B.M., Halpern, B., Hays, C.G., Hoshino, K., Minello, T.J., Orth, R.J., Sheridan, P.F., Weinstein, M.P., 2001. The identification, conservation, and management of estuarine and marine nurseries for fish and invertebrates. Bioscience 51, 633–641. https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0633:TICAMO]2.0.CO;2.

- Boero, F., 2013. Review of jellyfish blooms in the Mediterranean and Black Sea. Studies and Reviews. 92. General Fisheries Commission for the Mediterranean, Rome, FAO, p. 53.
- Boesch, D.F., Eugene, R.T., 1984. Dependence of fishery species on salt marshes: the role of food and refuge. Estuaries 7, 460–468.
- Bray, J.R, Curtis, J.T., 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. Ecol. Monogr. 27 (4), 325–349. https://doi.org/10.2307/1942268.
- Brito, A.C., Fernandes, T.F., Newton, A., Facca, C., Tett, P., 2012. Does microphytobenthos resuspension influence phytoplankton in shallow systems? A comparison through a Fourier series analysis. Estuar. Coast. Shelf Sci. 110, 77–84. https://doi.org/10.1016/j. ecss.2012.03.028.
- Brun, F., Vergara, J., Pérez-Lloréns, J.L., Ramírez, C., Morris, E., Peralta, G., Hernández, I., 2015. Diversidad de angiospermas marinas en la bahía de Cádiz: redescubriendo a Zostera marina. Chron. naturae 56, 45–56.
- Cadée, G.C., Hegeman, J., 1974. Primary production of phytoplankton in the Dutch Wadden Sea. Netherlands J. Sea Res. 8, 240–259. https://doi.org/10.1017/ CB09781107415324.004.
- Cañavate, J.-P., van Bergeijk, S., Giráldez, I., González-Ortegón, E., Vílas, C., 2019. Fatty acids to quantify phytoplankton functional groups and their spatiotemporal dynamics in a highly turbid estuary. Estuar. Coasts https://doi.org/10.1007/s12237-019-00629-8.
- Cánovas, C.R., Olías, M., Nieto, J.M., Sarmiento, A.M., Cerón, J.C., 2007. Hydrogeochemical characteristics of the Tinto and Odiel Rivers (SW Spain). Factors controlling metal contents. Sci. Total Environ. 373, 363–382. https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2006.11.022.
- Carmona, I., 2015. Agricultura de conservación en cultivos extensivos del valle del Guadalquivir: caracterización de sistemas a escala de parcela comercial y análisis de estrategias de mejora. Univ. Córdoba Doctoral t 154.
- Catalán, I.A., Rubín, J.P., Navarro, G., Prieto, L., 2006. Larval fish distribution in two different hydrographic situations in the Gulf of Cádiz. Deep. Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 53, 1377–1390. https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.04.010.
- Chicharo, L., Chicharo, M.A., Esteves, E., Andrade, J.P., Morais, P., 2001. Effects of alterations in freshwater supply on the abundance and distribution of Engraulis encrasicolus in the Guadiana estuary and adjacent coastal areas of south Portugal. Ecohydrol. Hydrobiol. 1 (3), 341–345.
- Chícharo, L., Chícharo, M.A., Ben-Hamadou, R., 2006. Use of a hydrotechnical infrastructure (Alqueva Dam) to regulate planktonic assemblages in the Guadiana estuary: basis for sustainable water and ecosystem services management. Estuar. Coast. Shelf Sci. 70, 3–18. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2006.05.039.
- Chícharo, M.A., Leitão, T., Range, P., Gutierrez, C., Morales, J., Morais, P., Chícharo, L., 2009. Alien species in the guadiana estuary (SE-Portugal/SW-Spain): Blackfordia virginica (Cnidaria, Hydrozoa) and Palaemon macrodactylus (Crustacea, Decapoda): potential impacts and mitigation measures. Aquat. Invasions 4, 501–506. https://doi.org/ 10.3391/ai.2009.4.3.11.
- Clarke, K.R., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. Aust. J. Ecol. 18, 117–143. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N., 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, UK.
- Clarke, K.R., Somerfield, P.J., Chapman, M.G., 2006. On resemblance measures for ecological studies, including taxonomic dissimilarities and a zero-adjusted Bray-Curtis coefficient for denuded assemblages. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 330, 55–80. https://doi.org/ 10.1016/j.jembe.2005.12.017.
- Cunha, A.H., Assis, J.F., Serrão, E.A., 2013. Seagrasses in Portugal: a most endangered marine habitat. Aquat. Bot. 104, 193–203. https://doi.org/10.1016/j. aquabot.2014.02.007.
- De Carvalho-Souza, G.F., González-Ortegón, E., Baldó, F., Vilas, C., Drake, P., Llope, M., 2018. Natural and anthropogenic effects on the early life stages of European anchovy in one of its essential fish habitats, the Guadalquivir estuary. Mar. Ecol. Prog. Ser. 617–618, 67–79. https://doi.org/10.3354/meps12562.
- De Jonge, V.N., Van Beusekom, J.E.E., 1992. Contribution of resuspended microphytobenthos to total phytoplankton in the EMS estuary and its possible role for grazers. Netherlands J. Sea Res. 30, 91–105. https://doi.org/10.1016/0077-7579 (92)90049-K.
- Díez-Minguito, M., Baquerizo, A., Ortega-Sánchez, M., Navarro, G., Losada, M.A., 2012. Tide transformation in the Guadalquivir estuary (SW Spain) and process-based zonation. J. Geophys. Res. Ocean. 117, 1–14. https://doi.org/10.1029/2011JC007344.
- Diz, F., González-Ortegón, E., Vilas, C., 2015. Primera caracterización del plancton gelatinoso del estuario del río Guadalquivir (SW España). Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui. VII 513–518.
- Dolbeth, M., Martinho, F., Leitão, R., Cabral, H., Pardal, M.A., 2007. Strategies of Pomatoschistus minutus and Pomatoschistus microps to cope with environmental instability. Estuar. Coast. Shelf Sci. 74, 263–273. https://doi.org/10.1016/j. ecss.2007.04.016.
- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2019. Human pressures on two estuaries of the Iberian Peninsula are reflected in food web structure. Sci. Rep. 9, 1–10. https://doi.org/10.1038/s41598-019-47793-2.
- Drake, P., Arias, A.M., 1991. Composition and seasonal fluctuations of the ichthyoplankton community in a shallow tidal channel of Cadiz Bay (S.W. Spain). J. Fish Biol. 39, 245–263. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1991.tb04360.x.
- Drake, P., Arias, A.M., Baldó, F., Cuesta, J.A., 2002. Spatial and temporal variation of the nekton and hyperbenthos from a temperate European estuary with regulated freshwater inflow. Estuaries 25, 451–468. https://doi.org/10.1007/BF02695987.
- Drake, P., Borlán, A., González-Ortegón, E., Baldó, F., Vilas, C., Fernández-Delgado, C., 2007. Spatio-temporal distribution of early life stages of the European anchovy Engraulis encrasicolus L. within a European temperate estuary with regulated freshwater

inflow: effects of environmental variables. J. Fish Biol. 70, 1689–1709. https://doi.org/ 10.1111/j.1095-8649.2007.01433.x.

Elliot, M., Hemingway, K., 2002. Fish in Estuaries. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK https://doi.org/10.1002/9780470995228.

- European Commission, 2008. Directive 2008/56/EC of the European Parliament and of the Council of 17 June 2008 establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy (Marine Strategy Framework Directive). Of. J. Eur. Communities 164, 19–40.
- European Environment Agency, 2018. European Waters. Assessment of Status and Pressures 2018. EEA Report, Copenhagen, Denmark https://doi.org/10.2800/303664.
- Faria, A., Morais, P., Chícharo, M.A., 2006. Ichthyoplankton dynamics in the Guadiana estuary and adjacent coastal area, South-East Portugal. Estuar. Coast. Shelf Sci. 70, 85–97. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2006.05.032.
- Fernández-Delgado, C., Baldó, F., Vilas, C., García-González, D., Cuesta, J.A., González-Ortegón, E., Drake, P., 2007. Effects of the river discharge management on the nursery function of the Guadalquivir river estuary (SW Spain). Hydrobiologia 587, 125–136. https://doi.org/10.1007/s10750-007-0691-9.
- Fockedey, N., Mees, J., 1999. Feeding of the hyperbenthic mysid Neomysis integer in the maximum turbidity zone of the Elbe, Westerschelde and Gironde estuaries. J. Mar. Syst. 22, 207–228. https://doi.org/10.1016/S0924-7963(99)00042-1.
- Foster, S.J., Vincent, A.C.J., 2004. Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management. J. Fish Biol. 65, 1–61. https://doi.org/10.1111/ j.1095-8649.2004.00429.x.
- Fox, J., Weisberg, S., 2011. An R Companion to Applied Regression. second ed. Sage, Thousand Oaks, CA.
- França, S., Costa, M.J., Cabral, H.N., 2009. Assessing habitat specific fish assemblages in estuaries along the Portuguese coast. Estuar. Coast. Shelf Sci. 83, 1–12. https://doi.org/ 10.1016/j.ecss.2009.03.013.
- Garel, E., Ferreira, O., 2015. Multi-year high-frequency physical and environmental observations at the Guadiana Estuary. Earth Syst. Sci. Data 7, 299–309. https://doi.org/ 10.5194/essd-7-299-2015.
- Gasparini, S., Castel, J., Irigoien, X., 1999. Impact of suspended particulate matter on egg production of the estuarine copepod, Eurytemora affinis. J. Mar. Syst. 22, 195–205. https://doi.org/10.1016/S0924-7963(99)00041-X.
- González-Ortegón, E., Drake, P., 2012. Effects of freshwater inputs on the lower trophic levels of a temperate estuary: physical, physiological or trophic forcing? Aquat. Sci. 74, 455–469. https://doi.org/10.1007/s00027-011-0240-5.
- González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A., Cuesta, J. a, Fernández-Delgado, C., Vilas, C., Drake, P., 2015. Freshwater scarcity effects on the aquatic macrofauna of a European Mediterranean-climate estuary. Sci. Total Environ. 503–504, 9. https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.020.
- González-Ortegón, E., Forja, J., Bellanco, M.J., Amaral, V., Vilas, C., Tovar-Sánchez, A., Jiménez, M.P., Baldó, F., Sánchez-Leal, R.F., 2018. Sources and coastal distribution of dissolved organic matter in the Gulf of Cadiz. Sci. Total Environ. 630, 1583–1595. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.293.
- González-Ortegón, E., Laiz, I., Sánchez-Quiles, D., Cobelo-García, A., Tovar-Sánchez, A., 2019. Trace metal characterization and fluxes from the Guadiana, Tinto-Odiel and Guadalquivir estuaries to the Gulf of Cadiz. Sci. Total Environ. 650, 2454–2466. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.290.
- González-Quirós, R., Del Árbol, J., García-Pacheco, M. del M., Silva-García, A.J., Naranjo, J.M., Morales-Nin, B., 2011. Life-history of the meagre Argyrosomus regius in the Gulf of Cádiz (SW Iberian Peninsula). Fish. Res. 109, 140–149. https://doi.org/ 10.1016/j.fishres.2011.01.031.
- Goosen, N.K., Kromkamp, J., Peene, J., Van Rijswijk, P., Van Breugel, P., 1999. Bacterial and phytoplankton production in the maximum turbidity zone of three European estuaries: the Elbe, Westerschelde and Gironde. J. Mar. Syst. 22, 151–171. https://doi.org/ 10.1016/S0924-7963(99)00038-X.
- Grange, N., Whitfield, A.K., De Villiers, C.J., Allanson, B.R., 2000. The response of two South African east coast estuaries to altered river flow regimes. Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst 10, 155–177. https://doi.org/10.1002/1099-0755(200005/06)10: 3<155::AID-AQC406>3.0.CO;2-Z.
- Harris, S.a., Cyrus, D.P., 2000. Comparison of larval fish assemblages in three large estuarine systems, KwaZulu-Natal, South Africa. Mar. Biol. 137, 527–541. https://doi.org/ 10.1007/s002270000356.
- Harrison, T.D., Whitfield, A.K., 2006. Estuarine typology and the structuring of fish communities in South Africa. Environ. Biol. Fish 75, 269–293. https://doi.org/10.1007/ s10641-006-0028-y.
- Hoffman, J.C., Kelly, J.R., Peterson, G.S., Cotter, A.M., 2015. Landscape-scale food webs of fish nursery habitat along a river-coast mixing zone. Estuar. Coasts 38, 1335–1349. https://doi.org/10.1007/s12237-014-9880-8.
- Irigoien, X., Castel, J., 1997. Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: the Gironde (SW France). Estuar. Coast. Shelf Sci. 44, 507–517.
- Islam, M.S., Tanaka, M., 2006. Spatial variability in nursery functions along a temperate estuarine gradient: role of detrital versus algal trophic pathways. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 63, 1848–1864. https://doi.org/10.1139/f06-086.
- JASCO Corporation, 2011. FP-8000 series Spectrofluorometer Software Manual. JASCO Spectra ManagerTM CFR for FP-8000 series.
- Lee, K.M., Lee, S.Y., Connolly, R.M., 2012. Combining process indices from network analysis with structural population measures to indicate response of estuarine trophodynamics to pulse organic enrichment. Ecol. Indic. 18, 652–658. https://doi. org/10.1016/j.ecolind.2012.01.015.
- Lobanova, A., Liersch, S., Nunes, J.P., Didovets, I., Stagl, J., Huang, S., Koch, H., López, Rivas, del R, M., Maule, C.F., Hattermann, F., Krysanova, V., 2018. Hydrological impacts of moderate and high-end climate change across European river basins. J. Hydrol. Reg. Stud. 18, 15–30. https://doi.org/10.1016/j.ejrh.2018.05.003.

- Marqués, F., Angélico, M.M., Costa, J.L., Teodósio, M.A., Presado, P., Fernandes, A., Chainho, P., Domingos, I., 2017. Ecological aspects and potential impacts of the non-native hydromedusa Blackfordia virginica in a temperate estuary. Estuar. Coast. Shelf Sci. 197, 69–79. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.08.015.
- Marti, C.P., 2018. Research for PECH Committee Fisheries in Mauritania and the European Union. Policy Dep. Struct. Cohes, Policies, Brussels.
- Mcardle, B.H., Anderson, M.J., 2001. Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. Ecol. Soc. Am. 82, 290–297.
- Mills, C.E., Sommer, F., 1995. Invertebrate introductions in marine habitats: two species of hydromedusae (Cnidaria) native to the Black Sea, Maeotias inexspectata and Blackfordia virginica, invade San Francisco Bay. Mar. Biol. 122, 279–288. https://doi. org/10.1007/BF00348941.
- Montoya-Maya, P.H., Strydom, N.A., 2009. Description of larval fish composition, abundance and distribution in nine south and west coast estuaries of South Africa. African Zool 44, 75–92. https://doi.org/10.3377/004.044.0108.
- Muha, T.P., Chícharo, L., Morais, P., Pereira, R., Ben-Hamadou, R., Cruz, J., Chícharo, M.A.T., 2012. The effect of distinct hydrologic conditions on the zooplankton community in an estuary under Mediterranean climate influence. Ecohydrol. Hydrobiol. 12, 327–335. https://doi.org/10.2478/v10104-012-0027-x.
- Muha, T.P., Teodósio, M.A., Ben-Hamadou, R., 2017. Impact assessment of non-indigenous jellyfish species on the estuarine community dynamic: a model of medusa phase. Estuar. Coast. Shelf Sci. 187, 249–259. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.10.040.
- Nieto, J.M., Sarmiento, A.M., Olías, M., Canovas, C.R., Riba, I., Kalman, J., Delvalls, T.A., 2007. Acid mine drainage pollution in the Tinto and Odiel rivers (Iberian Pyrite Belt, SW Spain) and bioavailability of the transported metals to the Huelva Estuary. Environ. Int. 33, 445–455. https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.11.010.
- Pampoulie, C., Rosecchi, E., Bouchereau, J.L., Crivelli, A.J., 1999. Life history traits of Pomatoschistus minutus in the Rhone Delta, France. J. Fish Biol. 55, 892–896. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1999.tb00728.x.
- Papadimitriou, L.V., Koutroulis, A.G., Grillakis, M.G., Tsanis, I.K., 2016. High-end climate change impact on European runoff and low flows - exploring the effects of forcing biases. Hydrol. Earth Syst. Sci. 20, 1785–1808. https://doi.org/10.5194/hess-20-1785-2016.
- Poff, N.L., Zimmerman, J.K.H., 2010. Ecological responses to altered flow regimes: a literature review to inform the science and management of environmental flows. Freshw. Biol. 55, 194–205. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02272.x.
- Purcell, J.E., Arai, M.N., 2001. Interactions of pelagic cnidarians and ctenophores with fish: a review. Hydrobiologia 451, 27–44. https://doi.org/10.1023/A:1011883905394.
- Purcell, J.E., Malej, A., Benović, A., 1999. Potential links of jellyfish to eutrophication and fisheries. In Ecosystems at the land-sea margin: drainage basin to coastal sea. In: Malone, T.C., Malej, A., Harding, L.W., Smodlaka, N., Turner, R.E. (Eds.), 55. American Geophysical Union, Coastal and Estuarine Studies, pp. 241–263.
- R Core Team, 2018. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical computing, Vienna, Austria https://www.R-project.org/.
- Ramos, S., Amorim, E., Elliott, M., Cabral, H., Bordalo, A.A., 2012. Early life stages of fishes as indicators of estuarine ecosystem health. Ecol. Indic. 19, 172–183. https://doi.org/ 10.1016/j.ecolind.2011.08.024.
- Ray, G.C., 2006. The coastal realm's environmental debt. Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst. 16, 1–4. https://doi.org/10.1002/aqc.764.
- Robinson, K.L., Ruzicka, J.J., Decker, M.B., Brodeur, R.D., Hernandez, F.J., Quiñones, J., Acha, E.M., Uye, S.I., Mianzan, H., Graham, W.M., 2014. Jellyfish, forage fish, and the world's major fisheries. Oceanography 27, 104–115. https://doi.org/10.5670/ oceanog.2014.90.
- Rolls, R.J., Bond, N.R., 2017. Environmental and Ecological Effects of Flow Alteration in Surface Water Ecosystems, Water for the Environment: From Policy and Science to Implementation and Management. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803907-6.00004-8.
- Roy, P.S., Williams, R.J., Jones, A.R., Yassini, I., Gibbs, P.J., Coates, B., West, R.J., Scanes, P.R., Hudson, J.P., Nichol, S., 2001. Structure and function of south-east Australian estuaries. Estuar. Coast. Shelf Sci. 53, 351–384. https://doi.org/10.1006/ecss.2001.0796.
- Ruiz, F., González-Regalado, M.L., Borrego, J., Morales, J.A., Pendón, J.G., Muñoz, J.M., 1998. Stratigraphic sequence, elemental concentrations and heavy metal pollution in Holocene sediments from the Tinto-Odiel Estuary, southwestern Spain. Environ. Geol. 34, 270–278. https://doi.org/10.1007/s002540050278.
- Ruiz, J., Polo, M.J., Díez-Minguito, M., Navarro, G., Morris, E.P., Huertas, E., Caballero, I., Contreras, E., Losada, M.A., 2015. The Guadalquivir Estuary: a hot spot for environmental and human conflicts. Environmental Management and Governance. Coastal Research Library, pp. 199–232. https://doi.org/10.1007/978-3-319-06305-8.
- Ruiz, J., Rincón, M.M., Castilla, D., Ramos, F., del Hoyo, J.J.G., 2017a. Biological and economic vulnerabilities of fixed TACs in small pelagics: an analysis of the European anchovy (Engraulis encrasicolus) in the Gulf of Cádiz. Mar. Policy 78, 171–180. https:// doi.org/10.1016/j.marpol.2017.01.022.
- Ruiz, J., Macías, D., Navarro, G., 2017b. Natural forcings on a transformed territory overshoot thresholds of primary productivity in the Guadalquivir estuary. Cont. Shelf Res. 148, 199–207. https://doi.org/10.1016/j.csr.2017.09.002.
- Saintilan, N., 2004. Relationships between estuarine geomorphology, wetland extent and fish landings in New South Wales estuaries. Estuar. Coast. Shelf Sci. 61, 591–601. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2004.07.002.
- Sánchez-Lamadrid, A., Jiménez, T., Ruiz, J., Gutiérrez, G., Muñoz, J., Saavedra, M., Juárez, A., Romero, M., Pérez, A., 2002. Bahía de Cádiz, protección de los recursos naturales pesqueros y aplicaciones para instalaciones acuícolas. Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.
- Schinegger, R., Palt, M., Segurado, P., Schmutz, S., 2016. Untangling the effects of multiple human stressors and their impacts on fish assemblages in European running waters. Sci. Total Environ. 573, 1079–1088. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.143.

- Soetaert, K., Middelburg, J.J., Heip, C., Meire, P., Van Damme, S., Maris, T., 2006. Long-term change in dissolved inorganic nutrients in the heterotrophic Scheldt estuary (Belgium, The Netherlands). Limnol. Oceanogr. 51, 409–423. https://doi.org/ 10.4319/lo.2006.51.1\_part\_2.0409.
- Statham, P.J., 2012. Nutrients in estuaries an overview and the potential impacts of climate change. Sci. Total Environ. 434, 213–227. https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2011.09.088.
- Strydom, N.A., Whitfield, A.K., Wooldridge, T.H., 2003. The role of estuarine type in characterizing early stage fish assemblages in warm temperate estuaries, South Africa. African Zool 38, 29–43. https://doi.org/10.1080/15627020.2003.11657192.
- Taglialatela, S., Ruiz, J., Prieto, L., Navarro, G., 2014. Seasonal forcing of image-analysed mesozooplankton community composition along the salinity gradient of the Guadalquivir estuary. Estuar. Coast. Shelf Sci. 149, 244–254. https://doi.org/10.1016/j. ecss.2014.08.021.

Underwood, G.J.C., 2001. Microphytobenthos. Encycl. Ocean Sci.. vol. 3, pp. 1770–1777 Vanney, J.R., 1970. L'hydrologie du bas Guadalquivir. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. Spain.

- Vargas, J.M., García-Lafuente, J., Delgado, J., Criado, F., 2003. Seasonal and wind-induced variability of Sea Surface Temperature patterns in the Gulf of Cádiz. J. Mar. Syst. 38, 205–219. https://doi.org/10.1016/S0924-7963(02)00240-3.
- Vasconcelos, R.P., Reis-Santos, P., Fonseca, V., Ruano, M., Tanner, S., Costa, M.J., Cabral, H.N., 2009. Juvenile fish condition in estuarine nurseries along the Portuguese coast. Estuar. Coast. Shelf Sci. 82, 128–138. https://doi.org/10.1016/j. ecss.2009.01.002.
- Vilas, C., Drake, P., Fockedey, N., 2008. Feeding preferences of estuarine mysids Neomysis integer and Rhopalophthalmus tartessicus in a temperate estuary (Guadalquivir Estuary, SW Spain). Estuar. Coast. Shelf Sci. 77, 345–356. https://doi.org/10.1016/j. ecss.2007.09.025.
- Wanders, N., Wada, Y., Van Lanen, H.A.J., 2015. Global hydrological droughts in the 21st century under a changing hydrological regime. Earth Syst. Dyn. 6, 1–15. https://doi. org/10.5194/esd-6-1-2015.
- Warry, F.Y., Reich, P., Cook, P.L.M., Mac Nally, R., Thomson, J.R., Woodland, R.J., 2016. Nitrogen loads influence trophic organization of estuarine fish assemblages. Funct. Ecol. 30, 1723–1733. https://doi.org/10.1111/1365-2435.12647.

- Whitfield, A.K., 1994. Abundance of larval and O+ juvenile marine fishes in the lower reaches of 3 southern African estuaries with differing freshwater inputs. Mar. Ecol. Prog. Ser. 105, 257–268. https://doi.org/10.3354/meps105257.
- Whitfield, A.K., 1999. Ichthyofaunal assemblages in estuaries: a South African case study. Rev. Fish Biol. Fish. 9, 151–186.
- Whitfield, A.K., Harrison, T.D., 2003. River flow and fish abundance in a South African estuary. J. Fish Biol. 62, 1467–1472. https://doi.org/10.1046/i.1095-8649.2003.00125.x.
- Whitfield, A., Wooldridge, T., 1994. Changes in freshwater supplies to southern African estuaries: some theoretical and practical considerations. Chang. Fluxes Estuaries Implic. from Sci. to Manag. 41–50.
- Whitfield, A.K., Elliott, M., Basset, A., Blaber, S.J.M., West, R.J., 2012. Paradigms in estuarine ecology - a review of the Remane diagram with a suggested revised model for estuaries. Estuar. Coast. Shelf Sci. 97, 78–90. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.11.026.
- Wolanski, E., Chícharo, L., Chícharo, M.A., Morais, P., 2006. An ecohydrology model of the Guadiana Estuary (South Portugal). Estuar. Coast. Shelf Sci. 70, 132–143. https://doi. org/10.1016/j.ecss.2006.05.029.
- Wu, H., Chen, J., Xu, J., Zeng, G., Sang, L., Liu, Q., Yin, Z., Dai, J., Yin, D., Liang, J., Ye, S., 2019. Effects of dam construction on biodiversity: a review. J. Clean. Prod. 221, 480–489. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.001.
- Xoplaki, E., González-Rouco, J.F., Luterbacher, J., Wanner, H., 2004. Wet season Mediterranean precipitation variability: influence of large-scale dynamics and trends. Clim. Dyn. 23, 63–78. https://doi.org/10.1007/s00382-004-0422-0.
- Zarzuelo, C., Díez-Minguito, M., Ortega-Sánchez, M., López-Ruiz, A., Losada, M.T., 2015. Hydrodynamics response to planned human interventions in a highly altered embayment: the example of the Bay of Cádiz (Spain). Estuar. Coast. Shelf Sci. 167, 75–85. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.07.010.
- Zarzuelo, C., López-Ruiz, A., Díez-Minguito, M., Ortega-Sánchez, M., 2017. Tidal and subtidal hydrodynamics and energetics in a constricted estuary. Estuar. Coast. Shelf Sci. 185, 55–68. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.11.020.
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A., Smith, G.M., 2009. Mixed Effects Models and Extensions in Ecology With R. Springer, New York, USA.
- Zuur, A.F., Saliev, A.A., Ieno, E.N., 2015. A Beginner's Guide to Generalised Additive Mixed Models With R. Highland Statistics Ltd, Newburgh, UK.

Table A.1. Mean and range (minimum and maximum) values of the physicochemical and biological variables measured in each zone of every location during the study period (dry warm seasons of 2016, 2017 and 2018). DO: dissolved oxygen; OS: oxygen saturation; Chla: chlorophyll-a; TSS: total suspended solid; SIM: suspended inorganic matter; SOM: suspended organic matter.

		CADIZ	BAY			GUADA	LQUIVIR			ODIEL	-TINTO		GUADIANA			
VARIABLE	INNE	R ESTUARY	NE	EARSHORE	INN	ER ESTUARY	NE	ARSHORE	INN	ER ESTUARY	NE	ARSHORE	INNEF	RESTUARY	NEARSHORE	
	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range
Salinity (PSU)	37.42	35.67 - 38.67	36.7	35.73 - 37.37	14.4	4.9 - 24.33	36.57	35.98 - 36.9	36.29	35.37 - 36.97	36.55	35.97 - 37.05	14.42	4.09 - 24.41	36.65	36.1 - 37.15
Turbidity (NTU)	12.03	6.68 - 20.63	5.8	3.08 - 8.47	187.31	68.46 - 332.45	5.31	2.98 - 8.64	7.58	4.38 - 12.76	2.05	0.28 - 5.04	41.39	14.35 - 79.33	3.51	0.71 - 7.64
Temperature (°C)	25.65	24.69 - 26.31	24.11	23.54 - 24.95	25.85	22.6 - 28.24	22.77	20.65 - 25.29	23.99	19.61 - 27.62	22.05	19.1 - 25.88	24.95	22.25 - 27.66	20.82	19.53 - 22.97
рН	8.07	7.91 - 8.18	8.08	8.02 - 8.19	7.97	7.83 - 8.08	8.11	8.04 - 8.2	7.86	7.66 - 8.16	8.11	7.98 - 8.29	8.07	7.88 - 8.26	8.11	7.97 - 8.28
DO (mg/L)	6.2	5.29 - 6.8	6.91	6.5 - 8.22	6.84	6.44 - 7.46	7.91	7.05 - 8.56	6.72	5.83 - 8.08	7.36	6.1 - 8.3	7.39	6.67 - 8.2	7.57	6.64 - 8.89
OS (%)	91.83	79.77 - 101.48	99.92	93.18 - 117.87	89.21	84.33 - 94.4	107.82	98.31 - 115.28	96.96	87.37 - 111.03	103.58	90.23 - 122.02	95.85	90.39 - 104.63	103.76	92.53 - 122.66
Chla (µg/L)	4.71	2.28 - 6.33	5.31	2.64 - 9.36	5.34	4.27 - 6.29	6.3	4.45 - 7.95	8.04	5.01 - 12.71	3.2	2.26 - 5.68	7.37	3.79 - 12.06	3.05	1.84 - 4.45
TSS (mg/L)	63.9	40.4 - 94.75	44.65	36.5 - 53.08	230.61	117.25 - 341.5	55.87	37 - 83.5	44.38	29.5 - 54.67	38.08	26.7 - 48.27	81.02	56.83 - 131.2	41.46	36.6 - 46
SIM (mg/L)	51.56	32.13 - 77.25	35.89	29.38 - 43.08	185.29	95 - 287	44.42	29.25 - 67	35.8	24.3 - 44.67	30.12	20.8 - 38.93	67.64	46 - 113.2	32.77	27.35 - 37.2
SOM (mg/L)	12.35	7.73 - 17.5	8.76	7.12 - 10	45.32	22.25 - 62.27	11.45	7.75 - 16.5	8.58	5.2 - 10.75	7.96	5.9 - 10	13.38	10.17 - 18	8.7	1.6 - 13.27
Jellyfish (L/1,000 m <sup>3</sup> )	1424.79	0 - 4853.83	709.53	0 - 4257.15	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	0	0 - 0	12477.35	0 - 36843.13	0	0 - 0
Macrozooplancton (gr	< 3	-	< 3	-	427 88	95 16 - 993 71	15.24	0 - 43 63	< 3	_	< 3	-	165 29	0 - 745 52	4 48	0 - 13 75
fresh weight/1,000m <sup>3</sup> )	.5	-		-	727.00	55.10 555.71	13.24	0 -3.03		-		-	103.29	0 743.32	+0	0 13.75







# INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2020-2021), AUSPICIADAS POR LA AUTORIDAD PORTUARIA DE SEVILLA EN EL ÁMBITO DE LA FILOSOFÍA EMERGENTE "WORKING WITH NATURE"

# INFORME, DICIEMBRE 21

Laboratorio de Biología Marina (LBM) de la Universidad de Sevilla (US)

- Facultad de Biología - Dpto. Zoología.

El Área de Investigación I+D+i del Acuario de Sevilla.

La Estación de Biología Marina del Estrecho, Ceuta.



# Funded by the European Union

The contents of this publication are the sole responsibility of (name of the implementing partner) and do not necessarily reflect the opinion of the European Union.

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
2. ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR	3
2.1. OBJETIVOS	3
2.2. MATERIAL Y MÉTODOS	Э
2.2.1. ÁREA DE ESTUDIO	9
2.2.2. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS	)
2.2.3. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS12	2
2.2.3.1. Perfiles físico-químicos de la columna de agua13	3
2.2.3.2. Granulometría	3
2.2.3.3. Contenido en materia orgánica1	5
2.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS	5
2.2.4.1. Análisis descriptivos de la comunidad1	7
2.2.4.2. Análisis multivariantes	7
2.2.4.3. Indicadores de los elementos de calidad biológicos19	9
2.2.4.4. M-AMBI (Multivariate AZTI Marine Biotic Index)	)
2.2.4.5. BENFES (Benthic Families Ecological Status Index)	3
2.3. SEGUIMIENTO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR 2020-202124	4
2.4. SEGUIMIENTO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR 2022-202324	4
2.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
3. ESTUDIO DE LA COMUNIDAD ZOOPLANCTÓNICA EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR	7
3.1. OBJETIVOS	7
3.2. ACTUACIONES REALIZADAS	7
3.2.1. SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD DE ZOOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2021)2	7
3.2.1.1. ÁREA DE ESTUDIO	3
3.2.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS	Э
3.2.1.2.1. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS	Э
3.2.1.2.2. TRATAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS	Э
3.2.1.2.3. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS	Э
3.2.1.2.3.1. Sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión	)
3.2.1.2.3.2. Clorofila	)

3.2.1.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS	.30
3.2.2. PUBLICACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ESTUDIO DE LOS EFECTOS DEL DRAGADO DE MANTENIMIENTO DE 2017 SOBRE LAS VARIABLES FÍSICO- QUÍMICAS Y LAS COMUNIDADES PLANCTÓNICAS DE LA COLUMNA DE AGUA E ZONAS POLI (SALINAS) Y MESOHALINAS (PUNTALETE)	EN .31
3.2.3. ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LA DÁRSENA Y DE LA COMUNIDAD PLANCTÍNICA QUE LLKA HABITA	.32
3.2.3.1. ÁREA DE ESTUDIO	.32
3.2.3.2. MATERIAL Y MÉTODOS	.33
3.2.3.2.1. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS	.33
3.2.3.2.2. TRATAMIENTO DE LOS DATOS	.33
4. ESTUDIOS EXPERIMENTALES SOBRE LA INFLUENCIA DE LA TURBIDEZ EN LA FAUNA	۱ .34
5. ANEXO. Relación y encabezado de las publicaciones realizadas hasta la fecha	.37

# 1. INTRODUCCIÓN

El presente informe concierne al proyecto titulado "Investigaciones biológicas y ambientales en el estuario del río Guadalquivir (periodo 2020-2021), auspiciadas por la Autoridad Portuaria de Sevilla en el ámbito de la filosofía emergente 'working with nature', el cual concede continuidad a los anteriores, orientados a generar conocimiento y propiciar una mejor gestión ambiental y manejo de las potencialidades del estuario del río Guadalquivir y a la mejora de la navegación en el mismo. El informe incluye la labor desarrollada (especialmente actuaciones, metodología de trabajo y resultados preliminares) por el LBM de la US durante 2021, así como la compilación de publicaciones científicas de 2020-2021 y de otras de fechas precedentes, en el ámbito de los proyectos APS-US iniciados en 2014 y canalizados a través de la FIUS.

En este nuevo proyecto, como continuidad de los proyectos anteriores concertados entre ambas instituciones se persigue, entre otros objetivos importantes, contribuir a la implementación de series temporales largas en un escenario ecológico intrínsecamente fluctuante como es el estuario del Guadalquivir, teniendo en consideración la filosofía emergente de "Working With Nature". Se pretende, además, asesorar a la APS mediante criterios de sostenibilidad ambiental sobre futuras actuaciones que esta institución pretenda llevar a cabo en el futuro. Los objetivos trazados para este periodo, cuyas campañas oceanográficas en su mayoría serán ejecutadas conjuntamente entre las US y la UCA, son los siguientes:

Durante los próximos años se cambiará el enfoque de los estudios, adquiriendo una visión mucho más global, muestreando el estuario en su totalidad. De este modo, todos los procesos que ocurren en el estuario y la dársena, así como sus efectos, podrán ser monitorizados.

Como objetivos generales se incluyen:

## 1) Ampliación del monitoreo intensivo a las zonas altas del estuario y a la dársena

En los proyectos precedentes, la parte más intensiva del monitoreo ambiental del estuario y de las comunidades que lo habitan se concentró en la zona baja, entre Chipiona y la masa de agua 5 PSU. El motivo para ello era que esta zona del estuario es la de mayor actividad biológica, con mayor diversidad y la más relevante en cuanto a su importancia en la cría de especies marinas, especialmente en las de interés pesquero. Además, por cuestiones prácticas, durante los primeros años era necesario levantar abundante información desde cero y un estudio intensivo del estuario completo era inabordable. Los datos que se han obtenido en las zonas más altas han sido principalmente físico-químicos y con una periodicidad menor.

Dado el conocimiento ya adquirido del funcionamiento del estuario y de las técnicas y metodologías que necesitamos para su estudio, se ampliará el monitoreo a todo el estuario, incluyendo la dársena, lo que permitirá obtener una visión ambiental integrada y global. Este monitoreo será con periodicidad aproximadamente mensual para el plancton y la columna de agua, y semestral para el bentos. Adicionalmente, la inclusión de las zonas aledañas a las principales poblaciones ribereñas, Puebla, Coria, Gelves e incluyendo Sevilla capital, coadyuvarán a conceder una importante dimensión social y difusión a estos estudios.

Para este objetivo general se propone la descripción del funcionamiento del sistema a nivel global y la identificación de los procesos claves del mismo, además de las posibles vías de gestión de tales procesos. Como objetivos específicos, se incluye el estudio de procesos claves que pueden afectar de forma muy significativa al funcionamiento y al estado ecológico del estuario, como son:

a) Efecto de la extracción masiva de agua del estuario durante la campaña de arroz. En primavera, un periodo fundamental en el que está aumentando la temperatura y las abundancias de especies claves en las redes tróficas del estuario, se produce una extracción masiva de agua, por lo que se retira del estuario, también masivamente, materia orgánica, nutrientes, sedimento en suspensión y organismos del plancton. El efecto que esto pueda tener sobre el funcionamiento y el estado ecológico del sistema es desconocido y se abordará su estudio.

b) Procesos de hipoxia en la zona alta del estuario. Se han descrito procesos de hipoxia en la parte alta del estuario, de los que ya tenemos algunos datos de periodos concretos del ciclo anual. Estos fenómenos generan procesos agudos de mortandades de peces, que dado que ocurre en zonas pobladas (Puebla, Coria, Gelves), provocan alarma social. La información previa explicaba este fenómeno por la conjunción de diversas causas: la alta turbidez del estuario bloquea la penetración de la luz y la producción primaria, y con ella la producción de oxígeno por el fitoplancton; además, la elevada turbidez está asociada a gran cantidad de material en suspensión, parte del cual es materia orgánica, lo que estimula la actividad de bacteriana y toda la línea heterotrófica de las cadenas alimentarias, generando un consumo de oxígeno elevado. Esto ocurre en todo el estuario, particularmente en las zonas más turbias. Para la zona alta, donde hemos detectado procesos de hipoxia con mayor frecuencia, debe añadirse que, debido a la reflexión de la onda de marea en la presa de Alcalá del Río, esta onda presenta un comportamiento parcialmente estacionario, lo que autores anteriores han utilizado para explicar la mayor frecuencia de procesos de hipoxia en esta zona.

4

Sin embargo, la información que hemos obtenido de los estudios precedentes apunta a que podría existir una influencia importante de procesos antrópicos como el funcionamiento de depuradoras o de poblaciones en esas zonas. Esto abriría una posibilidad de gestión de estos problemas ambientales más sencilla y aplicable a corto plazo.

Además, no se dispone de información alguna sobre las comunidades biológicas y su funcionamiento en esta zona alta del estuario, ni de la influencia de los procesos de hipoxia sobre estas comunidades, de ahí que en esta nueva fase de estudio del estuario se monitorizarán los procesos de hipoxia de la zona alta y su influencia sobre las comunidades biológicas, con el objetivo de identificar las posibles causas y proponer medidas de gestión.

c) Monitoreo de las comunidades planctónicas de la dársena del Guadalquivir. En algunos muestreos puntuales se ha observado que la dársena del Guadalquivir presenta un funcionamiento notablemente diferente a la zona circulante del estuario. Principalmente, presenta una salinidad mayor y una turbidez mucho menor. Esto a su vez favorece una mayor penetración de la luz en la columna de agua, una producción primaria mucho más intensa y la presencia de elevadas concentraciones de fitoplancton, lo que implicaría que la dársena podría tener una importante función de absorción de nutrientes y CO<sub>2</sub>, y de liberación de oxígeno (en los muestreos desarrollados se han observado siempre saturaciones de oxígeno notablemente superiores al 100% lo que supone liberación de oxígeno a la atmósfera). Esta función como "pulmón" dentro de la ciudad puede ser de interés social.

Adicionalmente, y debido a las diferencias ambientales observadas, la dársena presenta una comunidad planctónica particular y muy diferente a la encontrada en los tramos abiertos. Se pretende caracterizar tanto su composición como su funcionamiento a lo largo del ciclo anual.

Por otro lado, la comparación de zonas de salinidad equivalente en el tramo abierto del estuario, pero que presentan mayor turbidez, puede ofrecer una información fundamental sobre la influencia de los principales factores ambientales en las comunidades de la dársena y de la zona media y alta del estuario. Esto, a su vez, permitirá desarrollar herramientas de gestión.

d) Estudios de los efectos de las descargas de la presa y propuestas de gestión de su apertura. Se propone ampliar la información que se ha acumulado hasta la fecha sobre estos procesos, con una visión global del estuario. El análisis de la información adquirida hasta la fecha sobre estos procesos, que se ha centrado en la

5

zona baja del estuario, ya aporta información relevante que servirán de punto de partida. Sin embargo, dado lo irregular e impredecible de estos procesos, quedan bastantes incógnitas que se pretenden resolver mediante un enfoque más global del estuario. Al mismo tiempo, dado que la gestión de estos procesos afecta a otras instituciones y entidades (i.e. CHG y Endesa) y, por tanto, es un aspecto delicado, se pretende profundizar en el conocimiento de estos procesos y confirmar algunos de los hallazgos realizados hasta el momento, para poder proponer medidas de gestión de forma robusta y con la mayor seguridad posible.

### 2) Estudios experimentales sobre la influencia de la turbidez en la fauna.

Durante estos años se han conseguido resolver algunos de los problemas de funcionamiento de las instalaciones experimentales del acuario, al mismo tiempo que se han puesto a punto metodologías concretas para el estudio de algunos de los problemas ambientales asociados a la turbidez.

El desarrollo de estudios experimentales permite establecer con más precisión la naturaleza y el alcance de la influencia de la turbidez sobre la fauna, que aquellos estudios de campo en los que no es posible controlar todos los factores que influyen en los resultados.

Así, se propone la continuación de la línea de trabajo iniciada con anterioridad, inherente a la influencia de la turbidez en el funcionamiento de la fauna, principalmente sobre especies de peces.

### 3) Seguimiento ambiental de los dragados.

Se propone continuar los estudios sobre los efectos de los dragados que se lleven a cabo durante este periodo, completando el conocimiento acumulado hasta la fecha

## 4) Difusión de los estudios y de sus resultados.

La inclusión de zonas aledañas a las principales poblaciones ribereñas es una oportunidad para divulgar el patrimonio natural asociado a las comunidades biológicas del Guadalquivir, las características ambientales de estos ecosistemas, su problemática ambiental y las posibles vías de gestión y mejora.

En este sentido se ha empezado a acumular abundante material gráfico sobre los trabajos realizados y sobre la comunidad biológica del estuario.

En las siguientes páginas se presenta con más detalle las acciones relacionadas con las dinámicas de las comunidades del bentos y del plancton en el presente año

6

2021, además de lo primeros avances de los trabajos realizados sobre el efecto de la turbidez sobre los peces, en condiciones controladas. Además, se presentan resultados ya publicados sobre el estudio de la influencia de los dragados de mantenimiento sobre la columna de agua y las comunidades que se desarrollan en la misma. Con esta publicación, junto con otros estudios también publicados con anterioridad y que se presentan como anexo, el estuario del Guadalquivir se ha convertido en uno de los casos de estudio donde la influencia de los dragados de mantenimiento en diferentes periodos se ha investigado en mayor profundidad. Se presentan también en este anexo otros artículos publicados en el ámbito del convenio entre la APS y la US.

# 2. ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR

Uno de los principales objetivos es establecer series temporales largas del estado de las comunidades bentónicas que sirvan como "centinelas" de los posibles cambios que se originen en el sistema del estuario del Guadalquivir. En este sentido, a partir del año 2015 se ha iniciado un plan de seguimiento sobre las comunidades bentónicas presentes en los aproximadamente 30-40 km finales del estuario del río Guadalquivir y áreas próximas de la desembocadura. Desde la campaña de 2017 se ha incluido el seguimiento paralelo de las comunidades intermareales, una zona que ha demostrado albergar una diversidad relativamente mayor a ciertos tramos de la zona submareal en el estuario.

Al respecto, el bentos del estuario incluye numerosas especies sedentarias estrictas (en su fase adulta) las cuales pueden reportar importante información sobre su nivel de estructuración biológica, biodiversidad y sensibilidad ambiental ante determinadas afecciones de origen natural y antrópico, lo que puede contribuir en el futuro a una mejor gestión de actuaciones antropogénicas, como las derivadas de los dragados de mantenimiento que la Autoridad Portuaria de Sevilla debe acometer periódicamente. Además, el seguimiento de estas comunidades puede ayudar a detectar otros impactos que de otra manera pasarían desapercibidos.

# **2.1. OBJETIVOS**

Las comunidades animales del bentos representan el compartimento de la fauna que se encuentra asociado al fondo, y están constituidas por organismos en gran parte sésiles o de movimientos muy limitados y por tanto con poca capacidad de huida. Muchos animales del bentos suelen presentar ciclos de vida suficientemente largos como para permanecer bajo la influencia de los factores ambientales durante mucho tiempo por lo que pueden servir de centinelas de lo que acontece en el medio, no ya como especies individuales sino tomando como referencia la composición y estructuración de la comunidad global. El estrés ambiental influye sobre los organismos de forma individual, pero sus efectos pueden ser reconocidos en el ámbito de poblaciones o de comunidades, ya que inducen cambios cuantitativos y cualitativos en la estructura de estas comunidades. Además, suponen un importante elemento para el desarrollo y funcionamiento de las redes tróficas que implican a otros organismos tales como peces y aves. Por estas razones son de los mejores bioindicadores de las condiciones ambientales que imperan en los sistemas acuáticos. Las comunidades del bentos constituyen, pues, un elemento fundamental de control y vigilancia tanto de las actuaciones de dragados como de la futura gestión integral del estuario.

En este informe se detallan

- Actuaciones llevadas a cabo en 2021.
- Actuaciones objetivo a realizar en el periodo 2022-2023.
- Resultados científicos en forma de publicación en revistas internacionales.

# 2.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Para el seguimiento de las comunidades bentónicas asentadas a lo largo de los últimos 30-40 km del estuario del río Guadalquivir, los estudios anteriores han demostrado la idoneidad de dividir esta parte del río en 6 zonas con distintas condiciones ambientales, junto con otra zona externa en el medio marino en el área de influencia de la desembocadura (figura 2.1). Además, los resultados obtenidos hasta el momento, y con el objeto de evitar la redundancia en los datos y agilizar la obtención de resultados, han permitido definir como la época más adecuada de acuerdo con los objetivos del estudio al final de la temporada de verano.



Figura 2.1. Zonas en las que se ha dividido el tramo final del estuario del Guadalquivir para los estudios de seguimiento temporal de la comunidad del bentos.

## 2.2.1. ÁREA DE ESTUDIO

Para la selección de los puntos de muestreo del submareal, en cada una de las zonas en las que se ha dividido el tramo final del estuario se han elegido 3 puntos aleatorios en cada zona de muestreo. Los puntos se han establecido en la orilla izquierda del río hasta el canal de navegación. Paralelamente, por los resultados obtenidos de estas actuaciones, desde el muestreo de septiembre de 2017 se ha optado por realizar un seguimiento más específico en la zona intermareal. Para ello se han dividido los tramos de Esparraguera a Bonanza en distintas zonas y se han elegido 3 al azar en cada tramo para la recogido de muestras. De esta manera, en el muestreo de 2020, el total de muestras ha sido de 87, de las cuales 63 corresponden a muestras submareales y 24 a muestras intermareales.

# 2.2.2. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

La toma de muestras de sedimento submareales se realizó desde la embarcación "LBM III", propiedad de la Universidad de Sevilla y adquirida



Figura 2.2. Embarcación LBM III. Muestras embolsadas para traslado a puerto. Proceso de tamizado en el puerto.

fundamentalmente para estudios en el estuario del Guadalquivir. Las muestras se tomaron mediante una draga tipo van Veen, con una superficie operativa de 0,05 m<sup>2</sup> y un peso aproximado de 8 kg. Este tipo de draga posibilita la toma de superficies rectangulares en los muestreos y que, independientemente del tipo de sedimento, profundiza en éste como mínimo 10 cm, fracción en la que se encuentra representada la mayor parte de la fauna sujeta a estudio. Una vez lanzada y recogida la draga, el contenido es embolsado y etiquetado para su traslado (figura 2.2).

En cada punto de recogida de muestras submareales se tomaron 3 réplicas con una superficie total de 0,15 m<sup>2</sup> destinadas al análisis de las comunidades biológicas. Diversos autores señalan que la superficie menor que estima la integración del total de taxones en el sedimento es de 0,1m<sup>2</sup>, por lo que la superficie total muestreada en este estudio se considera representativa de la zona.

Para las muestras de intermareal, en cada una de las zonas muestreadas se delimitaron 2 cinturones, uno situado en el límite superior de marea y otro en el inferior,



Figura 2.3. Toma de muestras en la zona intermareal.

en cada uno de ellos se recogieron 3 muestras de sedimento para análisis biológico mediante una calicata de  $0,2 \text{ m x } 0,2 \text{ m } (0.04 \text{ m}^2)$  (figura 2.3). Dependiendo de la zona, el acceso a ellas se realizó bien desde tierra bien desde la embarcación LBM III.

El estudio, tanto de la zona submareal como de la intermareal, se centró en la identificación y caracterización de las comunidades de macrofauna bentónica. Aunque

el criterio aplicado a la macrofauna hace referencia a un tamaño superior a 1mm, las muestras fueron cribadas con un tamiz de 0,5 mm de luz de malla. De esta forma los individuos pertenecientes a la meiofauna (organismos con un tamaño inferior a 0,5 mm) no pueden ser retenidos, pero se asegura la detección de juveniles macrobentónicos, muy importantes para la valoración global de la calidad ambiental. Así mismo, se asegura la captura de organismos vermiformes que, debido a su especial morfología, podrían no ser retenidos con luces de malla superiores y que, dada su importancia cualitativa y cuantitativa en la estructura de las comunidades bentónicas, podrían ocasionar errores en la interpretación de los resultados.

Una vez tamizadas, las muestras fueron fijadas con alcohol al 70% y teñidas con el colorante rosa de Bengala (que tiñe determinados componentes lipídicos de los individuos, facilitando su separación del sustrato) para posteriormente ser determinados y cuantificados a nivel de especie cuando fue posible.



Figura 2.4. Sonda multiparamétrica Eureka Manta 2. Medida in situ del potencial REDOX.

# 2.2.3. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS

Paralelamente al muestreo biológico, se efectuó la toma de muestras para los análisis físico-químicos. En cada punto submareal se tomó una muestra de sedimento mediante draga van Veen para el análisis granulométrico y de contenido orgánico y, mediante la sonda multiparamétrica Eureka Manta 2 (figura 2.4), se realizaron perfiles en profundidad y se obtuvieron los distintos parámetros físico-químicos medidos en el agua de la columna de agua (turbidez, salinidad, conductividad, oxígeno disuelto, temperatura y pH. El potencial REDOX fue medido *in situ* en el sedimento mediante electrodo (Sentix-ORP) con pHmetro WTW pH 1970i (figura 2.4).

Además, se tomaron muestras de sedimento para la determinación de la concentración de metales pesados y nutrientes. El sedimento fue tomado de la capa superficial de la muestra extraída mediante draga Van Veen y conservado en fresco en

bote hermético etiquetado para su traslado a laboratorio donde se procedió al secado en estufa a 50°C (figura 2.5). Las muestras de sedimento secas han sido enviadas a los laboratorios del IRNAS (Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla-CSIC) para la determinación del contenido en metales, así como para la determinación del carbono orgánico total (COT), nitrógeno total (método de Kjedahl) y fósforo total (método de Olsen).

De igual forma, en el intermareal se tomaron dos muestras de sedimento superficial en cada punto para el análisis granulométrico y de contenido orgánico y de metales y nutrientes, respectivamente.

## 2.2.3.1. Perfiles físico-químicos de la columna de agua

Para estudiar la estructura de la columna de agua en las distintas zonas de muestreo y poder compararlas tanto espacial como temporalmente, la relación de cada variable con la profundidad se analizó mediante modelos generalizados aditivos que permiten el estudio de relaciones no lineales. En cada zona de muestreo, cada uno de los 3 perfiles realizados se consideró como un nivel aleatorio en el modelo y se obtuvo la predicción del modelo promedio por una profundidad estandarizada de 0 a 1. Para una visualización que permita la interpretación y la comparación, los datos obtenidos de la forma expuesta serán representados con el programa Ocean Data View (Schlitzer, 2016), que realiza una interpolación de esos datos en toda la zona de estudio.

## 2.2.3.2. Granulometría

La composición granulométrica del sustrato es uno de los factores determinantes en la composición y estructura de las comunidades del macrobentos en sustratos blandos (Rhoas, 1974; Buchannan, 1984). La presencia de altas proporciones de



Figura 2.5 Proceso de secado de muestras de sedimento para la posterior medida de parámetros físicoquímicos.

elementos finos en los sedimentos conlleva la existencia de poblaciones poco diversas, mientras que una mayor heterogeneidad espacial (conseguida con el aumento del tamaño de los granos) potencia un aumento de diversidad biológica.

Para la obtención de los distintos componentes granulométricos se ha utilizado el método propuesto por Guitián y Carballas (1976). Las muestras se secan en una estufa a 100°C durante al menos 24 horas, de forma que se elimina el contenido en agua de la muestra. Pasado ese tiempo, se pesan 100 gramos de sedimento seco y se colocan en una volteadora durante 45 minutos con el fin de disgregar el sedimento. Posteriormente, los 100 gramos de sedimento se tamizan a través de una columna de tamices para retener en cada uno de ellos las distintas fracciones granulométricas. La columna de tamices (figura 2.6) está formada por tamices con luces de malla de 5, 2, 1, 0'5, 0'25, 0'125, 0'063 milímetros, y tras éstos se coloca un fondo donde se recoge la fracción pelítica.





Mediante este método se pueden discriminar las distintas fracciones granulométricas cuando éstas devienen compuestas mayoritariamente por elementos arenosos y la fracción pelítica es baja (inferior al 5%). La columna de tamices se somete a vibración mediante un agitador mecánico durante 30 minutos, pasados los cuales el contenido de cada tamiz es pesado en una balanza de precisión y luego mediante los porcentajes acumulados de los pesos obtenidos en cada uno de los tamices se obtiene el valor de la mediana. Este valor tipifica el sedimento mediante una aproximación a la escala geométrica de Wenthworth (Buchanann, 1984), así:

2> Q<sub>50</sub>> 1 Arena muy gruesa
$1 > Q_{50} > 0$ '5 Arena gruesa

0'5> Q<sub>50</sub>> 0'25 Arena media

0'25> Q<sub>50</sub>> 0'125 Arena fina

0'125> Q<sub>50</sub>> 0'063 Arena muy fina

Las características hidrodinámicas de la zona determinan la heterogeneidad del sedimento. Esta heterogeneidad puede medirse mediante el coeficiente de selección S<sub>0</sub> (S<sub>0</sub>= $\sqrt{Q_{25}/Q_{75}}$ , donde Q<sub>25</sub> y Q<sub>75</sub> son los cuartiles 25 y 75 respectivamente). Así, dependiendo del valor obtenido para S<sub>0</sub> la selección de la muestra será:

S<sub>0</sub>< 1'17 Selección muy buena

1'17< S<sub>0</sub>< 1'20 Selección buena

1'20< S<sub>0</sub>< 1'35 Selección moderadamente buena

1'35< S<sub>0</sub>< 1'87 Selección moderada

1'87< S<sub>0</sub>< 2'75 Selección pobre

2'75< S<sub>0</sub> Selección mala

Un coeficiente de selección bueno acontece en situaciones en las que existe una homogeneidad en el tamaño de grano y un mal coeficiente corresponde a un grano muy diverso.

En aquellas muestras con un contenido en elementos finos superior al 5%, se ha procedido a una variante del método anterior. Para ello, se pesan 100 gramos de sedimento seco y se humedecen durante 24 horas. Posteriormente, el sedimento se pasa por un tamiz de luz de malla 0'063mm de tal forma que se elimina el sedimento inferior a este tamaño, mientras el resto vuelve a ser secado en estufa durante al menos 24 horas y se procede a su paso por la batería de tamices y el agitador mecánico, al igual que en el procedimiento anterior. Mediante los porcentajes acumulados de los pesos obtenidos en cada uno de los tamices más el porcentaje de sedimento eliminado se obtiene el valor de la mediana y se tipifica el sedimento.

## 2.2.3.3. Contenido en materia orgánica

El contenido en materia orgánica particulada (aquella presente en el componente del sedimento con tamaño de grano inferior a 0'5 milímetros) se ha obtenido mediante la calcinación de las muestras. Para el desecado de las muestras se ha utilizado una estufa a 70° C durante al menos 24 horas. De cada una se extrajeron 3 réplicas de 2 gramos de peso seco, que fueron calcinadas mediante horno mufla a 500° C durante 4

horas.

La diferencia entre el peso inicial y el peso de las cenizas resultantes expresado en porcentajes (peso seco libre de cenizas, PSLC) se interpreta como el contenido orgánico del sedimento (Crisp, 1984). La media de los resultados de las tres réplicas se ha considerado como el valor del contenido en materia orgánica del sedimento.

### 2.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS

Los datos obtenidos tras la determinación faunística se resumen en una matriz taxón-estación. Las distintas especies obtenidas se han unido según sus respectivos grupos taxonómicos: anélidos, artrópodos, equinodermos, moluscos y otros.

Se ha procedido de igual modo en el estudio de los distintos parámetros físicoquímicos medidos en el agua del fondo y el sedimento. En el caso de los metales pesados medidos en el sedimento se ha calculado el índice de geoacumulación (Igeo) para algunos de ellos. Este índice supone una medida relativa de contaminación por metales y compara la concentración de un metal concreto con la concentración que se considera normal para la zona de estudio. Como referencia se han empleado los niveles establecidos por Ruiz (2001) para los estuarios de la costa atlántica andaluza (tabla 2.1). El índice se expresa como:  $I_{geo}$ =  $log_2$  ( $C_n/1,5 \times B_n$ ), donde  $C_n$  es la concentración medida y  $B_n$  la concentración de referencia. Los valores del índice se clasifican en cinco grupos: no contaminado ( $I_{geo}$ <1); muy poco contaminado ( $1 < I_{geo}$ <2); poco contaminado ( $2 < I_{geo}$ <3); contaminación moderada ( $3 < I_{geo}$ <4); contaminación alta ( $4 < I_{geo}$ <5); y contaminación muy alta ( $I_{geo}$ >5).

	Cr	Cu	Zn	Pb
Arenas medias	6	6	6	2
Arenas finas	9	13	16	4
Fangos	21	13	39	15

Tabla 2.1 Valores de referencia de algunos metales para los estuarios de la costa atlántica andaluza (Ruiz, 2001). Concentraciones medidas en mg/kg.

Paralelamente se han relacionado las concentraciones de algunos metales pesados con los valores de calidad del sedimento (SQV, *sediment quality values*) establecidos por National Oceanic and Atmospheric Administration (Long *et al.*, 1995) y por DelValls y Chapman (1998).

El conjunto de datos ha sido sometido a una serie de análisis numéricos, con el

objeto de describir e interpretar, en la medida de lo posible, la composición y estructura de la comunidad macrobentónica de sustrato blando de las zonas estudiadas.

## 2.2.4.1. Análisis descriptivos de la comunidad

Estos análisis pretenden estimar los cambios producidos en un gradiente espacio-temporal en las comunidades. Entre ellos se encuentran: el número de especies, abundancia, diversidad y equitatividad.

Nº de especies: este índice muestra únicamente el número de taxones de un mismo rango (especie) que identificamos en cada punto de muestreo independientemente de la abundancia relativa de cada uno de ellos.

Abundancia: es el número de individuos de un taxón o conjunto de ellos encontrados en un punto o conjunto de puntos de muestreo y se suele expresar como número de individuos por m<sup>2</sup>.

Diversidad: el índice de diversidad utilizado es el de Shannon-Wiener H' (Shannon y Weaver, 1963) con el logaritmo en base e.

El índice se expresa como:

H'= -  $\sum p_i \log_e p_i$ 

donde  $p_i = n_i/N y n_i$  es el número de individuos de la especie i.

Equitatividad: se expresa como el índice de Pielou (Pielou, 1966). Este índice está determinado por la relación entre la diversidad real (H') y la diversidad máxima (H'<sub>max</sub>). La diversidad máxima se alcanza cuando todas las especies tienen la misma abundancia. H'<sub>max</sub> se puede expresar como el log<sub>e</sub> del número de especies.

La fórmula del índice de equitatividad es:

 $J' = H'/H'_{max}$ .

## 2.2.4.2. Análisis multivariantes

Los análisis univariantes son especie-independientes, por lo que para una comparación más efectiva entre las estaciones o entre los periodos debemos recurrir a otros que sean especies-dependientes.

Para ello se ha seguido una modificación del esquema propuesto por Clarke (1993):

 Representación de la estructura de la comunidad por medio de análisis de ordenación de las estaciones. Análisis de las relaciones entre las variables bióticas y abióticas.

Los distintos análisis han sido realizados por medio de los paquetes estadísticos PRIMER 6 ("Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research"), IBM SPSS Statistics25 y RStudio v. 0.98.953.

Índice de similaridad de Bray-Curtis: la finalidad de este índice (Bray y Curtis, 1957) es analizar las afinidades entre las distintas estaciones o periodos de muestreo. Los datos se transforman mediante la raíz cuarta ( $4\sqrt{x}$ ) (Clarke y Warwick, 1994), con objeto de mitigar el efecto sobre la similaridad de las especies más abundantes, de modo que las menos abundantes contribuyan en mayor medida a esta similaridad.

La fórmula del índice de similaridad de Bray-Curtis es la siguiente:

 $S_{jk} = 100 (1 - \Sigma_{i=1}^{p} |y_{ij} - y_{ik}| / \Sigma_{i=1}^{p} |y_{ij} + y_{ik}|)$ 

donde:

Sjk es la similaridad entre las muestras j y k

y<sub>ij</sub> es el valor de la especie i en la muestra j

yik es el valor de la especie i en la muestra k

El valor de la similaridad varía entre 0 y 100, dependiendo de si las muestras comparadas no tienen ninguna especie en común (0), o bien cuando todos los valores para todas las especies son idénticos en ambas muestras (100).

PERMANOVA: Las diferencias entre las comunidades de las áreas de estudio en los distintos meses de muestreo se analizarán mediante un análisis de ANOVA multivariante por permutaciones o PERMANOVA (Anderson, 2001). Se ha realizado mediante un diseño de dos factores: Zona (6 niveles, fijo) y Año (5 niveles, fijo). Las diferencias entre áreas de muestreo en los distintos meses con respecto a la diversidad, riqueza de especies y la abundancia fueron analizadas mediante un análisis univariante PERMANOVA.

Análisis de ordenación MDS (*Non-metric Multidimensional Scaling*): representa la estructura biológica en un espacio multidimensional, de forma que la distancia entre dos puntos de muestreo o periodo es proporcional a la similaridad en la composición de sus comunidades de acuerdo con el índice de Bray-Curtis.

La ordenación resultante puede ser contrastada mediante el coeficiente de estrés de Kruskal (Kruskal y Wish, 1978). Valores de este coeficiente por debajo de 0,1 indican que se puede realizar una interpretación fiable de la representación gráfica de la disposición de las estaciones estudiadas. Por el contrario, los situados por encima de

0,3 sugieren que dicha disposición es arbitraria (Clarke y Warwick, 1994).

Análisis de componentes principales (PCA, *Principal Component Analysis*): se basa en técnicas de análisis multidimensional. En este caso, se representa una ordenación de las estaciones de muestreo de acuerdo con su semejanza físico-química. En este análisis, basado en distancias euclídeas, es un método de reducción de la dimensionalidad de tal forma que cada eje o componente principal absorbe parte de la varianza que explica la distribución de las estaciones. Cada eje está influido por uno o varios parámetros que son los responsables de la separación o semejanza de las estaciones, de tal forma que, a mayor varianza absorbida por cada eje, más diferencias marca entre los distintos puntos. Para determinar qué parámetros influyen sobre cada eje se calculan las correlaciones de los diversos parámetros con los ejes (*eigenvectors*), siendo aquellos que muestren las mayores correlaciones (tanto negativas como positivas, indicando este signo únicamente la dirección del gradiente, es decir, signo negativo hacia la izquierda y positivo a la derecha) quienes explican la varianza absorbida por el eje.

Con el objeto de poder establecer comparaciones entre parámetros con distintas unidades de medida se somete a la matriz a una estandarización previa mediante la siguiente fórmula:

 $b = (X_{ij} - X_i)/S_i$ 

donde, b es el valor que va a tomar cada parámetro en cada punto de muestreo una vez estandarizado; X<sub>ij</sub> es el valor de la media de los resultados obtenidos para cada parámetro; X<sub>i</sub> es el valor obtenido en cada punto y S<sub>i</sub> es el valor de la desviación típica de cada parámetro.

Análisis CCA (análisis de correspondencias canónicas): este análisis se utiliza para el estudio de la relación existente entre las comunidades encontradas en los puntos de muestreo y las variables abióticas.

Consiste en la comparación de la ordenación de las estaciones de muestreo a partir de las variables bióticas y abióticas por separado; de tal modo que se puede establecer qué variables ambientales de las estudiadas favorecen la máxima correlación entre las dos configuraciones.

## 2.2.4.3. Indicadores de los elementos de calidad biológicos

De acuerdo con las premisas establecidas en la Ley 62/2003, de 30 de diciembre que incluye –art. 129- la Modificación del Texto Refundido de la Ley de Aguas, aprobado por el Real Decreto Legislativo 1/2001, de 20 de julio, por la que se incorpora al derecho español la Directiva 2000/60/CE (Directiva Marco del Agua, DMA), el estado de las masas de aguas, tanto de transición como costeras, se han de clasificar a partir de su estado ecológico y químico. Para el presente estudio se han elegido los dos índices que nos ofrecen mayor información: BENFES y M-AMBI.

### 2.2.4.4. M-AMBI (Multivariate AZTI Marine Biotic Index)

El índice AMBI, propuesto por Borja *et al.* (2000), se conoce como coeficiente biótico (BC) y es el producto de clasificar a las distintas especies en 5 grupos según su sensibilidad a un aumento de estrés ambiental. Estos grupos fueron definidos previamente por Grall y Glémarec (1997). Los creadores de AMBI ofrecen una lista actualizada con la asignación de las distintas especies a un grupo determinado, si bien también permiten la asignación a un grupo en función de la propia experiencia del investigador. La lista utilizada como base para la elaboración del índice ha sido la de junio de 2017. Los grupos van de G<sub>I</sub> a G<sub>V</sub> de forma que el grupo G<sub>I</sub> es el que incluye a especies muy sensibles y el grupo G<sub>V</sub> a especies oportunistas.

Así, el índice biótico (BC) sería:

$$BC = \left(\frac{(0x\%GI) + (1,5x\%GII) + (3x\%GIII) + (4,5x\%GIV) + (6x\%GV)}{100}\right)$$

El análisis M-AMBI es un análisis factorial que combina AMBI con la diversidad (Shannon con el logaritmo en base 2) y el número de especies y que requiere la definición previa de unas condiciones de referencia para estas tres variables. Para nuestro estudio estas condiciones se establecen de la siguiente manera (tabla 2.2):

Las condiciones de referencia utilizadas en este estudio se basan en los datos obtenidos en estudios previos realizados en el estuario del río Guadiana.

	Estado	Diversidad	Riqueza	Valor
	ecológico	(Shannon)	(nº de especies)	AMBI
	Malo	0,0	0	6
Oligohalino	Alto	2,4	15	2,9
Mesohalino	Alto	2,7	18	2,5
Polihalino	Alto	3,0	25	2,1
Euhalino (Desembocadura)	Alto	3,8	35	1,3
Área marina (10m)	Alto	4,0	50	1,3
Área marina (20m)	Alto	4,2	60	1,3

Tabla 2.2. Condiciones de referencia de las distintas zonas para aplicar el índice M-AMBI.

Los valores obtenidos para AMBI y M-AMBI pueden ser utilizados para establecer el estado ecológico de la zona de estudio según la tabla 2.3.

AMBI	M-AMBI	Estado ecológico
0 - 1,2	>0,77	Alto
1,2 - 3,3	0,53-0,77	Bueno
3,3 - 4,3	0,39-0,53	Moderado
4,3 - 5,5	0,2-0,39	Pobre
> 5,5	<0,20	Malo

Tabla 2.3. Estado ecológico según AMBI y M-AMBI.

4.	ramilia	CATEGORIA
a	Oligoshaata	1
gochaeta	Oligochaeta	1
nchiannenua	Capitallidae	2
apiteniua	Cossuridae	2
Cossurida	Maldanidae	5
	Lumbrineridae	4
Eunicida	Onuphidae	5
Opheliida	Opheliidae	5
Orbiniida	Paraonidae	5
	Glyceridae	4
	Hesionidae	3
	Nephtydae	4
	Nereididae	3
Phyllodocida	Phyllodocidae	4
	Pilargidae	3
	Polynoidae	4
	Sigalionidae	4
	Syllidae	4
abellida	Oweniidae	4
	Sabellidae	4
	Chaetopteridae	5
pionida	Magelonidae	5
	Spionidae	3
	Ampharetidae	4
o rohollido	Cirratulidae	2
rerenetitud	Portinariidae	5
	Terebollidae	∠ 5
ronoda	Terebellidae	5
opoua	Ampeliscidae	5
	Anipenseidae	5
	Atylidae	5
	Bathyporeiidae	5
	Calliopiidae	5
	Caprellidae	4
	Corophiidae	3
	Haustoriidae	5
Amphipoda	Iphimediidae	5
	Leucothoidae	5
	Lysianassidae	5
	Melitidae	5
	Oedicerotidae	4
	Photidae	5
	Phoxocephalidae	5
	Pleustidae	5
	Bodotriidae	4
umacea	Diastylidae	4
amacca	Leuconidae	5
	Pseudocumatidae	4
	Alpheidae	4
	Carcinidae	3
	Crangonidae	5
	Diogenidae	4
Decapoda	Ogyrididae	5
	Palaemonidae	5
	Panopeidae	4
	Pinnotheridae	2
	Polybiidae	5
	Upogebiidae	4
		3
nsecta	Chironomidae	
isecta	Chironomidae Dolichopodidae	2
nsecta	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae	2 3
nsecta	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae	2 3 5
opoda	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae	2 3 5 5
nsecta sopoda	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae	2 3 5 5 5 5
nsecta	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munnidae	2 3 5 5 5 4
nsecta	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae	2 3 5 5 5 4 3
nsecta sopoda .eptostraca	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae	2 3 5 5 4 3 1
nsecta sopoda eptostraca Mysida	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Idoteidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae Mysidae	2 3 5 5 4 3 1
nsecta sopoda eptostraca Aysida essilia	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Idoteidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae Mysidae Balanidae	2 3 5 5 4 3 1 4 4
nsecta sopoda eptostraca Aysida essilia tomatopoda	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Idoteidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae Mysidae Balanidae Squillidae	2 3 5 5 4 3 1 4 4 4 5 5
nsecta sopoda eptostraca Aysida essilia tomatopoda ianaidacea	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Idoteidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae Mysidae Balanidae Squillidae Tanaidacea	2 3 5 5 4 3 1 4 4 5 5 3 3

Tabla 2.4. Categorías de las especies/familias del índice BENFES.

## **2.2.4.5. BENFES (Benthic Families Ecological Status Index)**

Este índice, desarrollado por el Laboratorio de Biología Marina de la Universidad de Sevilla (Sánchez-Moyano *et al.*, 2017), se basa en el índice IBMWP (Alba-Tecedor y Sánchez-Ortega, 1988) que a su vez se basa en el descrito por Hellawell en 1978. Sólo requiere identificación de los individuos encontrados a nivel de familia, y únicamente se valora la presencia-ausencia de la misma, no su abundancia.

El valor del índice se obtiene por la suma de puntuación correspondiente a cada familia que habita en el área de estudio. Alba-Tecedor y Sánchez-Ortega (1988) estableció una tabla con las puntuaciones de las distintas familias de macroinvertebrados encontradas para los ríos españoles en función de su sensibilidad a perturbaciones. La puntuación oscila de 1 a 10, siendo 10 asignado para aquellas familias más sensibles. En nuestro caso, hemos reducido la escala numérica de 1 a 5 con el objeto de limitar el error de asignar equivocadamente una puntuación. La asignación a cada familia se ha establecido según la sensibilidad de las especies encontradas teniendo en cuenta los grupos establecidos en el índice AMBI y nuestra propia experiencia en los casos de especies no asignadas o discrepancias con las categorías de AMBI. En la tabla 2.4 se recogen los valores asignados a cada especie/familia según el índice BENFES. El resultado del índice se obtiene por la suma de las puntuaciones asignadas a cada familia en cada punto.

Los resultados obtenidos se comparan con los valores de referencia (tabla 2.5), obteniendo así el estado ecológico (EQS) de la zona de estudio. En el caso de las zonas oligohalina y mesohalina, por su propia naturaleza, los valores de referencia del índice BENFES son diferentes al de resto de zonas.

Clase	BENFES	BENFES OM	Significado	Estado ecológico
Ι	> 100	> 70	Áreas inalteradas	Alto
II	61-99	43-70	Áreas poco alteradas o son evidentes algunos efectos de contaminación	Bueno
III	36-60	25-42	Aguas alteradas	Moderado
IV	15-35	10-24	Aguas muy alteradas	Pobre
V	< 15	< 10	Aguas fuertemente alteradas	Malo

Tabla 2.5. Estado ecológico según el índice BENFES. BENFES OM: Valores de referencia del índice BENFES para las zonas oligonalina y mesonalina.

## 2.3. SEGUIMIENTO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR 2020-2021

Durante la anualidad de 2021, se ha procedido a realizar el muestreo anual de seguimiento de las comunidades macrobentónicas. El muestreo se realizó en la primera semana de septiembre de 2021, entre los días 6 y 8 de septiembre. Durante la anualidad de 2022 se procederá al análisis de las características fisicoquímicas del agua, del sedimento y se identificarán taxonómicamente las muestras biológicas.

Por otro lado, se han estado procesando las muestras procedentes del muestreo de 2020. Se ha llevado a cabo la determinación de la concentración de materia orgánica y la caracterización granulométrica del sedimento. Se han procedido a separar las muestras biológicas por grupos taxonómicos y se procederá a su identificación hasta el nivel taxonómico más bajo posible. Las muestras para el análisis químico del sedimento se enviarán a los servicios de análisis del IRNAS CSIC.

## 2.4. SEGUIMIENTO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR 2022-2023

Para las siguientes campañas de seguimiento de las comunidades biológicas macrobentónicas se procederá a una modificación del esquema de muestreo realizado en las anteriores campañas. El seguimiento pasará de ser una vez al año a un seguimiento semestral coincidiendo con los periodos de mayor y menor reclutamiento de especies en el año. Además, se procederá a muestrear todo el estuario del Guadalquivir coincidiendo con los nuevos puntos de muestreo de las comunidades planctónicas (figura 2.7). Con esta modificación se pretende tener una visión integral del efecto de todos los procesos que ocurren en el estuario tanto de origen natural como de origen antrópico en las comunidades macrobentonicas.



## 2.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alba-Tecedor, J. y Sánchez-Ortega, A. 1988. Un método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas corriente basado en el de Hellawell (1978). Limmnetica, 4: 51-56.

Bray, R.J. y Curtis, J.I. 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. Ecological Monographs, 27: 325-349

Buchanan, J.B. 1984. Sediment analysis. En: Holme, N.A. & McIntyre, A.D. (Eds.). IBP Handbook, nº 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. 387 pp

Buchanan, J.B. 1984. Sediment analysis. En: Holme, N.A. & McIntyre, A.D. (Eds.). IBP Handbook, nº 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. 387 pp

Carvalho, S., Constantino, R., Cerqueira, M., Pereira, F., Subida, M.D., Drake, P., Gaspar, M.B., 2013. Short-term impact of bait digging on intertidal macrobenthic assemblages of two south Iberian Atlantic systems. Estuar. Coast. Shelf Sci. 132, 65–76. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.06.017

Clarke, K.R. y Ainsworth, M. 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. Marine Ecology Progress Series, 92: 205-219.

Clarke, K.R. y Ainsworth, M. 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. Marine Ecology Progress Series, 92: 205-219.

Clarke, K.R., Warwick, R.M. 1994. Change in Marine Communities: An approach to Statistical Analysis and Interpretation. PRIMER-E, Plymouth, UK. 172 pp.

Crisp, D.J. 1984. Energy flow measurements. En: Holme, N.A. & McIntyre, A.D. (Eds.). IBP Handbook, nº 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. 387 pp.

David, V., Selleslagh, J., Nowaczyk, A., Dubois, S., Bachelet, G., Blanchet, H., Gouillieux, B., Lavesque, N., Leconte, M., Savoye, N., Sautour, B., Lobry, J., 2016. Estuarine habitats structure zooplankton communities: Implications for the pelagic trophic pathways. Estuar. Coast. Shelf Sci. 179, 99–111. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.01.022

Deniro, M.J., Epstein, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. Geochim. Cosmochim. Acta 42, 495–506.

Deniro, M.J., Epstein, S., 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. Geochim. Cosmochim. Acta 45, 341–351. https://doi.org/10.1016/0016-7037(81)90244-1

Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2019. Human pressures on two estuaries of the Iberian Peninsula are reflected in food web structure. Sci. Rep. 9, 11495. https://doi.org/10.1038/s41598-019-47793-2

Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018. Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats. Mar. Environ. Res. 140, 455–467. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012 Pielou, E.C. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. Journal of Theoretical Biology, 13: 131-144.

Sánchez-Moyano, J.E.; García-Asencio, I.; Donázar-Aramendía, I.; Miró, J.M.; Megina, C.; García-Gómez, J.C. 2017. BENFES, a new biotic index for assessing ecological status of soft-bottom communities. towards a lower taxonomic complexity, greater reliability and less effort. Marine Environmental Research 132: 41-50.

Schlitzer R. (2016) Ocean Data View. Alfred Wegener Institute, Bremerhaven, Germany. https://odv.awi.de/

Shannon, C.E. y Weaver, W. 1963. The mathematical theory of communication. Univ. of Illinois Press, Urbana, Illinois. 117 pp.

Thrush, S.F., Hewitt, J.E., Cummings, V.J., Green, M.O., Funnell, G.A., Wilkinson, M.R., 2000. The Generality of Field Experiments: Interactions between Local and Broad-Scale Processes. Ecology 81, 399. https://doi.org/10.2307/177436

Underwood, A.J., 1994. On Beyond BACI : Sampling Designs that Might Reliably Detect Environmental Disturbances Author (s): A.J. Underwood Published by : Ecological Society of America Stable URL : http://www.jstor.org/stable/1942110 . ON BEYOND BACI : SAMPLING DESIGNS THAT. Ecol. Appl. 4, 3–15. https://doi.org/10.2307/1942110

Underwood, A.J.J., 1992. Beyond BACI: the detection of environmental impacts on populations in the real, but variable, world. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 161, 145–178. https://doi.org/10.1016/0022-0981(92)90094-Q

Van De Merwe, J.P., Lee, S.Y., Connolly, R.M., Pitt, K.A., Steven, A.D.L., 2016. Assessing temporal and spatial trends in estuarine nutrient dynamics using a multispecies stable isotope approach. Ecol. Indic. 67, 338–345. <u>https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.02.058</u>.

## 3. ESTUDIO DE LA COMUNIDAD ZOOPLANCTÓNICA EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR

Uno de los objetivos generales del convenio en curso se centra en el estudio del zooplancton, grupo que cuenta con diversas especies que pueden aportar una información muy relevante sobre su estado, y que sirve como base alimenticia para muchas especies de peces, influyendo por tanto en uno de los principales servicios ecosistémicos que el estuario del Guadalquivir: la función como zona de cría de especies de interés pesquero del Golfo de Cádiz. En conjunto, la información que se obtenga debe facilitar la implementación de una estrategia global de gestión del estuario que permita e incluso potencie el uso sostenible de estos recursos, compatibilizándolo con la recuperación ambiental del Guadalquivir y con su conservación.

## **3.1. OBJETIVOS**

- Estudiar la dinámica espacio-temporal de las comunidades de zooplancton presentes en toda la sección del estuario del Guadalquivir para proponer medidas de gestión en las que se mejoren sus condiciones medioambientales.
- Publicar los resultados de los efectos del dragado de mantenimiento de 2017 sobre las variables físico-químicas y las comunidades planctónicas de la columna de agua en zonas poli (Salinas) y mesohalinas (Puntalete).
- 3. Estudiar específicamente las características ambientales de la dársena y de la comunidad planctónica que la se desarrolla en ella.

## **3.2. ACTUACIONES REALIZADAS**

Desde el último informe entregado en marzo de 2021 se han realizado diferentes actividades para cumplir con los objetivos citados anteriormente. En este informe se mencionan las actividades llevadas a cabo, aunque aún no se han analizado los resultados en el momento actual.

## 3.2.1. SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD DE ZOOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2021).

Respecto al seguimiento mensual de la comunidad zooplanctónica, en los años anteriores (2019-2020) se continuó con la monitorización a largo plazo (iniciada en octubre de 2015), muestreando en este caso los periodos de mayor actividad de reclutamiento (primavera - verano). Tras la experiencia acumulada durante estos años en la zona baja del estuario, se ha llegado a la conclusión de la necesidad de analizar la influencia que tienen las zonas localizadas aguas arriba para entender parte de los

procesos observados cerca de su desembocadura. Es por ello que durante este año se ha planteado llevar a cabo una nueva serie temporal que englobe a todo el estuario, muestreando así la sección longitudinal del estuario por completo, desde su desembocadura hasta la presa de Alcalá del Río (110 km). Esta serie temporal se inició en el mes de febrero de 2021, y continúa a día de hoy. En este periodo se ha muestreado mensualmente con 10 campañas (febrero - diciembre), las cuales fueron llevadas a cabo conjuntamente con el equipo de la Universidad de Cádiz.

## 3.2.1.1. ÁREA DE ESTUDIO

El estuario del río Guadalquivir consta de 110 km de recorrido, comprendidos desde la presa de Alcalá del Río (provincia de Sevilla) aguas arriba hasta su desembocadura en el Golfo de Cádiz entre Sanlúcar de Barrameda (provincia de Cádiz) y el Parque Nacional de Doñana (provincia de Huelva).

A lo largo de su recorrido longitudinal encontramos un gradiente salino que oscila desde agua marina ( $\approx$ 36 PSU) en la zona más próxima a la desembocadura hasta agua dulce ( $\approx$ 0 PSU) en los tramos más altos cercanos a la presa. Además, se caracteriza por ser un sistema, en general, bien mezclado verticalmente (Vanney, 1970). Dentro de este rango, se muestrearon 15 estaciones con distintas salinidades, y distribuidas equidistantemente a lo largo de toda su sección (Estaciones 1-15, Figura 3.1). A su vez, se han tomado muestras en 3 estaciones dentro de la dársena de Sevilla (Estaciones 16-18, Figura 3.1)



Figura 3.1. Estaciones de muestreo de plancton durante las campañas de 2021. Estaciones en el estuario abierto: 1-15: estaciones dentro de la dársena: 16-18.

## **3.2.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS**

## 3.2.1.2.1. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

La toma de muestras de zooplancton se llevó a cabo desde la embarcación "LBM III", la cual ha sido equipada para realizar diversos tipos de muestreos científicos. Las muestras eran recolectadas con una red de plancton troncocónica de 60 cm de diámetro y una luz de malla de 200 µm. Los muestreos eran de tipo activo, con el barco en movimiento a una velocidad de 2-3 nudos y siempre durante el periodo de marea llenante, en la zona central del cauce. Los lances consistían en un movimiento oblicuo desde el fondo hasta la superficie, usando para ello una grúa eléctrica, y muestreando así toda la columna de agua. En cada estación se realizó 1 lance de 5 minutos cada uno para evitar la obturación de la red y la consecuente pérdida de eficiencia de filtrado. El volumen de agua filtrado era medido con un flujómetro General Oceanics 2030R colocado en el aro.

Los muestreos se realizaron con una frecuencia aproximadamente mensual, llevándose a cabo en un solo día e iniciándose en la estación más externa para luego ir muestreando las demás estaciones río arriba hasta acabar cerca de la presa de Alcalá del Río. Al día siguiente, se procedía a la toma de muestras dentro de la dársena.

## 3.2.1.2.2. TRATAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Tras la captura de los organismos, estos eran fijados en formol al 4% para su posterior triado. Actualmente se están identificando las distintas especies de zooplancton mediante análisis de imágenes. Una vez identificados se procederá a su conteo para realizar análisis de comunidades y comparaciones espacio-temporales.

## **3.2.1.2.3. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS**

En cada punto de muestreo se midieron diferentes variables físico-químicas de la columna de agua. Para ello se utilizó una sonda multiparamétrica Eureka Manta 2 que registra en continuo (un valor de cada variable por segundo) las siguientes variables: profundidad, salinidad, pH, turbidez, oxígeno disuelto (DO) y temperatura. En cada estación de muestreo se realizó un perfil vertical de toda la columna de agua, para así tener caracterizada toda la masa de agua en la que se capturaban las muestras.

Además, para otros análisis como es la medida de sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión y clorofila, se llevó a cabo la toma de muestras de agua con una botella Van Dorn a media agua.

### 3.2.1.2.3.1. Sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión

Las muestras de agua eran guardadas en botellas topacio y conservadas en hielo hasta la llegada al laboratorio donde se procedía con el filtrado de las mismas. Para ello se utilizaron filtros de fibra de vidrio con una capacidad de retención de partículas de hasta 1,5 µm. Una vez filtrado un volumen significativo de agua, los filtros eran guardados y conservados en el congelado a -20°C hasta su análisis. El agua filtrada es utilizada para la medición de los nutrientes inorgánicos (nitrito, nitrato, amonio, fosfato y silicato). Previamente, los filtros eran precombustionados (500°C, 4 h) y posteriormente pesados. Tras el filtrado, se secaban en una estufa a 60°C durante 24 horas para medir el peso seco de cada filtro y obtener la cantidad de sólidos totales (ST) en suspensión. Después se procedió a la combustión de los mismos para obtener la fracción de materia orgánica (MO) e inorgánica (MI).

## 3.2.1.2.3.2. Clorofila

Las muestras de agua cogidas para analizar la concentración de clorofila eran también tomadas a media agua y conservadas en un bote topacio con hielo hasta llegar al laboratorio, donde se procedía a la filtración. Se utilizaron filtros de fibra de vidrio con una capacidad de retención de partículas de 0,7 µm, controlando la presión durante el proceso. Las muestras son analizadas mediante espectrofotometría de fluorescencia en el INMAR de la Universidad de Cádiz.

## **3.2.1.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS**

Los datos obtenidos tras la determinación faunística se resumirán en una matriz taxón-estación. Con estos datos se pretende describir y analizar los cambios producidos en un gradiente espacio-temporal en las comunidades mediante el cálculo del número de especies, abundancia total y relativa y diversidad. Por otro lado, se procederá a la comparación entre comunidades y sus relaciones con las distintas variables abióticas medidas mediante análisis multivariantes de ordenación o tipo PERMANOVA con diferentes programas estadísticos como son PRIMER 6 ("Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research") y RStudio.

Por otro lado, para estudiar la estructura de la columna de agua en las distintas zonas de muestreo y poder compararlas tanto espacial como temporalmente, la relación de cada variable, tomada con la sonda multiparamétrica, con la profundidad se analizará mediante modelos aditivos que permiten el estudio de relaciones no lineales. Para una visualización que permita la interpretación y la comparación, los datos obtenidos de la forma expuesta serán representados con el programa Ocean Data View (Schlitzer, 2016), que realiza una interpolación de esos datos en toda la zona de estudio.

## 3.2.2. PUBLICACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ESTUDIO DE LOS EFECTOS DEL DRAGADO DE MANTENIMIENTO DE 2017 SOBRE LAS VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS Y LAS COMUNIDADES PLANCTÓNICAS DE LA COLUMNA DE AGUA EN ZONAS POLI (SALINAS) Y MESOHALINAS (PUNTALETE).

Determinar las fluctuaciones de las características físico-químicas del estuario junto con las causas que las generan y relacionarlas con la comunidad planctónica presente en el Guadalquivir es de gran importancia para la mejora de su gestión y manejo. En el informe previo, se presentaron los resultados obtenidos de los efectos del dragado de mantenimiento de 2017 sobre la macrofauna que habita en la columna de agua. Dichos resultados, han sido publicados recientemente en una revista científica indexada de carácter internacional denominada *Science of the Total Environment*, situada en el primer decil de su área de estudio ("Ciencias ambientales"). Con esta publicación (ANEXO), ya son 4 los estudios publicados en revistas científicas de gran reconocimiento internacional, haciendo del estuario del Guadalquivir, uno de los ecosistemas más investigados del mundo en lo que a efectos de dragados de mantenimiento se refiere.

## **3.2.3. ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LA DÁRSENA Y DE LA COMUNIDAD PLANCTÍNICA QUE LLKA HABITA.**

Se pretende analizar las características físico-químicas de la columna de agua en distintas zonas de la dársena del Guadalquivir para evaluar la función de esta masa de agua, para como fuente y/o sumidero de oxígeno en la ciudad de Sevilla. Para ello se realizarán muestreos estacionales durante ciclos de 24 horas seguidas, de los cuales ya se han tomado muestras del periodo de verano y otoño (2021). Los resultados serán expuestos cuando se complete el ciclo anual con los muestreos de inverno y primavera (2022).

## 3.2.3.1. ÁREA DE ESTUDIO

La dársena consta de 13 km de recorrido, siendo su acceso por la esclusa de Sevilla. Dentro de ese rango, se muestrearon 3 estaciones con distintas distribuidas equidistantemente a lo largo de toda su sección (Figura 3.2).



Figura 3.2. Estaciones de muestreo elegidas para las campañas realizadas en la dársena de la ciudad de Sevilla.

## **3.2.3.2. MATERIAL Y MÉTODOS**

## 3.2.3.2.1. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS

En cada punto de muestreo se midieron diferentes variables físico-químicas de la columna de agua. Para ello se utilizó una sonda multiparamétrica Eureka Manta 2 que registra en continuo (un valor de cada variable por segundo) las siguientes variables: profundidad, salinidad, pH, turbidez, oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y temperatura. A su vez, se midió la cantidad de luz fotosintéticamente activa que penetra en el agua. En cada estación se llevaron a cabo la toma de muestras cada 3 horas durante un ciclo completo de 24 horas.

## **3.2.3.2.2. TRATAMIENTO DE LOS DATOS**

Los datos obtenidos de la estructura de la columna de agua en las distintas zonas de muestreo se compararán tanto espacial como temporalmente. La relación de cada variable medida con la profundidad se analizará mediante modelos aditivos que permiten el estudio de relaciones no lineales. Para una visualización que permita la interpretación y la comparación, los datos obtenidos de la forma expuesta serán representados con el programa Ocean Data View (Schlitzer, 2016), que realiza una interpolación de esos datos en toda la zona de estudio.

## 4. ESTUDIOS EXPERIMENTALES SOBRE LA INFLUENCIA DE LA TURBIDEZ EN LA FAUNA

Para el inicio de los experimentos sobre el efecto de la turbidez en la fauna ha sido necesario dar los siguientes pasos:

1) Solventar los problemas de funcionamiento del prototipo de instalación experimental. Esta fase ha implicado la realización de numerosas pruebas, así como la modificación de algunos elementos y del software que gestiona las instalaciones a través del autómata. Al mismo tiempo se han ampliado las instalaciones y mejorado las condiciones de seguridad de estas.

2) Obtener las acreditaciones necesarias para todo el personal implicado para poder experimentar con animales siguiendo las directrices del Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. En este sentido se han acreditado con las categorías necesarias para el cuidado de los animales (A), para la realización de eutanasias (B) y para la realización de los experimentos (C) 6 miembros del equipo y 3 miembros más para dirección de proyectos y procedimientos de experimentación animal (categoría D) y para la asunción de la responsabilidad de la supervisión "*in situ*" del bienestar de los animales (categoría E).

3) Acreditar e inscribir el laboratorio del Acuario de Sevilla como centro de cría, suministro y usuario de animales de experimentación en el Registro de Instalaciones Ganaderas de la Junta de Andalucía con el nombre "Instalaciones i+D+I del Laboratorio de Biología Marina de la Universidad de Sevilla" y código de explotación "ES410910008020", previa inspección por parte de los servicios veterinarios de la Delegación Territorial de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible de Sevilla. En este sentido, ha quedado designado como responsable del cumplimiento de las disposiciones del RD 53/2013 "César Megina Martínez", como responsable del bienestar de los animales "Francisco Javier Sánchez Díaz" y como veterinario designado la persona que ocupe este cargo en el animalario de la Universidad de Sevilla, en estos momentos "Itziar Benito Latasa de Araníbar".

4) Solicitar permisos de captura, transporte y posesión de especies de peces salvajes, que no proceden de acuicultura, para realizar las experimentaciones a la Delegación Territorial de Desarrollo Sostenible de la Junta de Andalucía en Sevilla.

5) Solicitar aprobación del proyecto de experimentación a la Dirección General de la Producción Agrícola y Ganadera de la Consejería de Agricultura, Ganadería,



Pesca y Desarrollo Sostenible de la Junta de Andalucía.

Figura 4.1. Sistema experimental para el estudio del efecto de la turbidez en la fauna.

Tras esto, en el año 2021, se ha comenzado con los experimentos sobre el efecto de la turbidez en las tasas de alimentación de distintas fases de vida de distintas especies de peces. Concretamente, se ha comenzado a experimentar con 3 especies presentes en el estuario del Guadalquivir:

1) Doradas (*Sparus aurata*), en estado larvario, juvenil y adulto, utilizando como presa, según su fase de vida, nauplios de *Artemia salina* como modelo de mesozooplancton, adultos de esta misma especie, como modelo de macrozooplancton y juveniles de *Gambusia holbrooki*.

2) *Gambusia holbrooki*, en estado de larvas y de adultos, utilizando nauplios y adultos de artemias respectivamente como presa.

3) *Pomatoschistus minutus*, en estado de larva y de adulto, igualmente utilizando nauplios y adultos de artemias respectivamente como presa.

Los ejemplares de dorada han sido obtenidos, según su fase de vida, en plantas comerciales de acuicultura (MARESA, Ayamonte, Huelva), en la planta de experimentación en acuicultura de la Universidad de Cádiz (Puerto Real, Cádiz) o en el Centro Oceanográfico de Murcia del Instituto Español de Oceanografía (Mazarrón, Murcia). Los ejemplares de *P. minutus* y *G. holbrooki* han sido capturados en el estuario.

Igualmente, para estos objetivos, ha sido necesario poner a punto la metodología de mantenimiento y cultivo de *Artemia salina* y *Gambusia holbrooki*. Para la captura de estadíos juveniles de *P. minutus* ha sido necesario recopilar el conocimiento adquirido durante estos años sobre el ciclo reproductor de esta especie, y su distribución en el estuario.

Los resultados son muy variables en función de la especie y de la fase del ciclo de vida. En varios casos, se observa que las tasas de alimentación mayores no se dan en aguas cristalinas, sino en turbideces en más elevadas y variable en función de la especie y del estado (Figura 4.2 a y b). Los resultados están siendo analizados.





# 5. ANEXO. Relación y encabezado de las publicaciones realizadas hasta la fecha.

 Miró, J.M., Megina, C., Donázar-Aramendía, I., García-Gómez, J.C., 2021. Effects of maintenance dredging on the macrofauna of the water column in a turbid estuary. Science of The Total Environment 151304. <u>https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151304</u>



## Effects of maintenance dredging on the macrofauna of the water column in a turbid estuary



### J.M. Miró<sup>a,\*</sup>, C. Megina<sup>b</sup>, I. Donázar-Aramendía<sup>a</sup>, J.C. García-Gómez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain
<sup>b</sup> Biodiversidad y Ecología Acuática, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain

#### HIGHLIGHTS

### GRAPHICAL ABSTRACT

Short- and medium

of Cr. Fe and Zn

- Organisms can suffer entrainment by the trailer suction, especially epibenthic ones.
- Dredger action homogenized most physiochemical variables in the water column.
- Metal concentration of Cr, Fe y Zn increased in the water column after dredging.
- Effects of this dredging were similar or less than other natural ones (e.g., freshets).

#### ARTICLE INFO

Article history: Received 5 July 2021 Received in revised form 7 October 2021 Accepted 24 October 2021 Available online 29 October 2021

### Editor: Daniel Wunderlin

Keywords; Dredging Macrofauna Plankton Hyperbenthos Water column Metals



Immediate effect

homogenization of Chie and Salinity in the water

of pt, and also th

Many human activities in or near aquatic habitats generate alterations in their environmental conditions, which could affect the organisms that inhabit them. Maintenance dredging of navigation channels in order to allow large ships access to inland ports is one such source of disturbance. In this study, by taking multiple approaches (immediate-, short- and medium term), we analysed the effects of a maintenance dredging operation on physiochemical variables and the early life stages of fish and other macrofauna groups present in two zones of the Guadalquivir estuary with different salinity ranges (poly- and mesohaline). Most physiochemical variables were homogenized in the water column immediately after the water mass passed by the dredger, including sediment resuspension. However, this process seemed to be transient as no significant increments in the depthaveraged levels of turbidity were observed in the short- and medium-terms. Instead, metal concentrations of Cr, Fe and Zn increased in the polyhaline station. Even so, these perturbations did not appear to be severe enough to influence the macrofauna. Still, organisms can suffer direct mechanical impacts of the trailer suction, Hyperbenthic species, like Pomatoshcistus spp. or decapods, tended to decrease slightly, while pelagic species such as Engraulis encrasicolus or mysids did not, indicating that benthic organisms are usually more susceptible to high entrainment. Nonetheless, the possible effects of this disturbance were of the same order or less than those of natural ones; therefore, organisms of the macrofauna could be well adapted to cope with them. © 2021 The Authors, Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http:// creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

2. Miró, J.M., Megina, C., Donázar-Aramendía, I., Reyes-Martínez, M.J., Sánchez-Moyano, J.E., García-Gómez, J.C., 2020. Environmental factors affecting the nursery function for fish in the main estuaries of the Gulf of Cadiz (south-west Iberian Peninsula). Science of the Total Environment 737, 139614. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139614

	Contents lists available at ScienceDirect	Tetel Colence
5-5-5-	Science of the Total Environment	
ELSEVIER	journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv	

Science of the Total Environment 737 (2020) 139614

Environmental factors affecting the nursery function for fish in the main estuaries of the Gulf of Cadiz (south-west Iberian Peninsula)



J.M. Miró<sup>a,\*</sup>, C. Megina<sup>b</sup>, I. Donázar-Aramendía<sup>a</sup>, M.J. Reyes-Martínez<sup>c</sup>, J.E. Sánchez-Moyano<sup>d</sup>, J.C. García-Gómez<sup>a</sup>

Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Sevilla, Spain

<sup>b</sup> Biodiversidad y Ecología Acuática, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain <sup>c</sup> Instituto Universitario de Investigación Marina (INMAR), University of Cádiz, Puerto Real, Cádiz, Spain

<sup>d</sup> Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain

#### HIGHLIGHTS

GRAPHICAL ABSTRACT

- · Different freshwater inputs strongly change environmental properties of estuaries
- · Estuaries with salinity gradient have higher densities of early life stages of fish.
- · Low freshwater input limits the function of estuaries as nursery ground.
- Organic matter in Guadalquivir supports the highest densities of aquatic macrofauna
- Recurrent jellyfish blooms alter pelagic community and functioning 0 estuaries.

#### ARTICLE INFO

Article history: Received 24 February 2020 Received in revised form 30 April 2020 Accepted 19 May 2020 Available online 27 May 2020

Editor: Daniel Wunderlin

Keywords: Estuary Freshwater input Salinity gradient Organic matter Nursery function Early life stages of fish



### ABSTRACT

Hydrological, geomorphological, physicochemical and biological factors influence the nursery function of estuaries. Our study compared the environmental conditions and the assemblages of early life stages of fish in the main four estuaries of the Gulf of Cadiz (Cadiz Bay, Guadalquivir, Odiel-Tinto and Guadiana). Samples were taken within each estuary and on their adjacent coast, during the dry-warm seasons of 2016, 2017 and 2018. Results showed that rivers with smaller basins had a very low freshwater input and their estuaries, Odiel-Tinto and Cadiz Bay, were essentially sea extensions into the land, containing similar physicochemical conditions to nearshore zones, as well as similar assemblages and densities of early life stages of fish. Open water masses of these estuaries do not have important nursery functions. In contrast, inner zones of estuaries with bigger basins and higher freshwater discharges, Guadalquivir and Guadiana, have different environmental characteristics and a long transition zone with a well-defined salinity gradient, Their assemblages and densities of early life stages of fish were different between them and with other estuaries. The Guadalquivir estuary held the highest abundance of larval and early juvenile fish, as well as macrozooplankton biomass. The most abundant fish species in all zones of every estuary was the anchovy Engraulis encrasicolus; the Guadalquivir inner zone had the highest density. High concentration of suspended organic matter, provided by freshwater input and correlated with total suspended solid, suspended inorganic matter and turbidity, was the physicochemical characteristic more typical of the Guadalquivir. This characteristic, in addition to the salinity gradient, could explain the highest densities of macrozooplankton found in this estuary, and consequently, of early fish stages. Recurrent jellyfish blooms were

 Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2020. Environmental consequences of dredgedmaterial disposal in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain. Marine Pollution Bulletin 161, 111736. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111736

	Marine Pollution Bulletin 161 (2020) 111736	
	Contents lists available at ScienceDirect	MAIRINE POLLUTION BULLETIN
	Marine Pollution Bulletin	
ELSEVIER	journal homepage: www.elsevier.com/locate/marpolbul	

Environmental consequences of dredged-material disposal in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain



I. Donázar-Aramendía<sup>a,\*</sup>, J.E. Sánchez-Moyano<sup>b</sup>, I. García-Asencio<sup>b</sup>, J.M. Miró<sup>a</sup>, C. Megina<sup>c</sup>, J.C. García-Gómez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R+D+I Biological Research Area., Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain <sup>b</sup> Droto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla. Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla. Spain

Sport Leonoga, Futuna de Dologia, Chirestana de Germa, Proc. Reina, Ner. Centa, Mercues O, 41012 Germa, Span
Filodiversidad y Ecologia Acudica, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Facultad de Biologia, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012
Sevilla, Spain

### ARTICLE INFO

### ABSTRACT

Keywords: Disposal Toxicity Trace metals Biomagnification Bioaccumulation Guadalquivir In this study we assessed the effects of the recurrent disposal of dredged material from the Guadalquivir estuary (south-western Spain) in a marine disposal area. We analysed shifts in sediment characteristics as well as bioaccumulation and biomagnification of heavy metals through the benthic food web. Results showed that the significant increase in concentration of some heavy metals observed in the marine disposal area after the latest disposal event could be attributed to the deposition of river-dredged sediments. This increase could also explain the decreased amphipod survival in the ecotoxicology analysis. Heavy metal concentrations in organisms indicated some bioaccumulation in deposit feeders and predators but with no clear patterns nor biomagnification through the food web. Hence, combining studies that monitor shifts in sediment characteristics and their possible consequences for the food web seems to be an interesting approach that should be assessed further in this type of studies.

 Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2019. Human pressures on two estuaries of the Iberian Peninsula are reflected in food web structure. Scientific Reports 9, 11495. <u>https://doi.org/10.1038/s41598-019-47793-2</u>



5. Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018. Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats. Marine Environmental Research 140, 455–467. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012



Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats



I. Donázar-Aramendía\*, J.E. Sánchez-Moyano, I. García-Asencio, J.M. Miró, C. Megina, J.C. García-Gómez

Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area., Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012, Sevilla, Spain

#### ARTICLEINFO

Keywords: Macrobenthic community Stable isotopes Salinity Food web Gulf of cadiz

#### ABSTRACT

Understanding the effects of dredging in estuaries is a hard task due to the difficulty of implementing an adequate environmental diagnosis, as a consequence of the salinity gradient and anthropogenic disturbances. To assess the effects of maintenance dredging work on the Guadalquivir estuary (southwestern Spain), we used a Before-After-Control-Impact (BACI) approach to determine both direct and indirect effects in two salinity ranges. No effects were found on water and sediment physicochemical characteristics. The small impacts on dredged areas were followed by a rapid recovery of opportunistic species. The poor status of the benthos does not permit the detection of significant effects on macrofaunal community structure. The use of stable isotopes analysis to determine impacts on food web structure showed that changes over time seem to be explained by natural temporal variation rather than the dredging works. This paper emphasises the need to define proper management and conservation plans to improve the status of the benthic communities of the Guadalquivir estuary.  Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018. Impact of dredged-material disposal on softbottom communities in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain. Marine Environmental Research 139, 64–78. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.05.010



Impact of dredged-material disposal on soft-bottom communities in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain



I. Donázar-Aramendía\*, J.E. Sánchez-Moyano, I. García-Asencio, J.M. Miró, C. Megina, J.C. García-Gómez

Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R+D+I Biological Research Area, Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012, Sevilla, Spain

#### ARTICLEINFO

Keywords: Disposal Macrobenthic community Stable isotopes Food web Gulf of Cadiz

### ABSTRACT

This study assesses the effects of dredged material disposal in a recurrent marine dump near the Guadalquivir Estuary (south-western Spain). We compared the changes observed with two reference areas combining a classical ecological approach with new stable isotope techniques to analyse trophic structure. We detected permanent changes in the macrofaunal community structure as well as in the diversity and biotic indices applied, which showed higher values in the disposal area. The community in the marine dump had lost the natural temporal variations observed in the reference areas. These effects could be due to the last disposal event carried out in the summer of 2015 or to the recurrent disposals since 2010. Despite the structure of the marine dump. Our results confirm the high variability of disposal disturbances. Hence, we recommend performing studies in every disposal event, merging different functional and structural approaches.

 Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Donázar-Aramendía, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2017. BENFES, a new biotic index for assessing ecological status of soft-bottom communities. Towards a lower taxonomic complexity, greater reliability and less effort. Marine Environmental Research 132, 41–50. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.10.014



BENFES, a new biotic index for assessing ecological status of soft-bottom communities. Towards a lower taxonomic complexity, greater reliability and less effort



J.E. Sánchez-Moyano<sup>\*</sup>, I. García-Asencio, I. Donázar-Aramendía, J.M. Miró, C. Megina, J.C. García-Gómez

Laboratorio Biología Marina, Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain

### ARTICLEINFO

Water Framework Directive

Southern Spain

Keywords: Biotic indices Soft-bottom communities Estuaries

### ABSTRACT

The new biotic index BENFES (Benthic Families Ecological Status Index) for assessing the ecological status of soft-bottom communities based on presence/absence at the taxonomic family level, is described. BENFES was primarily developed for the communities from the Guadalquivir estuary (South-western Spain), but the aim of the present work was to evaluate the reliability and validity of this index for its application in the Water Framework Directive (WFD), especially as a preliminary and rapid assessment method for monitoring the ecological status of transitional and coastal waters. BENFES was compared with five widely used indices (BOPA, BO2A, BENTDX; AMBI and M-AMBI) in several studies from Southwestern Spain. In addition, we have also established comparisons between these indices and the most commonly used Shannon–Wiener diversity. M-AMBI and BENFES showed the best agreement in ecological status assignation and were the most useful and discriminant between the studied areas. BENTIX was a good discriminant in coastal areas but was severe with the environmental condition from estuaries; BOPA/BO2A did not show clear trends in most of the zones; and AMBI tended to provide overestimations of the ecological status. In conclusion, BENFES shows several advantages such as lower taxonomic resolution, greater reliability and only requiring presence/absence. All this implies a huge possibility to perform a simplified monitoring routine for the control of the ecological quality of water bodies.







## INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2021-2022), AUSPICIADAS POR LA AUTORIDAD PORTUARIA DE SEVILLA EN EL ÁMBITO DE LA FILOSOFÍA EMERGENTE "WORKING WITH NATURE"

## INFORME, DICIEMBRE<sup>22</sup>

Laboratorio de Biología Marina (LBM) de la Universidad de Sevilla (US) Facultad de Biología Dpto. Zoología. EI Área de Investigación I+D+i del Acuario de Sevilla. La Estación de Biología Marina del Estrecho, Ceuta.



# Funded by the European Union

The contents of this publication are the sole responsibility of (name of the implementing partner) and do not necessarily reflect the opinion of the European Union.

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
2. ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR	ر 8
2.1. OBJETIVOS	8
2.2. MATERIAL Y MÉTODOS	9
2.2.1. ÁREA DE ESTUDIO	11
2.2.2. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS	12
2.2.3. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS	13
2.2.3.1. Perfiles físico-químicos de la columna de agua	14
2.2.3.2. Granulometría	14
2.2.3.3. Contenido en materia orgánica	16
2.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS	17
2.2.4.1. Análisis descriptivos de la comunidad	18
2.2.4.2. Análisis multivariantes	18
2.2.4.3. Indicadores de los elementos de calidad biológicos	20
2.2.4.4. M-AMBI (Multivariate AZTI Marine Biotic Index)	21
2.2.4.5. BENFES (Benthic Families Ecological Status Index)	24
2.3. SEGUIMIENTO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR 2020-2021	) 25
2.4. SEGUIMIENTO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR 2022-2023 jError! Marcador no defini	) ido.
2.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
3. ESTUDIO DE LA COMUNIDAD ZOOPLANCTÓNICA EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR	30
3.1. OBJETIVOS	30
3.2. ACTUACIONES REALIZADAS	30
3.2.1. SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD DE ZOOPLANCTO EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR (PERIODO 2021)	ОN 30
3.2.1.1. ÁREA DE ESTUDIO	31
3.2.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS	32
3.2.1.2.1. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS	32
3.2.1.2.2. TRATAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS	32
3.2.1.2.3. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS	33
3.2.1.2.3.1. Sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión	33
3.2.1.2.3.2. Clorofila	33

3.2.1.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS	3
3.2.2. PUBLICACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ESTUDIO DE LOS EFECTOS DEL DRAGADO DE MANTENIMIENTO DE 2017 SOBRE LAS VARIABLES FÍSICO- QUÍMICAS Y LAS COMUNIDADES PLANCTÓNICAS DE LA COLUMNA DE AGUA EN ZONAS POLI (SALINAS) Y MESOHALINAS (PUNTALETE). <b>¡Error! Marcador no definid</b> e	۷ 0.
3.2.3. ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LA DÁRSENA Y DE LA COMUNIDAD PLANCTÍNICA QUE LA HABITA <b>¡Error! Marcador no definid</b>	о.
3.2.3.1. ÁREA DE ESTUDIO jError! Marcador no definido	о.
3.2.3.2. MATERIAL Y MÉTODOS jError! Marcador no definide	о.
3.2.3.2.1. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS jError! Marcador no definido	о.
3.2.3.2.2. TRATAMIENTO DE LOS DATOS jError! Marcador no definido	о.
I. ESTUDIOS EXPERIMENTALES SOBRE LA INFLUENCIA DE LA TURBIDEZ EN LA FAUNA4	10
5. ANEXO. Relación y encabezado de las publicaciones realizadas hasta la fecha4	13

## 1. INTRODUCCIÓN

El presente informe concierne al proyecto titulado "Investigaciones biológicas y ambientales en el estuario del río Guadalquivir (periodo 2021-2022), auspiciadas por la Autoridad Portuaria de Sevilla en el ámbito de la filosofía emergente 'working with nature', el cual concede continuidad a los anteriores, orientados a generar conocimiento y propiciar una mejor gestión ambiental y manejo de las potencialidades del estuario del río Guadalquivir y a la mejora de la navegación en el mismo. El informe incluye la labor desarrollada (especialmente actuaciones, metodología de trabajo y resultados preliminares) por el LBM de la US durante 2021, así como la compilación de publicaciones científicas de 2020-2022 y de otras de fechas precedentes, en el ámbito de los proyectos APS-US iniciados en 2014 y canalizados a través de la FIUS.

En este nuevo proyecto, como continuidad de los proyectos anteriores concertados entre ambas instituciones se persigue, entre otros objetivos importantes, contribuir a la implementación de series temporales largas en un escenario ecológico intrínsecamente fluctuante como es el estuario del Guadalquivir, teniendo en consideración la filosofía emergente de "Working With Nature". Se pretende, además, asesorar a la APS mediante criterios de sostenibilidad ambiental sobre futuras actuaciones que esta institución pretenda llevar a cabo en el futuro. Los objetivos trazados para este periodo, cuyas campañas oceanográficas en su mayoría serán ejecutadas conjuntamente entre las US y la UCA, son los siguientes:

Durante los próximos años se cambiará el enfoque de los estudios, adquiriendo una visión mucho más global, muestreando el estuario en su totalidad. De este modo, todos los procesos que ocurren en el estuario y la dársena, así como sus efectos, podrán ser monitorizados.

Como objetivos generales se incluyen:

### 1) Ampliación del monitoreo intensivo a las zonas altas del estuario y a la dársena

En los proyectos precedentes, la parte más intensiva del monitoreo ambiental del estuario y de las comunidades que lo habitan se concentró en la zona baja, entre Chipiona y la masa de agua 5 PSU. El motivo para ello era que esta zona del estuario es la de mayor actividad biológica, con mayor diversidad y la más relevante en cuanto a su importancia en la cría de especies marinas, especialmente en las de interés pesquero. Además, por cuestiones prácticas, durante los primeros años era necesario levantar abundante información desde cero y un estudio intensivo del estuario completo era inabordable. Los datos que se han obtenido en las zonas más altas han sido principalmente físico-químicos y con una periodicidad menor.

Dado el conocimiento ya adquirido del funcionamiento del estuario y de las técnicas y metodologías que necesitamos para su estudio, se ampliará el monitoreo a todo el estuario, incluyendo la dársena, lo que permitirá obtener una visión ambiental integrada y global. Este monitoreo será con periodicidad aproximadamente mensual para el plancton y la columna de agua, y semestral para el bentos. Adicionalmente, la inclusión de las zonas aledañas a las principales poblaciones ribereñas, Puebla, Coria, Gelves e incluyendo Sevilla capital, coadyuvarán a conceder una importante dimensión social y difusión a estos estudios.

Para este objetivo general se propone la descripción del funcionamiento del sistema a nivel global y la identificación de los procesos claves del mismo, además de las posibles vías de gestión de tales procesos. Como objetivos específicos, se incluye el estudio de procesos claves que pueden afectar de forma muy significativa al funcionamiento y al estado ecológico del estuario, como son:

- a) Efecto de la extracción masiva de agua del estuario durante la campaña de arroz y su influencia en las comunidades de los arrozales. En primavera, un periodo fundamental en el que está aumentando la temperatura y las abundancias de especies claves en las redes tróficas del estuario, se produce una extracción masiva de agua, por lo que se retira del estuario, también masivamente, materia orgánica, nutrientes, sedimento en suspensión y organismos del plancton. El efecto que esto pueda tener sobre el funcionamiento y el estado ecológico del sistema es desconocido y se abordará su estudio.
- b) Procesos de hipoxia en la zona alta del estuario. Se han descrito procesos de hipoxia en la parte alta del estuario, de los que ya tenemos algunos datos de periodos concretos del ciclo anual. Estos fenómenos generan procesos agudos de mortandades de peces, que dado que ocurre en zonas pobladas (Puebla, Coria, Gelves), provocan alarma social. La información previa explicaba este fenómeno por la conjunción de diversas causas: la alta turbidez del estuario bloquea la penetración de la luz y la producción primaria, y con ella la producción de oxígeno por el fitoplancton; además, la elevada turbidez está asociada a gran cantidad de material en suspensión, parte del cual es materia orgánica, lo que estimula la actividad de bacteriana y toda la línea heterotrófica de las cadenas alimentarias, generando un consumo de oxígeno elevado. Esto ocurre en todo el estuario, particularmente en las zonas más turbias. Para la zona alta, donde hemos detectado procesos de hipoxia con mayor frecuencia, debe añadirse que, debido a la reflexión de la onda de marea en la presa de Alcalá del Río, esta onda presenta un comportamiento parcialmente estacionario, lo que autores

anteriores han utilizado para explicar la mayor frecuencia de procesos de hipoxia en esta zona.

Sin embargo, la información que hemos obtenido de los estudios precedentes apunta a que podría existir una influencia importante de procesos antrópicos como el funcionamiento de depuradoras o de poblaciones en esas zonas. Esto abriría una posibilidad de gestión de estos problemas ambientales más sencilla y aplicable a corto plazo.

Además, no se dispone de información alguna sobre las comunidades biológicas y su funcionamiento en esta zona alta del estuario, ni de la influencia de los procesos de hipoxia sobre estas comunidades, de ahí que en esta nueva fase de estudio del estuario se monitorizarán los procesos de hipoxia de la zona alta y su influencia sobre las comunidades biológicas, con el objetivo de identificar las posibles causas y proponer medidas de gestión.

c) Monitoreo de las comunidades planctónicas de la dársena del Guadalquivir. En algunos muestreos puntuales se ha observado que la dársena del Guadalquivir presenta un funcionamiento notablemente diferente a la zona circulante del estuario. Principalmente, presenta una salinidad mayor y una turbidez mucho menor. Esto a su vez favorece una mayor penetración de la luz en la columna de agua, una producción primaria mucho más intensa y la presencia de elevadas concentraciones de fitoplancton, lo que implicaría que la dársena podría tener una importante función de absorción de nutrientes y CO<sub>2</sub>, y de liberación de oxígeno (en los muestreos desarrollados se han observado siempre saturaciones de oxígeno notablemente superiores al 100% lo que supone liberación de oxígeno a la atmósfera). Esta función como "pulmón" dentro de la ciudad puede ser de interés social.

Adicionalmente, y debido a las diferencias ambientales observadas, la dársena presenta una comunidad planctónica particular y muy diferente a la encontrada en los tramos abiertos. Se pretende caracterizar tanto su composición como su funcionamiento a lo largo del ciclo anual.

Por otro lado, la comparación de zonas de salinidad equivalente en el tramo abierto del estuario, pero que presentan mayor turbidez, puede ofrecer una información fundamental sobre la influencia de los principales factores ambientales en las comunidades de la dársena y de la zona media y alta del estuario. Esto, a su vez, permitirá desarrollar herramientas de gestión.

d) Estudios de los efectos de las descargas de la presa y propuestas de

**gestión de su apertura**. Se propone ampliar la información que se ha acumulado hasta la fecha sobre estos procesos, con una visión global del estuario. El análisis de la información adquirida hasta la fecha sobre estos procesos, que se ha centrado en la zona baja del estuario, ya aporta información relevante que servirán de punto de partida. Sin embargo, dado lo irregular e impredecible de estos procesos, quedan bastantes incógnitas que se pretenden resolver mediante un enfoque más global del estuario. Al mismo tiempo, dado que la gestión de estos procesos afecta a otras instituciones y entidades (i.e. CHG y Endesa) y, por tanto, es un aspecto delicado, se pretende profundizar en el conocimiento de estos procesos y confirmar algunos de los hallazgos realizados hasta el momento, para poder proponer medidas de gestión de forma robusta y con la mayor seguridad posible.

### 2) Estudios experimentales sobre la influencia de la turbidez en la fauna.

Durante estos años se han conseguido resolver algunos de los problemas de funcionamiento de las instalaciones experimentales del acuario, al mismo tiempo que se han puesto a punto metodologías concretas para el estudio de algunos de los problemas ambientales asociados a la turbidez.

El desarrollo de estudios experimentales permite establecer con más precisión la naturaleza y el alcance de la influencia de la turbidez sobre la fauna, que aquellos estudios de campo en los que no es posible controlar todos los factores que influyen en los resultados.

Así, se propone la continuación de la línea de trabajo iniciada con anterioridad, inherente a la influencia de la turbidez en el funcionamiento de la fauna, principalmente sobre especies de peces.

### 3) Seguimiento ambiental de los dragados.

Se propone continuar los estudios sobre los efectos de los dragados que se lleven a cabo durante este periodo, completando el conocimiento acumulado hasta la fecha

### 4) Difusión de los estudios y de sus resultados.

La inclusión de zonas aledañas a las principales poblaciones ribereñas es una oportunidad para divulgar el patrimonio natural asociado a las comunidades biológicas del Guadalquivir, las características ambientales de estos ecosistemas, su problemática ambiental y las posibles vías de gestión y mejora.

En este sentido se ha empezado a acumular abundante material gráfico sobre
los trabajos realizados y sobre la comunidad biológica del estuario.

En las siguientes páginas se presenta con más detalle las acciones relacionadas con las dinámicas de las comunidades del bentos y del plancton en el presente año 2022, además de los primeros avances de los trabajos realizados sobre el efecto de la turbidez sobre los peces, en condiciones controladas. Además, se presentan resultados ya publicados sobre el estudio de la influencia de los dragados de mantenimiento sobre la columna de agua y las comunidades que se desarrollan en la misma. Con esta publicación, junto con otros estudios también publicados con anterioridad y que se presentan como anexo, el estuario del Guadalquivir se ha convertido en uno de los casos de estudio donde la influencia de los dragados de mantenimiento en diferentes periodos se ha investigado en mayor profundidad. Se presentan también en este anexo otros artículos publicados en el ámbito del convenio entre la APS y la US.

# 2. ESTUDIO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR

Uno de los principales objetivos es establecer series temporales largas del estado de las comunidades bentónicas que sirvan como "centinelas" de los posibles cambios que se originen en el sistema del estuario del Guadalquivir. En este sentido, a partir del año 2015 se ha iniciado un plan de seguimiento sobre las comunidades bentónicas presentes en los aproximadamente 30-40 km finales del estuario del río Guadalquivir y áreas próximas de la desembocadura. Desde la campaña de 2017 se ha incluido el seguimiento paralelo de las comunidades intermareales, una zona que ha demostrado albergar una diversidad relativamente mayor a ciertos tramos de la zona submareal en el estuario.

Al respecto, el bentos del estuario incluye numerosas especies sedentarias estrictas (en su fase adulta) las cuales pueden reportar importante información sobre su nivel de estructuración biológica, biodiversidad y sensibilidad ambiental ante determinadas afecciones de origen natural y antrópico, lo que puede contribuir en el futuro a una mejor gestión de actuaciones antropogénicas, como las derivadas de los dragados de mantenimiento que la Autoridad Portuaria de Sevilla debe acometer periódicamente. Además, el seguimiento de estas comunidades puede ayudar a detectar otros impactos que de otra manera pasarían desapercibidos.

Desde 2021 se han modificado la zona de muestreo y el plan de seguimiento anual. Las ultimas actuaciones en el estudio de las comunidades macrobentónicas del estuario del Guadalquivir se han duplicado anualmente y recogen la totalidad del estuario desde la desembocadura hasta el Rivera del Huelva y finalmente se incluyen muestras en la dársena del puerto de Sevilla.

## **2.1. OBJETIVOS**

Las comunidades animales del bentos representan el compartimento de la fauna que se encuentra asociado al fondo, y están constituidas por organismos en gran parte sésiles o de movimientos muy limitados y por tanto con poca capacidad de huida. Muchos animales del bentos suelen presentar ciclos de vida suficientemente largos como para permanecer bajo la influencia de los factores ambientales durante mucho tiempo por lo que pueden servir de centinelas de lo que acontece en el medio, no ya como especies individuales sino tomando como referencia la composición y estructuración de la comunidad global. El estrés ambiental influye sobre los organismos de forma individual, pero sus efectos pueden ser reconocidos en el ámbito de poblaciones o de comunidades, ya que inducen cambios cuantitativos y cualitativos en la estructura de estas comunidades. Además, suponen un importante elemento para el desarrollo y funcionamiento de las redes tróficas que implican a otros organismos tales como peces y aves. Por estas razones son de los mejores bioindicadores de las condiciones ambientales que imperan en los sistemas acuáticos. Las comunidades del bentos constituyen, pues, un elemento fundamental de control y vigilancia tanto de las actuaciones de dragados como de la futura gestión integral del estuario.

En este informe se detallan

- Actuaciones llevadas a cabo en 2022.
- Actuaciones objetivo a realizar en el periodo 2023.
- Resultados científicos en forma de publicación en revistas y congresos internacionales.

# 2.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Para el seguimiento de las comunidades bentónicas asentadas a lo largo de los últimos 30-40 km del estuario del río Guadalquivir, los estudios anteriores han demostrado la idoneidad de dividir esta parte del río en 6 zonas con distintas condiciones ambientales, junto con otra zona externa en el medio marino en el área de influencia de la desembocadura (figura 2.1). Además, los resultados obtenidos hasta el momento, y con el objeto de evitar la redundancia en los datos y agilizar la obtención de resultados, han permitido definir como la época más adecuada de acuerdo con los objetivos del estudio al final de la temporada de verano.

Para las siguientes campañas de seguimiento de las comunidades biológicas macrobentónicas se ha procedido a una modificación del esquema de muestreo realizado en las anteriores campañas. El seguimiento ha pasado de ser una vez al año a un seguimiento semestral coincidiendo con los periodos de mayor y menor reclutamiento de especies en el año. Además, se procederá a muestrear todo el estuario del Guadalquivir coincidiendo con los nuevos puntos de muestreo de las comunidades planctónicas (figura 2.2). Con esta modificación se pretende tener una visión integral del efecto de todos los procesos que ocurren en el estuario tanto de origen natural como de origen antrópico en las comunidades macrobentonicas.



Figura 2.1. Zonas en las que se ha dividido el tramo final del estuario del Guadalquivir para los estudios de seguimiento temporal de la comunidad del bentos.



Figura 2.2. Zonas en las que se ha dividido el estuario del Guadalquivir para los nuevos estudios de seguimiento temporal de la comunidad del bentos.

# 2.2.1. ÁREA DE ESTUDIO

Las zonas de muestreo de la comunidad submareal macrobentonica del estuario del Guadalquivir se han concentrado en la parte final debido a que está presenta mayor diversidad de especies debido a la influencia marina.: Zona de la Broa exterior, Broa Interior, Sanlúcar de Barrameda, Bonanza, Salinas, Puntalete, los Yesos y Tarfia. Además, se han establecido otros puntos de muestro río arriba con el fin de controlar la dinámica espacio temporal de las comunidades bentónicas en el estuario del Guadalquivir en prácticamente toda su extensión. Por ello se han seleccionado nuevas zonas: La Señuela, Corta de los Jerónimos, Corta de la Isleta, La Puebla del Río, Esclusa, San Juan de Aznalfarache y Rivera del Huelva. Haciendo un total de 15 puntos (Figura 2.2). En la dársena de Sevilla se han seleccionado tres puntos más en las zonas del Quinto Centenario, Torre del Oro y Puente de la Barqueta.

### 2.2.2. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

La toma de muestras de sedimento submareales se realizó desde la embarcación "LBM III", propiedad de la Universidad de Sevilla y adquirida fundamentalmente para estudios en el estuario del Guadalquivir. Las muestras se tomaron mediante una draga tipo van Veen, con una superficie operativa de 0,05 m<sup>2</sup> y un peso aproximado de 8 kg. Este tipo de draga posibilita la toma de superficies rectangulares en los muestreos y que, independientemente del tipo de sedimento, profundiza en éste como mínimo 10 cm, fracción en la que se encuentra representada la mayor parte de la fauna sujeta a estudio. Una vez lanzada y recogida la draga, el contenido es embolsado y etiquetado para su traslado (figura 2.3).



Figura 2.3. Embarcación LBM III. Muestras embolsadas para traslado a puerto. Proceso de tamizado en el puerto.

En cada punto de recogida de muestras submareales se tomaron 3 réplicas con

una superficie total de 0,15 m<sup>2</sup> destinadas al análisis de las comunidades biológicas. Diversos autores señalan que la superficie menor que estima la integración del total de taxones en el sedimento es de 0,1m<sup>2</sup>, por lo que la superficie total muestreada en este estudio se considera representativa de la zona.

El estudio, tanto de la zona submareal, se centró en la identificación y caracterización de las comunidades de macrofauna bentónica. Aunque el criterio aplicado a la macrofauna hace referencia a un tamaño superior a 1mm, las muestras fueron cribadas con un tamiz de 0,5 mm de luz de malla. De esta forma los individuos pertenecientes a la meiofauna (organismos con un tamaño inferior a 0,5 mm) no pueden ser retenidos, pero se asegura la detección de juveniles macrobentónicos, muy importantes para la valoración global de la calidad ambiental. Así mismo, se asegura la captura de organismos vermiformes que, debido a su especial morfología, podrían no ser retenidos con luces de malla superiores y que, dada su importancia cualitativa y cuantitativa en la estructura de las comunidades bentónicas, podrían ocasionar errores en la interpretación de los resultados.

Una vez tamizadas, las muestras fueron fijadas con alcohol al 70% y teñidas con el colorante rosa de Bengala (que tiñe determinados componentes lipídicos de los individuos, facilitando su separación del sustrato) para posteriormente ser determinados y cuantificados a nivel de especie cuando fue posible.



Figura 2.4. Sonda multiparamétrica Eureka Manta 2. Medida in situ del potencial REDOX.

### 2.2.3. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS

Paralelamente al muestreo biológico, se efectuó la toma de muestras para los análisis físico-químicos. En cada punto submareal se tomó una muestra de sedimento mediante draga van Veen para el análisis granulométrico y de contenido orgánico y, mediante la sonda multiparamétrica Eureka Manta 2 (figura 2.4), se realizaron perfiles en profundidad y se obtuvieron los distintos parámetros físico-químicos medidos en el agua de la columna de agua (turbidez, salinidad, conductividad, oxígeno disuelto, temperatura y pH. El potencial REDOX fue medido *in situ* en el sedimento mediante electrodo (Sentix-ORP) con pHmetro WTW pH 1970i (figura 2.4).

Además, se tomaron muestras de sedimento para la determinación de la concentración de metales pesados y nutrientes. El sedimento fue tomado de la capa superficial de la muestra extraída mediante draga Van Veen y conservado en fresco en bote hermético etiquetado para su traslado a laboratorio donde se procedió al secado en estufa a 50°C (figura 2.5). Las muestras de sedimento secas han sido enviadas a los laboratorios del IRNAS (Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla-CSIC) para la determinación del contenido en metales, así como para la determinación del carbono orgánico total (COT), nitrógeno total (método de Kjedahl) y fósforo total (método de Olsen).

### 2.2.3.1. Perfiles físico-químicos de la columna de agua

Para estudiar la estructura de la columna de agua en las distintas zonas de muestreo y poder compararlas tanto espacial como temporalmente, la relación de cada variable con la profundidad se analizó mediante modelos generalizados aditivos que permiten el estudio de relaciones no lineales. En cada zona de muestreo, se obtuvo la predicción del modelo promedio por una profundidad estandarizada de 0 a 1. Para una visualización que permita la interpretación y la comparación, los datos obtenidos de la forma expuesta han sido representados con el programa Ocean Data View (Schlitzer, 2016), que realiza una interpolación de esos datos en toda la zona de estudio.

### 2.2.3.2. Granulometría

La composición granulométrica del sustrato es uno de los factores determinantes



Figura 2.5 Proceso de secado de muestras de sedimento para la posterior medida de parámetros físico-químicos.

en la composición y estructura de las comunidades del macrobentos en sustratos blandos (Rhoas, 1974; Buchannan, 1984). La presencia de altas proporciones de elementos finos en los sedimentos conlleva la existencia de poblaciones poco diversas, mientras que una mayor heterogeneidad espacial (conseguida con el aumento del tamaño de los granos) potencia un aumento de diversidad biológica.

Para la obtención de los distintos componentes granulométricos se ha utilizado el método propuesto por Guitián y Carballas (1976). Las muestras se secan en una estufa a 100°C durante al menos 24 horas, de forma que se elimina el contenido en agua de la muestra. Pasado ese tiempo, se pesan 100 gramos de sedimento seco y se colocan en una volteadora durante 45 minutos con el fin de disgregar el sedimento. Posteriormente, los 100 gramos de sedimento se tamizan a través de una columna de tamices para retener en cada uno de ellos las distintas fracciones granulométricas. La columna de tamices (figura 2.6) está formada por tamices con luces de malla de 5, 2, 1, 0'5, 0'25, 0'125, 0'063 milímetros, y tras éstos se coloca un fondo donde se recoge la fracción pelítica.



Figura 2.6. Batería de tamices.

Mediante este método se pueden discriminar las distintas fracciones granulométricas cuando éstas devienen compuestas mayoritariamente por elementos arenosos y la fracción pelítica es baja (inferior al 5%). La columna de tamices se somete a vibración mediante un agitador mecánico durante 10 minutos, pasados los cuales el contenido de cada tamiz es pesado en una balanza de precisión y luego mediante los porcentajes acumulados de los pesos obtenidos en cada uno de los tamices se obtiene el valor de la mediana. Este valor tipifica el sedimento mediante una aproximación a la escala geométrica de Wenthworth (Buchanann, 1984), así:

2> Q<sub>50</sub>> 1 Arena muy gruesa

1> Q<sub>50</sub>> 0'5 Arena gruesa

0'5> Q<sub>50</sub>> 0'25 Arena media

0'25> Q<sub>50</sub>> 0'125 Arena fina

0'125> Q<sub>50</sub>> 0'063 Arena muy fina

Las características hidrodinámicas de la zona determinan la heterogeneidad del sedimento. Esta heterogeneidad puede medirse mediante el coeficiente de selección S<sub>0</sub> (S<sub>0</sub>= $\sqrt{Q_{25}/Q_{75}}$ , donde Q<sub>25</sub> y Q<sub>75</sub> son los cuartiles 25 y 75 respectivamente). Así, dependiendo del valor obtenido para S<sub>0</sub> la selección de la muestra será:

 $S_0$ < 1'17 Selección muy buena 1'17<  $S_0$ < 1'20 Selección buena 1'20<  $S_0$ < 1'35 Selección moderadamente buena 1'35<  $S_0$ < 1'87 Selección moderada 1'87<  $S_0$ < 2'75 Selección pobre 2'75<  $S_0$  Selección mala

Un coeficiente de selección bueno acontece en situaciones en las que existe una homogeneidad en el tamaño de grano y un mal coeficiente corresponde a un grano muy diverso.

En aquellas muestras con un contenido en elementos finos superior al 5%, se ha procedido a una variante del método anterior. Para ello, se pesan 100 gramos de sedimento seco y se humedecen durante 24 horas. Posteriormente, el sedimento se pasa por un tamiz de luz de malla 0'063mm de tal forma que se elimina el sedimento inferior a este tamaño, mientras el resto vuelve a ser secado en estufa durante al menos 24 horas y se procede a su paso por la batería de tamices y el agitador mecánico, al igual que en el procedimiento anterior. Mediante los porcentajes acumulados de los pesos obtenidos en cada uno de los tamices más el porcentaje de sedimento eliminado se obtiene el valor de la mediana y se tipifica el sedimento.

### 2.2.3.3. Contenido en materia orgánica

El contenido en materia orgánica particulada (aquella presente en el componente del sedimento con tamaño de grano inferior a 0'5 milímetros) se ha obtenido mediante la calcinación de las muestras. Para el desecado de las muestras se ha utilizado una estufa a 70° C durante al menos 24 horas. De cada una se extrajeron 3 réplicas de 2

gramos de peso seco, que fueron calcinadas mediante horno mufla a 500º C durante 4 horas.

La diferencia entre el peso inicial y el peso de las cenizas resultantes expresado en porcentajes (peso seco libre de cenizas, PSLC) se interpreta como el contenido orgánico del sedimento (Crisp, 1984). La media de los resultados de las tres réplicas se ha considerado como el valor del contenido en materia orgánica del sedimento.

#### 2.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS

Los datos obtenidos tras la determinación faunística se resumen en una matriz taxón-estación. Las distintas especies obtenidas se han unido según sus respectivos grupos taxonómicos: anélidos, artrópodos, equinodermos, moluscos y otros.

Se ha procedido de igual modo en el estudio de los distintos parámetros físicoquímicos medidos en el agua del fondo y el sedimento. En el caso de los metales pesados medidos en el sedimento se ha calculado el índice de geoacumulación (Igeo) para algunos de ellos. Este índice supone una medida relativa de contaminación por metales y compara la concentración de un metal concreto con la concentración que se considera normal para la zona de estudio. Como referencia se han empleado los niveles establecidos por Ruiz (2001) para los estuarios de la costa atlántica andaluza (tabla 2.1). El índice se expresa como:  $I_{geo}$ =  $log_2$  (C<sub>n</sub>/1,5 x B<sub>n</sub>), donde C<sub>n</sub> es la concentración medida y B<sub>n</sub> la concentración de referencia. Los valores del índice se clasifican en cinco grupos: no contaminado ( $I_{geo}$ <1); muy poco contaminado ( $1 < I_{geo}$ <2); poco contaminado ( $2 < I_{geo}$ <3); contaminación moderada ( $3 < I_{geo}$ <4); contaminación alta ( $4 < I_{geo}$ <5); y contaminación muy alta ( $I_{geo}$ >5).

	Cr	Cu	Zn	Pb
Arenas medias	6	6	6	2
Arenas finas	9	13	16	4
Fangos	21	13	39	15

Tabla 2.1 Valores de referencia de algunos metales para los estuarios de la costa atlántica andaluza (Ruiz, 2001). Concentraciones medidas en mg/kg.

Paralelamente se han relacionado las concentraciones de algunos metales pesados con los valores de calidad del sedimento (SQV, *sediment quality values*) establecidos por National Oceanic and Atmospheric Administration (Long *et al.*, 1995) y por DelValls y Chapman (1998).

17

El conjunto de datos ha sido sometido a una serie de análisis numéricos, con el objeto de describir e interpretar, en la medida de lo posible, la composición y estructura de la comunidad macrobentónica de sustrato blando de las zonas estudiadas.

### 2.2.4.1. Análisis descriptivos de la comunidad

Estos análisis pretenden estimar los cambios producidos en un gradiente espacio-temporal en las comunidades. Entre ellos se encuentran: el número de especies, abundancia, diversidad y equitatividad.

Nº de especies: este índice muestra únicamente el número de taxones de un mismo rango (especie) que identificamos en cada punto de muestreo independientemente de la abundancia relativa de cada uno de ellos.

Abundancia: es el número de individuos de un taxón o conjunto de ellos encontrados en un punto o conjunto de puntos de muestreo y se suele expresar como número de individuos por m<sup>2</sup>.

Diversidad: el índice de diversidad utilizado es el de Shannon-Wiener H' (Shannon y Weaver, 1963) con el logaritmo en base e.

El índice se expresa como:

H'= -  $\sum p_i \log_e p_i$ 

donde p<sub>i</sub>= n<sub>i</sub>/N y n<sub>i</sub> es el número de individuos de la especie i.

Equitatividad: se expresa como el índice de Pielou (Pielou, 1966). Este índice está determinado por la relación entre la diversidad real (H') y la diversidad máxima (H'<sub>max</sub>). La diversidad máxima se alcanza cuando todas las especies tienen la misma abundancia. H'<sub>max</sub> se puede expresar como el log<sub>e</sub> del número de especies.

La fórmula del índice de equitatividad es:

 $J' = H'/H'_{max}$ .

### 2.2.4.2. Análisis multivariantes

Los análisis univariantes son especie-independientes, por lo que para una comparación más efectiva entre las estaciones o entre los periodos debemos recurrir a otros que sean especies-dependientes.

Para ello se ha seguido una modificación del esquema propuesto por Clarke (1993):

 Representación de la estructura de la comunidad por medio de análisis de ordenación de las estaciones. Análisis de las relaciones entre las variables bióticas y abióticas.

Los distintos análisis han sido realizados por medio de los paquetes estadísticos PRIMER 6 ("Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research"), IBM SPSS Statistics25 y RStudio v. 0.98.953.

Índice de similaridad de Bray-Curtis: la finalidad de este índice (Bray y Curtis, 1957) es analizar las afinidades entre las distintas estaciones o periodos de muestreo. Los datos se transforman mediante la raíz cuarta ( $4\sqrt{x}$ ) (Clarke y Warwick, 1994), con objeto de mitigar el efecto sobre la similaridad de las especies más abundantes, de modo que las menos abundantes contribuyan en mayor medida a esta similaridad.

La fórmula del índice de similaridad de Bray-Curtis es la siguiente:

 $S_{jk} = 100 (1 - \Sigma_{i=1}^{p} |y_{ij} - y_{ik}| / \Sigma_{i=1}^{p} |y_{ij} + y_{ik}|)$ 

donde:

Sjk es la similaridad entre las muestras j y k

y<sub>ij</sub> es el valor de la especie i en la muestra j

yik es el valor de la especie i en la muestra k

El valor de la similaridad varía entre 0 y 100, dependiendo de si las muestras comparadas no tienen ninguna especie en común (0), o bien cuando todos los valores para todas las especies son idénticos en ambas muestras (100).

PERMANOVA: Las diferencias entre las comunidades de las áreas de estudio en los distintos meses de muestreo se analizarán mediante un análisis de ANOVA multivariante por permutaciones o PERMANOVA (Anderson, 2001). Se ha realizado mediante un diseño de dos factores: Zona (6 niveles, fijo) y Año (5 niveles, fijo). Las diferencias entre áreas de muestreo en los distintos meses con respecto a la diversidad, riqueza de especies y la abundancia fueron analizadas mediante un análisis univariante PERMANOVA.

Análisis de ordenación MDS (*Non-metric Multidimensional Scaling*): representa la estructura biológica en un espacio multidimensional, de forma que la distancia entre dos puntos de muestreo o periodo es proporcional a la similaridad en la composición de sus comunidades de acuerdo con el índice de Bray-Curtis.

La ordenación resultante puede ser contrastada mediante el coeficiente de estrés de Kruskal (Kruskal y Wish, 1978). Valores de este coeficiente por debajo de 0,1 indican que se puede realizar una interpretación fiable de la representación gráfica de la disposición de las estaciones estudiadas. Por el contrario, los situados por encima de

0,3 sugieren que dicha disposición es arbitraria (Clarke y Warwick, 1994).

Análisis de componentes principales (PCA, *Principal Component Analysis*): se basa en técnicas de análisis multidimensional. En este caso, se representa una ordenación de las estaciones de muestreo de acuerdo con su semejanza físico-química. En este análisis, basado en distancias euclídeas, es un método de reducción de la dimensionalidad de tal forma que cada eje o componente principal absorbe parte de la varianza que explica la distribución de las estaciones. Cada eje está influido por uno o varios parámetros que son los responsables de la separación o semejanza de las estaciones, de tal forma que, a mayor varianza absorbida por cada eje, más diferencias marca entre los distintos puntos. Para determinar qué parámetros influyen sobre cada eje se calculan las correlaciones de los diversos parámetros con los ejes (*eigenvectors*), siendo aquellos que muestren las mayores correlaciones (tanto negativas como positivas, indicando este signo únicamente la dirección del gradiente, es decir, signo negativo hacia la izquierda y positivo a la derecha) quienes explican la varianza absorbida por el eje.

Con el objeto de poder establecer comparaciones entre parámetros con distintas unidades de medida se somete a la matriz a una estandarización previa mediante la siguiente fórmula:

 $b = (X_{ij} - X_i)/S_i$ 

donde, b es el valor que va a tomar cada parámetro en cada punto de muestreo una vez estandarizado; X<sub>ij</sub> es el valor de la media de los resultados obtenidos para cada parámetro; X<sub>i</sub> es el valor obtenido en cada punto y S<sub>i</sub> es el valor de la desviación típica de cada parámetro.

Análisis CCA (análisis de correspondencias canónicas): este análisis se utiliza para el estudio de la relación existente entre las comunidades encontradas en los puntos de muestreo y las variables abióticas.

Consiste en la comparación de la ordenación de las estaciones de muestreo a partir de las variables bióticas y abióticas por separado; de tal modo que se puede establecer qué variables ambientales de las estudiadas favorecen la máxima correlación entre las dos configuraciones.

### 2.2.4.3. Indicadores de los elementos de calidad biológicos

De acuerdo con las premisas establecidas en la Ley 62/2003, de 30 de diciembre que incluye –art. 129- la Modificación del Texto Refundido de la Ley de Aguas, aprobado por el Real Decreto Legislativo 1/2001, de 20 de julio, por la que se incorpora al derecho español la Directiva 2000/60/CE (Directiva Marco del Agua, DMA), el estado de las masas de aguas, tanto de transición como costeras, se han de clasificar a partir de su estado ecológico y químico. Para el presente estudio se han elegido los dos índices que nos ofrecen mayor información: BENFES y M-AMBI.

### 2.2.4.4. M-AMBI (Multivariate AZTI Marine Biotic Index)

El índice AMBI, propuesto por Borja *et al.* (2000), se conoce como coeficiente biótico (BC) y es el producto de clasificar a las distintas especies en 5 grupos según su sensibilidad a un aumento de estrés ambiental. Estos grupos fueron definidos previamente por Grall y Glémarec (1997). Los creadores de AMBI ofrecen una lista actualizada con la asignación de las distintas especies a un grupo determinado, si bien también permiten la asignación a un grupo en función de la propia experiencia del investigador. La lista utilizada como base para la elaboración del índice ha sido la de junio de 2017. Los grupos van de G<sub>1</sub> a G<sub>V</sub> de forma que el grupo G<sub>1</sub> es el que incluye a especies muy sensibles y el grupo G<sub>V</sub> a especies oportunistas.

Así, el índice biótico (BC) sería:

$$BC = \left(\frac{(0x\%GI) + (1,5x\%GII) + (3x\%GIII) + (4,5x\%GIV) + (6x\%GV)}{100}\right)$$

El análisis M-AMBI es un análisis factorial que combina AMBI con la diversidad (Shannon con el logaritmo en base 2) y el número de especies y que requiere la definición previa de unas condiciones de referencia para estas tres variables. Para nuestro estudio estas condiciones se establecen de la siguiente manera (tabla 2.2):

Las condiciones de referencia utilizadas en este estudio se basan en los datos obtenidos en estudios previos realizados en el estuario del río Guadiana.

	Estado	Diversidad	Riqueza	Valor
	ecológico	(Shannon)	(nº de especies)	AMBI
	Malo	0,0	0	6
Oligohalino	Alto	2,4	15	2,9
Mesohalino	Alto	2,7	18	2,5
Polihalino	Alto	3,0	25	2,1
Euhalino (Desembocadura)	Alto	3,8	35	1,3
Área marina (10m)	Alto	4,0	50	1,3
Área marina (20m)	Alto	4,2	60	1,3

Tabla 2.2. Condiciones de referencia de las distintas zonas para aplicar el índice M-AMBI.

Los valores obtenidos para AMBI y M-AMBI pueden ser utilizados para establecer el estado ecológico de la zona de estudio según la tabla 2.3.

AMBI	M-AMBI	Estado ecológico
0 - 1,2	>0,77	Alto
1,2 - 3,3	0,53-0,77	Bueno
3,3 - 4,3	0,39-0,53	Moderado
4,3 - 5,5	0,2-0,39	Pobre
> 5,5	<0,20	Malo

Tabla 2.3. Estado ecológico según AMBI y M-AMBI.

4.	ramilia	CATEGORIA
a	Oligoshaata	1
gochaeta	Oligochaeta	1
nchiannenua	Capitallidae	2
apiteniua	Cossuridae	2
Cossurida	Maldanidae	5
	Lumbrineridae	4
Eunicida	Onuphidae	5
Opheliida	Opheliidae	5
Orbiniida	Paraonidae	5
	Glyceridae	4
	Hesionidae	3
	Nephtydae	4
	Nereididae	3
Phyllodocida	Phyllodocidae	4
	Pilargidae	3
	Polynoidae	4
	Sigalionidae	4
	Syllidae	4
abellida	Oweniidae	4
	Sabellidae	4
	Chaetopteridae	5
pionida	Magelonidae	5
	Spionidae	3
	Ampharetidae	4
o rohollido	Cirratulidae	2
rerenetitud	Portinariidae	5
	Terebollidae	∠ 5
ronoda	Terebellidae	5
Topoda	Ampeliscidae	5
	Anipenseidae	5
	Atylidae	5
	Bathyporeiidae	5
	Calliopiidae	5
	Caprellidae	4
	Corophiidae	3
	Haustoriidae	5
Amphipoda	Iphimediidae	5
	Leucothoidae	5
	Lysianassidae	5
	Melitidae	5
	Oedicerotidae	4
	Photidae	5
	Phoxocephalidae	5
	Pleustidae	5
	Bodotriidae	4
umacea	Diastylidae	4
amacca	Leuconidae	5
	Pseudocumatidae	4
	Alpheidae	4
	Carcinidae	3
	Crangonidae	5
	Diogenidae	4
Decapoda	Ogyrididae	5
	Palaemonidae	5
	Panopeidae	4
	Pinnotheridae	2
	Polybiidae	5
	Upogebiidae	4
		3
nsecta	Chironomidae	
isecta	Chironomidae Dolichopodidae	2
nsecta	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae	2 3
nsecta	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae	2 3 5
opoda	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae	2 3 5 5
nsecta sopoda	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae	2 3 5 5 5 5
nsecta	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munnidae	2 3 5 5 5 4
nsecta	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae	2 3 5 5 5 4 3
nsecta sopoda .eptostraca	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Gnathiidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae	2 3 5 5 4 3 1
nsecta sopoda eptostraca Mysida	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Idoteidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae Mysidae	2 3 5 5 4 3 1
nsecta sopoda eptostraca Aysida essilia	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Idoteidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae Mysidae Balanidae	2 3 5 5 4 3 1 4 4
nsecta sopoda eptostraca Aysida essilia tomatopoda	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Idoteidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae Balanidae Squillidae	2 3 5 5 4 3 1 4 4 4 5 5
nsecta sopoda eptostraca Aysida essilia tomatopoda ianaidacea	Chironomidae Dolichopodidae Anthuridae Cirolanidae Idoteidae Idoteidae Munnidae Sphaeromatidae Nebaliidae Mysidae Balanidae Squillidae Tanaidacea	2 3 5 5 4 3 1 4 4 5 5 3 3

Tabla 2.4. Categorías de las especies/familias del índice BENFES.

### **2.2.4.5. BENFES (Benthic Families Ecological Status Index)**

Este índice, desarrollado por el Laboratorio de Biología Marina de la Universidad de Sevilla (Sánchez-Moyano *et al.*, 2017), se basa en el índice IBMWP (Alba-Tecedor y Sánchez-Ortega, 1988) que a su vez se basa en el descrito por Hellawell en 1978. Sólo requiere identificación de los individuos encontrados a nivel de familia, y únicamente se valora la presencia-ausencia de la misma, no su abundancia.

El valor del índice se obtiene por la suma de puntuación correspondiente a cada familia que habita en el área de estudio. Alba-Tecedor y Sánchez-Ortega (1988) estableció una tabla con las puntuaciones de las distintas familias de macroinvertebrados encontradas para los ríos españoles en función de su sensibilidad a perturbaciones. La puntuación oscila de 1 a 10, siendo 10 asignado para aquellas familias más sensibles. En nuestro caso, hemos reducido la escala numérica de 1 a 5 con el objeto de limitar el error de asignar equivocadamente una puntuación. La asignación a cada familia se ha establecido según la sensibilidad de las especies encontradas teniendo en cuenta los grupos establecidos en el índice AMBI y nuestra propia experiencia en los casos de especies no asignadas o discrepancias con las categorías de AMBI. En la tabla 2.4 se recogen los valores asignados a cada especie/familia según el índice BENFES. El resultado del índice se obtiene por la suma de las puntuaciones asignadas a cada familia en cada punto.

Los resultados obtenidos se comparan con los valores de referencia (tabla 2.5), obteniendo así el estado ecológico (EQS) de la zona de estudio. En el caso de las zonas oligohalina y mesohalina, por su propia naturaleza, los valores de referencia del índice BENFES son diferentes al de resto de zonas.

Clase	BENFES	BENFES OM	Significado	Estado ecológico
Ι	> 100	> 70	Áreas inalteradas	Alto
II	61-99	43-70	Áreas poco alteradas o son evidentes algunos efectos de contaminación	Bueno
III	36-60	25-42	Aguas alteradas	Moderado
IV	15-35	10-24	Aguas muy alteradas	Pobre
V	< 15	< 10	Aguas fuertemente alteradas	Malo

Tabla 2.5. Estado ecológico según el índice BENFES. BENFES OM: Valores de referencia del índice BENFES para las zonas oligonalina y mesonalina.

# 2.3. SEGUIMIENTO DE LAS COMUNIDADES MACROBENTÓNICAS DEL ESTUARIO DEL GUADALQUIVIR 2022

Durante la anualidad de 2022, se ha procedido a realizar los dos muestreos anuales de seguimiento de las comunidades macrobentónicas. El primer muestreo se realizó en la en el mes de mayo, y el segundo en el mes de octubre. Durante la anualidad de 2023 se procederá al análisis de las características fisicoquímicas del agua, del sedimento y se identificarán taxonómicamente las muestras biológicas.

En este informe se presenta datos de las características fisicoquímicas del agua y del sedimento y de comunidad biológica de las muestras de la parte media y alta del estuario en el mes de mayo debido al poco conocimiento que hay de estas comunidades.

# 2.4. Resultados del seguimiento de las comunidades bentónicas

# 2.4.1 Granulometría

	15	14	13	12	11	10	9
Finos %	99.31	98.71	97.22	90.52	1.14	98.39	0.18
MO (mg)	0.14	0.15	0.16	0.13	0.03	0.14	0.03
Redox (mV)	-221	-210	-214	-200	-4	-131	184

Tabla 2.6. Resultados de porcentaje de sedimento y materia orgánica en las estaciones procesadas.

La tabla X muestra los resultados del porcentaje de finos (sedimento con tamaño de partícula inferior a 0.063 mm) presente en las muestras de sedimento de las estaciones 15 a 9. La mayoría de las estaciones poseía sedimento compuesto por un alto porcentaje de fangos y arcillas. Solamente las estaciones 12 y 9 mostraron un contenido mayor de arenas (sedimento mayor 0.063 mm). La materia orgánica y el potencial REDOX de las muestras mostró valores asociados a la granulometría de las estaciones. Los sedimentos con alto porcentaje de finos mostraron contenidos mayores en materia orgánica y menor potencial REDOX. Las estaciones con mayor porcentaje de finos mostraron un contenido de materia orgánica entre 0.13 y 0.15 mg, mientras que los fondos arenosos poseían materia orgánica en torno a 0.03 mg. El potencial REDOX mostró valores en torno a -200 mV en las estaciones más interiores del estuario y contenidos cercanos a 0 y positivos (+184 mV) en las estaciones cuya granulometría eran arenas.

### 2.4.2 Resultados biológicos

Los resultados analizados mostraron que prácticamente todas las muestras tomadas estaban dominadas por una única especie de anélido oligoqueto con una densidad relativamente alta. Esta especie mostró su densidad más alta (mayor de 2870 ind/m<sup>2</sup>) en la estación 15 en la desembocadura del Rivera del Huelva, disminuyendo hasta la estación 10 en la Corta de los Jerónimos con densidades por debajo de 600 ind/m<sup>2</sup>. Por debajo de esta última estación esta especie no estaba presente (Figura 2.8).

En la última estación muestreada, La Señuela, sólo se encontró un individuo de la especie de misidáceo *Mesopodopsis slabberi* cuyo hábitat está más asociado al suprabentos y no es un animal estrictamente bentónico. En las estaciones 11 y 10 se encontraron individuos del anfípodo *Corophium orientale* y en la 12 y 13 otra especie de anélido (Figura 2.7).

La baja diversidad con abundancias altas es característica de estuarios donde solo algunas especies están adaptadas a la alta variación espaciotemporal de las características fisicoquímicas del ambiente y, especialmente en el Guadalquivir, cuyas comunidades betónicas en la parte interna del estuario presentan una estructura bastante pobre.



Figura 2.7. Organismos encontrados en la parte alta del estuario.



Figura 2.8. Densidad del oligoqueto (ind/m<sup>2</sup>) predominante en las muestras de la parte alta del estuario.

Estación	S	Ν	J'	Н'
15	1	2873	****	0
14	1	753	****	0
13	2	807	0.07	0.05
12	2	867	0.07	0.05
11	2	640	0.08	0.06
10	3	580	0.16	0.17
9	1	7	* * * *	0

Tabla 2.6. Resultados de porcentaje de sedimento y materia orgánica en las estaciones muestreda.

La tabla 2.6 muestra los índices univariantes de riqueza (S), densidad total (N), índice de Pielou y el índice de Shannon (H'). La riqueza mostró un patrón ascendente desde la estación más alta, en el Rivera del Huelva con 1 especie, hasta la estación 10 en la Corta de los Jerónimos con 3 especies. La última estación analizada, La Señuela, solo mostró una especie. La densidad total mostró un patrón generalmente descendente desde la parte alta hasta la Señuela, debido a las menores densidades de la especie de oligoqueto predominante. Los índices de Pilou y de Shannon mostraron estaciones con muy baja equitatividad y diversidad, pero con un patrón ascendente en las estaciones río abajo. Las estaciones 15, 14 y La Señuela, al tener una sola especie, el índice de Pilou no pudo ser calculado y mostraron un índice de Shannon con valores de 0.

Los índices bióticos calculados para la parte alta del estuario se muestran en la tabla 2.7. Estos índices fueron el BENFES desarrollado por el Laboratorio de Biología Marina de la Universidad de Sevilla (Sánchez-Moyano et al., 2017) y el BO2A (Dauvin and

Ruellet, 2009) con los nuevos umbrales del estado ecológico propuestos por (De-La-Ossa-Carretero and Dauvin, 2010). En todas las estaciones los dos índices mostraron un estado ecológicos malo o pobre/malo.

	15	14	13	12	11	10	9
BO2A	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.29	0.30
BENFES	1	1	2	2	4	4	4

Tabla 2.7. Resultados de los índices bióticos calculados. El color muestra el estado ecológico de la estación muestreada

# 2.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alba-Tecedor, J. y Sánchez-Ortega, A. 1988. Un método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas corriente basado en el de Hellawell (1978). Limmnetica, 4: 51-56.

Bray, R.J. y Curtis, J.I. 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. Ecological Monographs, 27: 325-349

Buchanan, J.B. 1984. Sediment analysis. En: Holme, N.A. & McIntyre, A.D. (Eds.). IBP Handbook, nº 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. 387 pp

Buchanan, J.B. 1984. Sediment analysis. En: Holme, N.A. & McIntyre, A.D. (Eds.). IBP Handbook, nº 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. 387 pp

Carvalho, S., Constantino, R., Cerqueira, M., Pereira, F., Subida, M.D., Drake, P., Gaspar, M.B., 2013. Short-term impact of bait digging on intertidal macrobenthic assemblages of two south Iberian Atlantic systems. Estuar. Coast. Shelf Sci. 132, 65–76. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.06.017

Clarke, K.R. y Ainsworth, M. 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. Marine Ecology Progress Series, 92: 205-219.

Clarke, K.R. y Ainsworth, M. 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. Marine Ecology Progress Series, 92: 205-219.

Clarke, K.R., Warwick, R.M. 1994. Change in Marine Communities: An approach to Statistical Analysis and Interpretation. PRIMER-E, Plymouth, UK. 172 pp.

Crisp, D.J. 1984. Energy flow measurements. En: Holme, N.A. & McIntyre, A.D. (Eds.). IBP Handbook, nº 16. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London. 387 pp.

David, V., Selleslagh, J., Nowaczyk, A., Dubois, S., Bachelet, G., Blanchet, H., Gouillieux, B., Lavesque, N., Leconte, M., Savoye, N., Sautour, B., Lobry, J., 2016. Estuarine habitats structure zooplankton communities: Implications for the pelagic trophic pathways. Estuar. Coast. Shelf Sci. 179, 99–111. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.01.022

Dauvin, J.-C., Ruellet, T., 2009. The estuarine quality paradox: Is it possible to define an ecological quality status for specific modified and naturally stressed estuarine ecosystems? Mar. Pollut. Bull. 59, 38–47. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.11.008

De-La-Ossa-Carretero, J.A., Dauvin, J.C., 2010. A Comparison of two biotic indices, AMBI and BOPA/BO2A, for assessing the ecological quality status (EcoQS) of benthic macro-invertebrates. Transitional Waters Bull. 4, 12–24. https://doi.org/10.1285/i1825229Xv4n1p12

Deniro, M.J., Epstein, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. Geochim. Cosmochim. Acta 42, 495–506.

Deniro, M.J., Epstein, S., 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. Geochim. Cosmochim. Acta 45, 341–351. https://doi.org/10.1016/0016-7037(81)90244-1

Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2019. Human pressures on two estuaries of the Iberian Peninsula are reflected in food web structure. Sci. Rep. 9, 11495. https://doi.org/10.1038/s41598-019-47793-2

Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018. Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats. Mar. Environ. Res. 140, 455–467. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012

Pielou, E.C. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. Journal of Theoretical Biology, 13: 131-144.

Sánchez-Moyano, J.E.; García-Asencio, I.; Donázar-Aramendía, I.; Miró, J.M.; Megina, C.; García-Gómez, J.C. 2017. BENFES, a new biotic index for assessing ecological status of soft-bottom communities. towards a lower taxonomic complexity, greater reliability and less effort. Marine Environmental Research 132: 41-50.

Schlitzer R. (2016) Ocean Data View. Alfred Wegener Institute, Bremerhaven, Germany. https://odv.awi.de/

Shannon, C.E. y Weaver, W. 1963. The mathematical theory of communication. Univ. of Illinois Press, Urbana, Illinois. 117 pp.

Thrush, S.F., Hewitt, J.E., Cummings, V.J., Green, M.O., Funnell, G.A., Wilkinson, M.R., 2000. The Generality of Field Experiments: Interactions between Local and Broad-Scale Processes. Ecology 81, 399. https://doi.org/10.2307/177436

Underwood, A.J., 1994. On Beyond BACI : Sampling Designs that Might Reliably Detect Environmental Disturbances Author (s): A.J. Underwood Published by : Ecological Society of America Stable URL : http://www.jstor.org/stable/1942110 . ON BEYOND BACI : SAMPLING DESIGNS THAT. Ecol. Appl. 4, 3–15. https://doi.org/10.2307/1942110

Underwood, A.J.J., 1992. Beyond BACI: the detection of environmental impacts on populations in the real, but variable, world. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 161, 145–178. https://doi.org/10.1016/0022-0981(92)90094-Q

Van De Merwe, J.P., Lee, S.Y., Connolly, R.M., Pitt, K.A., Steven, A.D.L., 2016. Assessing temporal and spatial trends in estuarine nutrient dynamics using a multispecies stable isotope approach. Ecol. Indic. 67, 338–345. <u>https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.02.058</u>.

# 3. ESTUDIO DE LA COMUNIDAD ZOOPLANCTÓNICA EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR

Uno de los objetivos generales del convenio en curso se centra en el estudio del zooplancton, grupo que cuenta con diversas especies que pueden aportar una información muy relevante sobre su estado, y que sirve como base alimenticia para muchas especies de peces, influyendo por tanto en uno de los principales servicios ecosistémicos que el estuario del Guadalquivir: la función como zona de cría de especies de interés pesquero del Golfo de Cádiz. En conjunto, la información que se obtenga debe facilitar la implementación de una estrategia global de gestión del estuario que permita e incluso potencie el uso sostenible de estos recursos, compatibilizándolo con la recuperación ambiental del Guadalquivir y con su conservación.

## **3.1. OBJETIVOS**

- Estudiar la dinámica espacio-temporal de las comunidades de zooplancton presentes en toda la sección del estuario del Guadalquivir para proponer medidas de gestión en las que se mejoren sus condiciones medioambientales.
- 2. Estudiar específicamente las características ambientales de la dársena y de la comunidad planctónica que se desarrolla en ella.

# **3.2. ACTUACIONES REALIZADAS**

Desde el último informe entregado en diciembre de 2021 se han realizado diferentes actividades para cumplir con los objetivos citados anteriormente. En este informe se mencionan las actividades llevadas a cabo desde marzo de 2021 hasta noviembre de 2022, y los resultados preliminares procesados hasta la fecha (diciembre de 2021) de la parte biológica del macrozooplancton y físico-química de la columna de agua.

# 3.2.1. SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD DE ZOOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR.

Respecto al seguimiento mensual de la comunidad zooplanctónica, en los años anteriores (2019-2020) se continuó con la monitorización a largo plazo (iniciada en octubre de 2015), muestreando en este caso los periodos de mayor actividad de reclutamiento (primavera - verano). Tras la experiencia acumulada durante estos años en la zona baja del estuario, se ha llegado a la conclusión de la necesidad de analizar la influencia que tienen las zonas localizadas aguas arriba para entender parte de los procesos observados cerca de su desembocadura. Es por ello que el año pasado se planteara llevar a cabo una nueva serie temporal que englobe a todo el estuario,

muestreando así la sección longitudinal del estuario por completo, desde su desembocadura hasta la presa de Alcalá del Río (110 km). Esta serie temporal se inició en el mes de marzo de 2021, y continúa a día de hoy. En este periodo se ha muestreado mensualmente con 21 campañas (marzo 2021 – noviembre 2022), las cuales fueron llevadas a cabo conjuntamente con el equipo de la Universidad de Cádiz. En el presente informe se presentan los resultados analizados hasta el momento (marzo – diciembre 2021) de la parte correspondiente al macrozooplancton y larvas y juveniles de peces. La información biológica del mesozooplancton será presentada paralelamente en el informe realizado por el equipo de la Universidad de Cádiz.

### 3.2.1.1. ÁREA DE ESTUDIO

El estuario del río Guadalquivir consta de 110 km de recorrido, comprendidos desde la presa de Alcalá del Río (provincia de Sevilla) aguas arriba hasta su desembocadura en el Golfo de Cádiz entre Sanlúcar de Barrameda (provincia de Cádiz) y el Parque Nacional de Doñana (provincia de Huelva).

A lo largo de su recorrido longitudinal encontramos un gradiente salino que oscila desde agua marina ( $\approx$ 36 PSU) en la zona más próxima a la desembocadura hasta agua dulce ( $\approx$ 0 PSU) en los tramos más altos cercanos a la presa. Además, se caracteriza por ser un sistema, en general, bien mezclado verticalmente (Vanney, 1970). Dentro de este rango, se muestrearon 15 estaciones con distintas salinidades, y distribuidas equidistantemente a lo largo de toda su sección (Estaciones 1-15, Figura 3.1). A su vez, se han tomado muestras en 3 estaciones dentro de la dársena de Sevilla (Estaciones 16-18, Figura 3.1)



Figura 3.1. Estaciones de muestreo de plancton durante las campañas de 2021. Estaciones en el estuario abierto: 1-15: estaciones dentro de la dársena: 16-18.

### **3.2.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS**

### 3.2.1.2.1. TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

La toma de muestras de zooplancton se llevó a cabo desde la embarcación "LBM III", la cual ha sido equipada para realizar diversos tipos de muestreos científicos. Las muestras eran recolectadas con una red de plancton troncocónica de 60 cm de diámetro y una luz de malla de 200 µm. Los muestreos eran de tipo activo, con el barco en movimiento a una velocidad de 2-3 nudos y siempre durante el periodo de marea llenante, en la zona central del cauce. Los lances consistían en un movimiento oblicuo desde el fondo hasta la superficie, usando para ello una grúa eléctrica, y muestreando así toda la columna de agua. En cada estación se realizó 1 lance de 5 minutos cada uno para evitar la obturación de la red y la consecuente pérdida de eficiencia de filtrado. El volumen de agua filtrado era medido con un flujómetro General Oceanics 2030R colocado en el aro.

Los muestreos se realizaron con una frecuencia aproximadamente mensual, llevándose a cabo en un solo día e iniciándose en la estación más externa para luego ir muestreando las demás estaciones río arriba hasta acabar cerca de la presa de Alcalá del Río. Al día siguiente, se procedía a la toma de muestras dentro de la dársena.

### 3.2.1.2.2. TRATAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Tras la captura de los organismos, estos eran fijados en formol al 4% para su posterior triado. Para el procesado de las muestras biológicas se utilizaron técnicas de análisis de imagen (uso de software ImageJ) combinadas con análisis tradicionales de microscopía. En primer lugar, se separaron las muestras de macrozooplancton de las de mesozooplancton mediante el uso de tamices con distinta luz de malla (1000 y 500 µm). Posteriormente, cuando la abundancia de los individuos no era excesiva, se procedía al conteo total de la muestra. En los casos donde la abundancia era mayor, se realizó un fraccionamiento previo mediante un divisor de plancton tipo Motoda hasta conseguir una abundancia de organismos propicia para analizar (~300-400 individuos por muestra siempre que sea posible).

Los macroinvertebrados fueron identificados hasta el nivel taxonómico más bajo posible, y en el caso de los peces se contabilizaron de forma global. Todos los organismos fueron fotografiados con una cámara Nikon D810 de 36 Mpx de resolución montada sobre un soporte equipado con un brazo ajustable y una luz inferior. Una vez obtenidas las fotografías, estas fueron procesadas con el software de análisis de imagen ImageJ previamente calibrado, para obtener los datos de abundancia de macrozooplancton presente en cada una de las muestras.

### 3.2.1.2.3. TOMA DE MUESTRAS FÍSICO-QUÍMICAS

En cada punto de muestreo se midieron diferentes variables físico-químicas de la columna de agua. Para ello se utilizó una sonda multiparamétrica Eureka Manta 2 que registra en continuo (un valor de cada variable por segundo) las siguientes variables: profundidad, salinidad, pH, turbidez, oxígeno disuelto (DO) y temperatura. En cada estación de muestreo se realizó un perfil vertical de toda la columna de agua, para así tener caracterizada toda la masa de agua en la que se capturaban las muestras.

Además, para otros análisis como es la medida de sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión y clorofila, se llevó a cabo la toma de muestras de agua con una botella Van Dorn a media agua.

#### 3.2.1.2.3.1. Sólidos totales, materia orgánica e inorgánica en suspensión

Las muestras de agua eran guardadas en botellas topacio y conservadas en hielo hasta la llegada al laboratorio donde se procedía con el filtrado de las mismas. Para ello se utilizaron filtros de fibra de vidrio con una capacidad de retención de partículas de hasta 0,7 µm. Una vez filtrado un volumen significativo de agua, los filtros eran guardados y conservados en el congelado a -20°C hasta su análisis. El agua filtrada es utilizada para la medición de los nutrientes inorgánicos (nitrito, nitrato, amonio, fosfato y silicato). Previamente, los filtros eran precombustionados (500°C, 4 h) y posteriormente pesados. Tras el filtrado, se secaban en una estufa a 60°C durante 24 horas para medir el peso seco de cada filtro y obtener la cantidad de sólidos totales (ST) en suspensión. Después se procedió a la combustión de los mismos para obtener la fracción de materia orgánica (MO) e inorgánica (MI).

#### 3.2.1.2.3.2. Clorofila

Las muestras de agua cogidas para analizar la concentración de clorofila eran también tomadas a media agua y conservadas en un bote topacio con hielo hasta llegar al laboratorio, donde se procedía a la filtración. Se utilizaron filtros de fibra de vidrio con una capacidad de retención de partículas de 0,7 µm, controlando la presión durante el proceso. Las muestras son analizadas mediante espectrofotometría de fluorescencia en el INMAR de la Universidad de Cádiz.

#### **3.2.1.2.4. TRATAMIENTO DE LOS DATOS**

Los datos obtenidos tras la determinación faunística se resumen en una matriz taxón-estación. Con estos datos se describen y analizan los cambios producidos en un gradiente espacio-temporal en las comunidades mediante el cálculo de la abundancia.

Por otro lado, para estudiar la estructura de la columna de agua en las distintas

zonas de muestreo y poder compararlas tanto espacial como temporalmente, la relación de cada variable, tomada con la sonda multiparamétrica, con la profundidad se analizará mediante modelos aditivos que permiten el estudio de relaciones no lineales. Para una visualización que permita la interpretación y la comparación, los datos obtenidos de la forma expuesta serán representados con el programa Ocean Data View (Schlitzer, 2016), que realiza una interpolación de esos datos en toda la zona de estudio.

## 3.2.1.3. RESULTADOS PRELIMINARES DEL SEGUIMIENTO ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMUNIDAD DE MACROZOOPLANCTON EN EL ESTUARIO DEL RÍO GUADALQUIVIR

### 3.2.1.3.1. RESULTADOS BIOLÓGICOS

Tras el procesado de las muestras biológicas de plancton durante los meses de marzo a diciembre de 2021, se identificaron preliminarmente diversas especies de macrozooplancton. Respecto a su distribución, su presencia en las primeras dos estaciones más próximas al exterior, junto con el interior de la dársena, fue mínima o nula. Por lo que se ha procedido a mostrar solo los resultados de las estaciones del estuario (estaciones 1-15).

Las especies de macrozooplancton más abundantes a lo largo de toda la sección del estuario del Guadalquivir fueron los misidáceos, siendo *Messopodopsis slabberi* el que presentó mayores densidades. Su rango de distribución alcanza desde los 8 hasta los 70 km, mostrando los picos de máxima abundancia (80,000 ind/100m<sup>3</sup>) entre los 40 y 50 km, principalmente en marzo y abril (Figura 3.2A). Otra especie de misidaceo también presente durante todo el año fue *Rhopalophthalmus tartessicus*, aunque en menor densidad y con un rango de distribución inferior (8 – 50 km), cuya máxima densidad (2,000 ind/100m<sup>3</sup>) se localiza más próxima a la desembocadura (25 km) durante los meses de mayo y julio (Figura 3.2B). En el caso del misidáceo *Neomysis intiger*, su presencia se limitó a los meses de otoño y en la parte alta del estuario (50-90 km) (Figura 3.2C).

También se capturaron diferentes especies de camarones. *Palaemon longirostris* mostró un rango de distribución muy amplio (15 – 90 km), aunque sus picos de abundancia (400 ind/100m<sup>3</sup>) predominaron en la zona alta (60 – 80 km) durante los meses de primavera (Figura 3.2D). La especie *Crangon crangon* se observó con menor densidad en la zona media-baja del estuario (15 – 40km), siendo su mayor densidad durante los meses de mayo a julio (Figura 3.2E). Además, se observaron algunos individuos de forma aislada de la especie *Palaemon macrodactylus*, en mayo y junio en la zona media-alta del estuario.

Otro grupo presente en las muestras recolectadas fueron los isópodos. Entre las distintas especies observadas, predomina *Synidotea laticauda*. Su rango de distribución oscila entre los 15 y 50 km, aunque su abundancia máxima (100 ind/100m<sup>3</sup>) se localiza en torno a los 25 km durante los meses de otoño (Figura 3.2F). Por otro lado, se observaron quetognatos en la parte media-baja del estuario durante algunos meses de primavera con densidades máximas de hasta 600 ind/100m<sup>3</sup> (Figura 3.2G).

En relación con las larvas y juveniles de peces observados, los gobios (*Pomatoschistus* spp.) y el boquerón (*Engraulis encrasicolus*) fueron las especies predominantes. En conjunto, marzo y septiembre fueron los meses con mayor densidad de individuos en la zona baja-media del estuario, característica por su alta capacidad como zona de cría (Figura 3.2H).



Figura 3.2 Densidad (ind./100m<sup>3</sup>) espacio-temporal de (A) *Mesopodosis slabberi* y (B) *Rhopalophthalmul tartessicus*.



Figura 3.2 Densidad (ind./100m<sup>3</sup>) espacio-temporal de (C) *Neomysis integer* y (D) *Palaemon longirostris*.



Figura 3.2 Densidad (ind./100m<sup>3</sup>) espacio-temporal de (E) *Crangon crangon* y (F) *Synidotea laticauda*.



Figura 3.2 Densidad (ind./100m<sup>3</sup>) espacio-temporal de (G) quetognatos y (H) larvas y juveniles de peces.

# 4. ESTUDIOS EXPERIMENTALES SOBRE LA INFLUENCIA DE LA TURBIDEZ EN LA FAUNA

Para el inicio de los experimentos sobre el efecto de la turbidez en la fauna ha sido necesario dar los siguientes pasos:

1) Solventar los problemas de funcionamiento del prototipo de instalación experimental. Esta fase ha implicado la realización de numerosas pruebas, así como la modificación de algunos elementos y del software que gestiona las instalaciones a través del autómata. Al mismo tiempo se han ampliado las instalaciones y mejorado las condiciones de seguridad de estas.

2) Obtener las acreditaciones necesarias para todo el personal implicado para poder experimentar con animales siguiendo las directrices del Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. En este sentido se han acreditado con las categorías necesarias para el cuidado de los animales (A), para la realización de eutanasias (B) y para la realización de los experimentos (C) 6 miembros del equipo y 3 miembros más para dirección de proyectos y procedimientos de experimentación animal (categoría D) y para la asunción de la responsabilidad de la supervisión "*in situ*" del bienestar de los animales (categoría E).

3) Acreditar e inscribir el laboratorio del Acuario de Sevilla como centro de cría, suministro y usuario de animales de experimentación en el Registro de Instalaciones Ganaderas de la Junta de Andalucía con el nombre "Instalaciones i+D+I del Laboratorio de Biología Marina de la Universidad de Sevilla" y código de explotación "ES410910008020", previa inspección por parte de los servicios veterinarios de la Delegación Territorial de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible de Sevilla. En este sentido, ha quedado designado como responsable del cumplimiento de las disposiciones del RD 53/2013 "César Megina Martínez", como responsable del bienestar de los animales "Francisco Javier Sánchez Díaz" y como veterinario designado la persona que ocupe este cargo en el animalario de la Universidad de Sevilla, en estos momentos "Itziar Benito Latasa de Araníbar".

4) Solicitar permisos de captura, transporte y posesión de especies de peces salvajes, que no proceden de acuicultura, para realizar las experimentaciones a la Delegación Territorial de Desarrollo Sostenible de la Junta de Andalucía en Sevilla.

5) Solicitar aprobación del proyecto de experimentación a la Dirección General de la Producción Agrícola y Ganadera de la Consejería de Agricultura, Ganadería,



Pesca y Desarrollo Sostenible de la Junta de Andalucía.

Figura 4.1. Sistema experimental para el estudio del efecto de la turbidez en la fauna.

Tras esto, en el año 2021, se ha comenzado con los experimentos sobre el efecto de la turbidez en las tasas de alimentación de distintas fases de vida de distintas especies de peces. Concretamente, se ha comenzado a experimentar con 3 especies presentes en el estuario del Guadalquivir:

1) Doradas (*Sparus aurata*), en estado larvario, juvenil y adulto, utilizando como presa, según su fase de vida, nauplios de *Artemia salina* como modelo de mesozooplancton, adultos de esta misma especie, como modelo de macrozooplancton y juveniles de *Gambusia holbrooki*.

2) *Gambusia holbrooki*, en estado de larvas y de adultos, utilizando nauplios y adultos de artemias respectivamente como presa.

3) *Pomatoschistus minutus*, en estado de larva y de adulto, igualmente utilizando nauplios y adultos de artemias respectivamente como presa.

Los ejemplares de dorada han sido obtenidos, según su fase de vida, en plantas comerciales de acuicultura (MARESA, Ayamonte, Huelva), en la planta de experimentación en acuicultura de la Universidad de Cádiz (Puerto Real, Cádiz) o en el Centro Oceanográfico de Murcia del Instituto Español de Oceanografía (Mazarrón, Murcia). Los ejemplares de *P. minutus* y *G. holbrooki* han sido capturados en el estuario.

Igualmente, para estos objetivos, ha sido necesario poner a punto la metodología de mantenimiento y cultivo de *Artemia salina* y *Gambusia holbrooki*. Para la captura de estadíos juveniles de *P. minutus* ha sido necesario recopilar el conocimiento adquirido durante estos años sobre el ciclo reproductor de esta especie, y su distribución en el estuario.

Los resultados son muy variables en función de la especie y de la fase del ciclo de vida. En varios casos, se observa que las tasas de alimentación mayores no se dan en aguas cristalinas, sino en turbideces en más elevadas y variable en función de la especie y del estado (Figura 4.2 a y b). Los resultados están siendo analizados.



Figura 4.2. Ejemplos de resultados preliminares de los experimentales sobre el efecto de la turbidez en las tasas de alimentación de varias especies de peces. A) Juveniles de *Sparus aurata* alimentándose sobre adultos de *Artemia salina* B) Adultos de *Sparus aurata* alimentándose sobre larvas de *Gambusia holbrooki*.
## **5.** Arrozales

El estuario del Guadalquivir presenta altas cargas de sedimento y recurrentemente sufre periodos de alta turbidez. Esta turbidez puede agravarse durante largos periodos en eventos de fuertes avenidas que, a su vez, afectan a las características fisicoquímicas y biológicas del estuario y las áreas marinas circundantes. Una de las principales transformaciones, ha sido la modificación de las marismas en tablas de arroz que actualmente cuenta con una de las mayores superficies de España. El funcionamiento de este cultivo implica un importante intercambio de agua con el estuario cuyos efectos sobre ambos sistemas son desconocidos. Esta dinámica podría estar reduciendo significativamente la carga de material en suspensión con los consiguientes efectos en cascada. Así mismo, la retirada masiva de una importante cantidad de biomasa planctónica del estuario podría estar teniendo efectos significativos para este ecosistema. En las tablas de arroz, el aporte de materia orgánica y nutrientes podría servir como fertilizante natural del propio cultivo de arroz y la introducción de organismos podría servir como nutrientes al suelo, o como alimento para las redes tróficas de macroinvertebrados en estos hábitats que potencialmente podrían ser explotadas por consumidores secundarios en sus fases adultas que, a su vez, podrían conectar la productividad de este sistema con el resto de ecosistemas de humedales en el Parque Nacional y Natural de Doñana.

El objetivo de esta actuación es describir y cuantificar la biomasa planctónica y las características fisicoquímicas del agua que entra en el arrozal desde el estuario y compararla con el agua que sale una vez ha pasado por todo su sistema de canalización y de cultivo. Además, se pretende describir las comunidades de macroinvertebrados presentes en las tablas de arroz que están influenciadas por agua del estuario del Guadalquivir y compararlas con otros cultivos aislados del estuario que se inundan con agua de pozo y así evaluar la influencia de los aportes estuarinos en la estructura de la comunidad y en la red tróficas de estos sistemas. La comparación entre las tablas de arroz de Isla mínima y la finca de Hato Blanco Viejo permitirá entender la influencia de esta importante inyección de recursos para los consumidores. Nuestra hipótesis es que esta serie de procesos constituyen servicios ecosistémicos, ya que las tablas de arroz actúan como balsas de decantación y que la extracción masiva de agua del estuario para la inundación de estas tablas, así como la circulación de agua a través de mismas, reducirá significativamente la carga de sólidos en suspensión. Esto mismo generará cambios significativos en otras variables asociadas. A su vez el aporte de nutrientes y biomasa planctónica a las tablas de arroz afectará a la estructura de la comunidad y a

las redes tróficas. Este proyecto sería el primer estudio en España en caracterizar las influencias en las características ambientales y biológicas entre uno de los cultivos más grandes en la provincia de Andalucía y el estuario del Guadalquivir. Además, esta actuación servirá, no solo como generación del conocimiento, sino como estudio del posible uso del arrozal como herramienta de gestión en posibles avenidas.

Durante la campaña de cultivo del arrozal de 2022, (mayo-septiembre) se ha procedido a comparar las tablas de arroz de Isla Mínima que se inundan y riegan directamente con agua del estuario, con las tablas de la finca de Hato Blanco Viejo, que se inundan y riegan con agua de pozo.



Figura 5.1. mapa de las zonas de muestreo: En azul la zona aislada del estuario del Guadalquivir: Hato Blanco y en rojo la zona conectada al estuario: Isla Mínima

En cada una de estas zonas se han realizado tres muestreos a lo largo de la campaña de cultivo de arroz para analizar la evolución de la comunidad biológica y de los parámetros fisicoquímicos del agua y del sedimento. El primer muestreo se realizó a los pocos días de la inundación de las tablas (junio 2022) (Figura 5.2), el segundo cuando la comunidad llevaba suficiente tiempo para desarrollarse (agosto 2022) (Figura 5.3) y el último al final del ciclo del cultivo del arroz previamente a la cosecha (septiembre 2022) (Figura 5.4). En cada fecha y en cada zona se muestrearon 3 tablas de arroz. En cada una de ellas se tomaron 3 réplicas de la comunidad biológicas por

medio de bomba de succión con un total de 80 litros/réplicas filtradas por un tamiz de 200  $\mu$ m (Figura 5.5). También se recogieron muestras de macroinvertebrados mediante manga entomológica pentagonal de 500  $\mu$ m de luz de malla. Además, se recogieron 3 réplicas para análisis de concentración de clorofila y nutrientes, y 3 réplicas de sedimento para análisis de granulometría y micro y macronutrientes. Paralelamente, en cada evento de muestreo, se cogieron 3 réplicas de la comunidad biológica y parámetros fisicoquímicos del agua en los canales de entrada y salida de cada zona siguiendo la misma metodología (Figura 5.5).

Durante la anualidad de 2023 se procederá al análisis de las comunidades de macroinvertebrados, parámetros fisicoquímicos del agua y del sedimento, para su posterior análisis y publicación en revistas científicas y aportes a congresos internacionales.



Figura 5.2. Muestreo en las tablas de arroz de las comunidades biológicas y parámetros fisicoquímicos del agua y el sedimento en la primera semana de cultivo

45



Figura 5.3. Muestreo en las tablas de arroz de las comunidades biológicas y parámetros fisicoquímicos del agua y el sedimento a mitad de cultivo.



Figura 5.4. Muestreo en las tablas de arroz de las comunidades biológicas y parámetros fisicoquímicos del agua y el sedimento a final del periodo de cultivo



Figura 5.5. Muestreo en de los canales de entrada y salida en los cultivos de arrozal

# 6. ANEXO. Relación y encabezado de las publicaciones realizadas hasta la fecha.

## - Comunicaciones a congresos internacionales:

En septiembre de 2022, se hicieron 3 aportaciones al congreso internacional "ECSA 59: Utilización de los mejores conocimientos científicos para la gestión sostenible de estuarios y mares costeros" en San Sebastián, España organizado por ELSEVIER, AZTI y ECSA. Se trata de un congreso internacional de mucha importancia sobre estuarios y aguas de transición. Aquí se presentaron dos ponencias orales y un póster que introducían nuevas investigaciones evaluando las actividades humanas en el estuario del Guadalquivir, como por ejemplo actividades de dragado y gestión del agua: "Effects of freshet events on the biotic and abiotic conditions in a well-mixed estuary"; "Effect of rice field flooding on the physical-chemical variables of the water column in the hyperturbid Guadalquivir estuary" y "Environmental effects of maintenance dredging works in a highly modified estuary: A short-term approach". Como consecuencia de este congreso, el grupo de investigación reforzó su relación con otros investigadores internacionales y se establecieron nuevas colaboraciones.



Figura 6.1. Aportación en formato poster al congreso ECSA 59.

## - Publicaciones científicas

 Miró, J.M., Megina, C., Garel, E., Donázar-Aramendía, I., Olaya-Ponzone, L., García-Gómez, J.C., 2022. Mechanisms for longitudinal transport on early life stages in benthic-pelagic fishes within a tide-dominated estuary. Estuaruarine, Coast and Shelf Science. 276, 108009. <u>https://doi.org/10.1016/j.ecss.2022.108009</u>

Estuarine, Coastal and Shelf Science 276 (2022) 108009



Mechanisms for longitudinal transport on early life stages in benthic-pelagic fishes within a tide-dominated estuary

J.M. Miró <sup>a,\*</sup>, C. Megina <sup>b</sup>, E. Garel <sup>c</sup>, I. Donázar-Aramendía <sup>a</sup>, L. Olaya-Ponzone <sup>a</sup>, J.C. García-Gómez <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R + D + 1 Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain <sup>b</sup> Biodiversidad y Ecología Acuática, Seville Aquarium R + D + 1 Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain <sup>c</sup> Center for Marine and Environmental Research (CIMA), University of Algarve, Faro, Portugal

	ADDIANC.
Keywords Recruitment Early life stages Estuary Selective tidal-stream transport Anchovy Goby	Mechanisms that control the longitudinal transport of larvae and juveniles in nursery grounds such as estuaries are reported for some species. However, the behaviour and population consequences of these mechanisms are still uncertain. In this study, we tested selective tidal-stream transport from the along-channel (up- and down stream) and cross-channel (from one margin to the other) perspectives for two kinds of fish: estuarine-residen gobies (Pomatoschints upp.) and marine estuarine-opportunistic anchovies (Engradulis entravisolus). Three cruises were conducted in the lower Ouadalquivir estuary, on the ebb and on the flood of spring tides in summer Plankton samples were collected across a channel section, at three stations (one in the middle of the channel and two in adjacent shallower areas), near the surface and near the bottom simultaneouly. In addition, multiple physico-chemical variables (temperature, turbidity, dissolved oxygen, pH, salinity, chlorophyll-a, along with wind and current direction and velocity) were measured to examine the different correlations used by the studies fish in their strategies. The benthic distribution of gobies indicated that they used flood currents mear the bottom of lateral (shallow) areas to ingress into and remain in the estuary, temperature and/or dissolved oxygen being their main possible cues. On the contrary, the anchovies were more abundant near the surface, especially on the ebb tide, showing downstream advection, which was mainly influenced by alinity. However, the largest indi vidual anchovies in the lateral/shallow sones suggested a behavioural ontogeny, which, together with wind induced transport, could contribute to their retention. This comparison also enhanced the knowledge of the habitat distribution of two species common and abundant in estuaries, anchovies and gobies.

## Miró, J.M., Megina, C., Donázar-Aramendía, I., García-Gómez, J.C., 2021. Effects of maintenance dredging on the macrofauna of the water column in a turbid estuary. Science of The Total Environment 151304. https://doi.org/10.1016/j.scitoteny.2021.151304



## Effects of maintenance dredging on the macrofauna of the water column in a turbid estuary



## J.M. Miró<sup>a,\*</sup>, C. Megina<sup>b</sup>, I. Donázar-Aramendía<sup>a</sup>, J.C. García-Gómez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain
<sup>b</sup> Biodiversidad y Ecología Acuática, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain

#### HIGHLIGHTS

#### GRAPHICAL ABSTRACT

ABSTRACT

Short- and media

- Organisms can suffer entrainment by the trailer suction, especially epibenthic ones.
- Dredger action homogenized most physiochemical variables in the water column.
- Metal concentration of Cr, Fe y Zn increased in the water column after dredging.
- Effects of this dredging were similar or less than other natural ones (e.g. freshets).

#### ARTICLE INFO

Article history: Received 5 July 2021 Received in revised form 7 October 2021 Accepted 24 October 2021 Available online 29 October 2021

Editor: Daniel Wunderlin

Keywords: Dredging Macrofauna Plankton Hyperbenthos Water column Metals Many human activities in or near aquatic habitats generate alterations in their environmental conditions, which could affect the organisms that inhabit them. Maintenance dredging of navigation channels in order to allow large ships access to inland ports is one such source of disturbance. In this study, by taking multiple approaches (immediate-, short- and medium term), we analysed the effects of a maintenance dredging operation on physiochemical variables and the early life stages of fish and other macrofauna groups present in two zones of the Guadalquivir estuary with different salinity ranges (poly- and mesohaline). Most physiochemical variables were homogenized in the water column immediately after the water mass passed by the dredger, including sediment resuspension. However, this process seemed to be transient as no significant increments in the depthaveraged levels of turbidity were observed in the short- and medium-terms. Instead, metal concentrations of Cr. Fe and Zn increased in the polyhaline station. Even so, these perturbations did not appear to be severe enough to influence the macrofauna. Still, organisms can suffer direct mechanical impacts of the trailer suction. Hyperbenthic species, like *Pomatoshcistus* spp. or decapods, tended to decrease slightly, while pelagic species such as *Engraulis encrasicolus* or mysids did not, indicating that benthic organisms me order or less than those of natural ones; therefore, organisms of the macrofauna could be well adapted to cope with them.

diane offers

homogenisation of

© 2021 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http:// creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/). 3. Miró, J.M., Megina, C., Donázar-Aramendía, I., Reyes-Martínez, M.J., Sánchez-Moyano, J.E., García-Gómez, J.C., 2020. Environmental factors affecting the nursery function for fish in the main estuaries of the Gulf of Cadiz (south-west Iberian Peninsula). Science of the Total Environment 737, 139614. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139614

	Contents lists available at ScienceDirect	Tetel Science
5-5-5-	Science of the Total Environment	
ELSEVIER	journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv	

Science of the Total Environment 737 (2020) 139614

Environmental factors affecting the nursery function for fish in the main estuaries of the Gulf of Cadiz (south-west Iberian Peninsula)



J.M. Miró<sup>a,\*</sup>, C. Megina<sup>b</sup>, I. Donázar-Aramendía<sup>a</sup>, M.J. Reyes-Martínez<sup>c</sup>, J.E. Sánchez-Moyano<sup>d</sup>, J.C. García-Gómez<sup>a</sup>

Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Sevilla, Spain

<sup>b</sup> Biodiversidad y Ecología Acuática, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain <sup>c</sup> Instituto Universitario de Investigación Marina (INMAR), University of Cádiz, Puerto Real, Cádiz, Spain

<sup>d</sup> Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain

### HIGHLIGHTS

GRAPHICAL ABSTRACT

- · Different freshwater inputs strongly change environmental properties of estuaries
- · Estuaries with salinity gradient have higher densities of early life stages of fish.
- · Low freshwater input limits the function of estuaries as nursery ground.
- Organic matter in Guadalquivir supports the highest densities of aquatic macrofauna
- Recurrent jellyfish blooms alter pelagic community and functioning 0 estuaries.

### ARTICLE INFO

Article history: Received 24 February 2020 Received in revised form 30 April 2020 Accepted 19 May 2020 Available online 27 May 2020

Editor: Daniel Wunderlin

Keywords: Estuary Freshwater input Salinity gradient Organic matter Nursery function Early life stages of fish

ABSTRACT Hydrological, geomorphological, physicochemical and biological factors influence the nursery function of estuaries. Our study compared the environmental conditions and the assemblages of early life stages of fish in the main four estuaries of the Gulf of Cadiz (Cadiz Bay, Guadalquivir, Odiel-Tinto and Guadiana). Samples were taken within each estuary and on their adjacent coast, during the dry-warm seasons of 2016, 2017 and 2018. Results showed that rivers with smaller basins had a very low freshwater input and their estuaries, Odiel-Tinto and Cadiz Bay, were essentially sea extensions into the land, containing similar physicochemical conditions to nearshore zones, as well as similar assemblages and densities of early life stages of fish. Open water masses of these estuaries do not have important nursery functions. In contrast, inner zones of estuaries with bigger basins and higher freshwater discharges, Guadalquivir and Guadiana, have different environmental characteristics and a long transition zone with a well-defined salinity gradient, Their assemblages and densities of early life stages of fish were different between them and with other estuaries. The Guadalquivir estuary held the highest abundance of larval and early juvenile fish, as well as macrozooplankton biomass. The most abundant fish species in all zones of every estuary was the anchovy Engraulis encrasicolus; the Guadalquivir inner zone had the highest density. High concentration of suspended organic matter, provided by freshwater input and correlated with total suspended solid, suspended inorganic matter and turbidity, was the physicochemical characteristic more typical of the Guadalquivir. This characteristic, in addition to the salinity gradient, could explain the highest densities of

macrozooplankton found in this estuary, and consequently, of early fish stages. Recurrent jellyfish blooms were

 Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2020. Environmental consequences of dredgedmaterial disposal in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain. Marine Pollution Bulletin 161, 111736. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111736

	Marine Pollution Bulletin 161 (2020) 111736	
	Contents lists available at ScienceDirect	MARINE POLUTION BULLETIN
	Marine Pollution Bulletin	
ELSEVIER	journal homepage: www.elsevier.com/locate/marpolbul	

Environmental consequences of dredged-material disposal in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain



I. Donázar-Aramendía<sup>a,\*</sup>, J.E. Sánchez-Moyano<sup>b</sup>, I. García-Asencio<sup>b</sup>, J.M. Miró<sup>a</sup>, C. Megina<sup>c</sup>, J.C. García-Gómez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R+D+I Biological Research Area., Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain <sup>b</sup> Droto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla. Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla. Spain

Sport Leonoga, Futuna de Dologia, Chirestana de Germa, Proc. Reina, Ner. Celas 6, 41012 Germa, Span.
Filodiversidad y Ecología Acudica, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012
Sevilla, Spain

## ARTICLE INFO

## ABSTRACT

Keywords: Disposal Toxicity Trace metals Biomagnification Bioaccumulation

Guadalquivir

In this study we assessed the effects of the recurrent disposal of dredged material from the Guadalquivir estuary (south-western Spain) in a marine disposal area. We analysed shifts in sediment characteristics as well as bioaccumulation and biomagnification of heavy metals through the benthic food web. Results showed that the significant increase in concentration of some heavy metals observed in the marine disposal area after the latest disposal event could be attributed to the deposition of river-dredged sediments. This increase could also explain the decreased amphipod survival in the ecotoxicology analysis. Heavy metal concentrations in organisms indicated some bioaccumulation in deposit feeders and predators but with no clear patterns nor biomagnification through the food web. Hence, combining studies that monitor shifts in sediment characteristics and their possible consequences for the food web seems to be an interesting approach that should be assessed further in this type of studies.

5. Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2019. Human pressures on two estuaries of the Iberian Peninsula are reflected in food web structure. Scientific Reports 9, 11495. <u>https://doi.org/10.1038/s41598-019-47793-2</u>



6. Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018. Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats. Marine Environmental Research 140, 455–467. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012



Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats



I. Donázar-Aramendía\*, J.E. Sánchez-Moyano, I. García-Asencio, J.M. Miró, C. Megina, J.C. García-Gómez

Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area., Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012, Sevilla, Spain

### ARTICLEINFO

Keywords: Macrobenthic community Stable isotopes Salinity Food web Gulf of cadiz

### ABSTRACT

Understanding the effects of dredging in estuaries is a hard task due to the difficulty of implementing an adequate environmental diagnosis, as a consequence of the salinity gradient and anthropogenic disturbances. To assess the effects of maintenance dredging work on the Guadalquivir estuary (southwestern Spain), we used a Before-After-Control-Impact (BACI) approach to determine both direct and indirect effects in two salinity ranges. No effects were found on water and sediment physicochemical characteristics. The small impacts on dredged areas were followed by a rapid recovery of opportunistic species. The poor status of the benthos does not permit the detection of significant effects on macrofaunal community structure. The use of stable isotopes analysis to determine impacts on food web structure showed that changes over time seem to be explained by natural temporal variation rather than the dredging works. This paper emphasises the need to define proper management and conservation plans to improve the status of the benthic communities of the Guadalquivir estuary.  Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018. Impact of dredged-material disposal on softbottom communities in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain. Marine Environmental Research 139, 64–78. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.05.010



Impact of dredged-material disposal on soft-bottom communities in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain



I. Donázar-Aramendía\*, J.E. Sánchez-Moyano, I. García-Asencio, J.M. Miró, C. Megina, J.C. García-Gómez

Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R+D+I Biological Research Area, Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012, Sevilla, Spain

#### ARTICLEINFO

Keywords: Disposal Macrobenthic community Stable isotopes Food web Gulf of Cadiz

## ABSTRACT

This study assesses the effects of dredged material disposal in a recurrent marine dump near the Guadalquivir Estuary (south-western Spain). We compared the changes observed with two reference areas combining a classical ecological approach with new stable isotope techniques to analyse trophic structure. We detected permanent changes in the macrofaunal community structure as well as in the diversity and biotic indices applied, which showed higher values in the disposal area. The community in the marine dump had lost the natural temporal variations observed in the reference areas. These effects could be due to the last disposal event carried out in the summer of 2015 or to the recurrent disposals since 2010. Despite the structure langes shown by the benthic community, these impacts were not reflected in the food web structure of the marine dump. Our results confirm the high variability of disposal disturbances. Hence, we recommend performing studies in every disposal event, merging different functional and structural approaches.

 Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Donázar-Aramendía, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2017. BENFES, a new biotic index for assessing ecological status of soft-bottom communities. Towards a lower taxonomic complexity, greater reliability and less effort. Marine Environmental Research 132, 41–50. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.10.014



BENFES, a new biotic index for assessing ecological status of soft-bottom communities. Towards a lower taxonomic complexity, greater reliability and less effort



J.E. Sánchez-Moyano<sup>\*</sup>, I. García-Asencio, I. Donázar-Aramendía, J.M. Miró, C. Megina, J.C. García-Gómez

Laboratorio Biología Marina, Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain

## ARTICLEINFO

Water Framework Directive

Southern Spain

Keywords: Biotic indices Soft-bottom communities Estuaries

## ABSTRACT

The new biotic index BENFES (Benthic Families Ecological Status Index) for assessing the ecological status of soft-bottom communities based on presence/absence at the taxonomic family level, is described. BENFES was primarily developed for the communities from the Guadalquivir estuary (South-western Spain), but the aim of the present work was to evaluate the reliability and validity of this index for its application in the Water Framework Directive (WFD), especially as a preliminary and rapid assessment method for monitoring the ecological status of transitional and coastal waters. BENFES was compared with five widely used indices (BOPA, BO2A, BENTDX; AMBI and M-AMBI) in several studies from Southwestern Spain. In addition, we have also established comparisons between these indices and the most commonly used Shannon–Wiener diversity. M-AMBI and BENFES showed the best agreement in ecological status assignation and were the most useful and discriminant between the studied areas. BENTIX was a good discriminant in coastal areas but was severe with the environmental condition from estuaries; BOPA/BO2A did not show clear trends in most of the zones; and AMBI tended to provide overestimations of the ecological status. In conclusion, BENFES shows several advantages such as lower taxonomic resolution, greater reliability and only requiring presence/absence. All this implies a huge possibility to perform a simplified monitoring routine for the control of the ecological quality of water bodies.





## Comunidades de coralígeno en el entorno de la desembocadura del río Guadalquivir

No existe un estudio específico para cartografiar las comunidades de coralígeno en el entorno del Guadalquivir. Estudios bionómicos generales realizados por la asociación Oceana (https://oceana.org) durante los años 2007, 2009 y 2010 identificaron comunidades de coralígeno en zonas de afloramientos rocosos en la franja de costa entre las localidades de Chipiona y Rota (Oceana, 2014). En la propia desembocadura no se han registrado comunidades de este tipo.



Figura 1. Mapa de la zona con potencial presencia de comunidades de coralígeno.

Estas comunidades se desarrollan en fondos rocosos a partir de cierta profundidad. El tramo litoral este, a partir de Chipiona, presenta características típicamente marinas (la salinidad no desciende por debajo del 33 por mil), y con una importante influencia de los abundantes aportes de material en suspensión desde el estuario del Guadalquivir. Por ello, presenta habitualmente una elevada turbidez y una escasa penetración de la luz, por lo que el coralígeno podría desarrollarse en rocas relativamente someras, típicamente desde los 15 m de profundidad. Por ello, se ha marcado en la Figura 1 la isobata de los 15 m y los afloramientos rocosos, como zonas que potencialmente podrían contener comunidades de coralígeno. Esta información se basa en la Ecocartografía de Cádiz desarrollada por la Dirección General de Sostenibilidad de la Costa y el Mar (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico), la UTE ECOATLÁNTICO (<u>https://www.miteco.gob.es/es/costas/temas/proteccioncosta/ecocartografias/ecocartografia-cadiz.aspx</u>). Existe información más detallada sobre los afloramientos rocosos de la zona en Morales y Lozano (2013) y en Jodar y Morales (2019), pero no cambian sustancialmente las estimaciones aquí aportadas.

Los informes de Oceana (Oceana, 2014) no localizan específicamente la presencia de comunidades de coralígeno dentro de toda esta franja, pero sí se localiza la presencia de especies representativas.

Adicionalmente, varios miembros del Laboratorio de Biología Marina de la Universidad de Sevilla han realizado inmersiones en esta zona, en el marco de diversos proyectos o para la preparación de estos. Parte de estas observaciones han sido publicadas en una revista de carácter divulgativo, con el objetivo de mostrar la potencial riqueza de esta zona (Pellón et al. 2016). De entre las especies detectadas, se identificó el coral naranja (*Astroides calycularis*) (ver Catálogo Español de Especies en Régimen de Protección Especial), la esponja tubular amarilla (*Aplysina aerophoba;* ver Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial, LESRPE), algunas colonias de la gorgonia de mayor tamaño del Mar Mediterráneo y Atlántico oriental que llega a alcanzar 2 m de altura (*Ellisella paraplexauroides*), y otros cnidarios como el coral candelabro (*Dendrophyllia ramea*) y el coral amarillo (*Parazoanthus axinellae*).

En general, estas observaciones concuerdan con la información contenida en el informe de Oceana (2014) para el área marcada como A en la Figura 1, tanto por la localización de especies que potencialmente pueden formar parte de las comunidades de coralígeno, como por la información gráfica que presentan.

En el área marcada como B (la más próxima a la desembocadura) en la Figura 1, existen fondos rocosos que pueden alcanzar profundidades ligeramente superiores a los 15 m. Adicionalmente, el informe de Oceana (2014), menciona en esa área las especies *Phyllangia mouchezii* y *Eunicella gazella*, que potencialmente podrían formar parte de las comunidades de coralígeno. Sin embrago, en las inmersiones realizadas por los miembros de nuestro grupo de investigación no se han localizado este tipo de comunidades en esta área. No obstante, dado que no se trataba de un estudio específico, sería conveniente realizar una exploración más exhaustiva para confirmar esta información.

## Referencias

Jodar JM, Morales JA (2019) Fisiografía de un complejo de bajos rocosos recientemente descubierto frente a la costa de Rota (SO España). *X Jornadas de Geomorfología Litoral*. Castelldefels, 4 a 6 de septiembre de 2019. Paginas 217-220.

Morales JA, Lozano C (2013) Los fondos de la franja sublitoral de Chipiona (Cádiz, SO España). *VII Jornadas de Geomorfología Litoral, Geo-Temas,* 14: 1-6.

Oceana (2011) Golfo de Cádiz: Costa de Doñana. Propuesta de protección. <u>https://europe.oceana.org/es/reports/golfo-de-cadiz-costa-de-donana-propuesta-de-proteccion/</u>

Pellón J, González, R, García-Gómez JC (2016) ¿Coralígeno en la desembocadura del río
Guadalquivir?: Biodiversidad oculta bajo aguas de elevada turbidez. *Chronica naturae*,
6: 39-49.
http://www.hombreyterritorio.org/chronica\_naturae/num6/archivos/chronicanaturae
6 39 2016.pdf





## Resultados obtenidos en el muestreo de la desembocadura del Brazo de la Torre

En el marco del proyecto "Investigaciones biológicas y ambientales en el estuario del Río Guadalquivir (periodo 2021-2023) auspiciadas por la Autoridad Portuaria de Sevilla en el ámbito de la filosofía emergente "Working With Nature", que continua con el monitoreo de las comunidades macrobentónicas del estuario del Guadalquivir el Laboratorio de Biología Marina de la Universidad de Sevilla muestreó la desembocadura del Brazo de la Torre al Guadalquivir en octubre de 2022. Se tomaron cinco replicas con una draga van Veen de 0.05 m<sup>2</sup>. Además, se tomó una draga adicional para el análisis de granulometría y materia orgánica y potencial redox del sedimento. La fauna extraída se cribó con un tamiz de 0.5 mm y la fauna retenida se conservó en alcohol al 70% teñido con Rosa de Bengala. En el laboratorio se procedió a su identificación y cuantificación. Además, se caracterizaron los parámetros fisicoquímicos de la columna de agua con una sonda multiparamétrica con sensores de salinidad, turbidez, oxígeno, temperatura y pH.

- A continuación, se describen los resultados obtenidos:

## - Variables fisicoquímicas del agua.



Figura 1. Perfiles verticales para las variables fisicoquímicas del agua.

## - Resultados biológicos.

Filo	Orden	Familia	Especie	Densidad (ind/m <sup>2</sup> )
Arthropoda	Amphipoda	Bathyporeiidae	Bathyporeia pilosa	8
Arthropoda	Isopoda	Anthuridae	Cyathura carinata	4
Annelida	Spionida	Spionidae	Polydora hoplura	16
Annelida	Spionida	Spionidae	Streblospio shrubsolii	20
Nemertea			Nemertino sin identificar	20
Arthropoda	Mysida	Mysidae	Mesopodopsis slabberi	4
Mollusca	Cardiida	Semelidae	Scrobicularia plana	4

Tabla 1. Densidad de especies (ind/m<sup>2</sup>):

Riqueza de especies: 7

Abundancia total (ind/m<sup>2</sup>): 76

Índice de Shannon: 1.73

Índice de Pielou: 0.89

## - Resultados del sedimento:

Contenido en materia orgánica: 0.037 g

Porcentaje de finos del sedimento: 0.32 %

Potencial Redox: +182 mV

## - Conclusiones

Los resultados mostraron que la columna de agua en el momento del muestreo estaba bastante bien homogenizada en todos los parámetros medidos (Fig.1). Se detectó una ligera disminución en superficie de pH y turbidez. Los resultados mostraron valores de temperatura ligeramente por encima de los 21.5 °C y por encima del 90 % de saturación de oxígeno, siendo normales para esta zona y época del año. Los valores de salinidad, por encima de 20 psu, son algo altos para esta zona, lo que se justifica por las escasas descargas de agua dulce desde la presa de Alcalá del Río, debido a la sequía. Los resultados de las variables del sedimento mostraron una granulometría compuesta principalmente por arenas muy finas y poco contenido de finos (<0.063 cm). Este resultado concuerda con los datos obtenidos de potencial redox con un valor de +182 mV. Igualmente muestran una influencia de los aportes sedimentarios marinos desde la desembocadura del Guadalquivir.

Al ser la granulometría el principal factor que condiciona a las comunidades de macroinvertebrados bentónicos, los resultados mostraron una comunidad típica de esta zona para fondos arenosos que suele ser más diversa que los fondos con alto porcentaje de finos (Tabla 1). El número de especies identificadas es similar al encontrado en este tramo en los estudios de seguimiento de las comunidades macrobentónicas (Figura 22, estudio bionómico), sin diferencias debidas a que este punto es el más profundo del estuario del Guadalquivir. La identidad de estas especies fue también esencialmente la misma que en este tramo en los estudios de seguimiento (ver estudio bionómico). El índice de Shannon mostró valores ligeramente superiores a los medidos anteriormente en esa zona (ver estudio bionómico) debido a un reparto más equitativo de las abundancias, aunque las especies y la riqueza sean muy similares. Esta diferencia, no obstante, es poco importante.





## Predicción de los posibles cambios en las comunidades biológicas del estuario del río Guadalquivir en el supuesto de no desarrollarse dragados de mantenimiento

Se han llevado a cabo diversos estudios para tratar de evaluar el impacto de los dragados de mantenimiento en las comunidades biológicas. Los impactos detectados son, en general, leves y de corta duración. Incluso en la comunidad bentónica (aquellas asociadas al fondo), habitualmente la más afectada dada su escasa capacidad de desplazamiento y la imposibilidad de evitar las perturbaciones, los impactos son difícilmente detectables (Donázar-Aramendía et al., 2018). El principal motivo es que la comunidad bentónica del estuario del Guadalquivir es notablemente pobre, lo que no permite detectar posibles impactos. Adicionalmente, los estuarios son escenarios naturalmente muy cambiantes en variables como la salinidad, la turbidez, la velocidad de la corriente, la temperatura, incluso en cortos intervalos de tiempo como en un ciclo de mareas. Por ello, las comunidades biológicas que albergan los estuarios están bien adaptadas a los cambios (Elliott & Quintino, 2007). Esto le permite recuperarse con rapidez, sobre todo porque el estado inicial es bastante simplificado. Esto es un fenómeno común, que se conoce como la "paradoja de la calidad ambiental en los estuarios" (Elliott & Quintino, 2007). Las comunidades planctónicas del estuario del Guadalquivir son, por el contrario, altamente productivas, aunque con una diversidad limitada (como es típico en los estuarios dadas las explicadas condiciones cambiantes). El posible efecto de las operaciones de dragado ha sido igualmente estudiado para el plancton, con un resultado similar; esto es en todo caso esperable, ya que no se ven tan directamente afectadas por los dragados y presentan mayor capacidad de desplazamiento (Miró et al., 2022).

Por lo tanto, si las operaciones de dragado de mantenimiento presentan un escaso impacto directo sobre las comunidades biológicas, difícilmente identificable incluso con estudios específicamente diseñados para eso, la eliminación de estos dragados tampoco es previsible que tenga un efecto directo claramente medible sobre la comunidad biológica del estuario.

Por otro lado, se prevé que el cese de los dragados de mantenimiento conlleve una serie de cambios morfológicos e hidrodinámicos, aunque de relativa poca magnitud en relación con la explicada capacidad de la comunidad biológica de adaptarse a los cambios ambientales. Globalmente, tampoco se esperan cambios importantes en las comunidades biológicas en respuestas a estas variaciones. Los principales cambios en este sentido que se prevén se detallan a continuación (NOTA: Cuando hay disponible

información cuantitativa original para apoya los argumentos expuestos, pero aún no ha sido formalmente publicada, se indica con la fórmula "datos propios"):

1) Acumulación de sedimento y subida del fondo. Este es el cambio más evidente, que afecta a la parte media y alta del estuario, desde el Brazo de la Torre-El Puntal hasta la esclusa (Fig. 1), con una previsión de una disminución de unos 80 cm en 10 años y de unos 120 cm en 20 años, según el modelo del Instituto Hidrológico de Cantabria (IHC). Esta variación no afectaría, sin embargo, a la parte baja del estuario, la zona con mayor diversidad y actividad biológica, y donde se concentra principalmente la función de cría de especies marinas. En todo caso, la comunidad bentónica no se vería afectada por el cambio de nivel del fondo, sino por la disminución de la profundidad de la columna de agua. Según la predicción del Grupo de Oceanografía Física de la Universidad de Málaga (GOFIMA), esta pérdida de profundidad se vería ligeramente compensada con un aumento del nivel medio del río progresivamente mayor desde algo más arriba del Brazo de La Torre y hacia la esclusa (Fig. 1), pero que sería de tan solo unos 7 mm a la altura de la esclusa en 10 años y 12 mm en 20 años (algo poco significativo desde un punto de vista biológico).

En un estuario bien mezclado como es el caso del Guadalquivir (datos propios; Díez-Minguito et al., 2013), la profundidad de la capa eufótica<sup>1</sup> (Z<sub>eu</sub>) en relación con la

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> La capa eufótica es la parte superior de la columna de agua, donde el fitoplancton puede hacer la fotosíntesis porque la radiación fotosintéticamente activa (PAR: aquella que puede utilizarse para hacer la fotosíntesis) llega con suficiente intensidad. Esta luz va siendo absorbida y dispersada a medida que penetra en el agua hasta una profundidad en la que empieza a ser demasiado débil.

profundidad del fondo, es proporcional al tiempo promedio que cada célula del fitoplancton pasa en esta capa, y por tanto al tiempo que tiene disponible para hacer la fotosíntesis<sup>2</sup>. Si las condiciones de turbidez no cambian, Z<sub>eu</sub> permanecería igual, mientras que, si la profundidad del fondo disminuye, el resultado es un mayor tiempo medio del fitoplancton en la capa suficientemente iluminada para hacer la fotosíntesis. Por lo tanto, la disminución de la profundidad tendería a facilitar la producción primaria en la columna de agua por parte del fitoplancton.



Figura 1. Imagen del estuario con la posición de algunos puntos referidos en el texto.

Sin embargo, el estuario del Guadalquivir tiene un problema crónico de excesiva turbidez (datos propios; González-Ortegón et al., 2010; Ruiz et al., 2017). Esto es particularmente crítico en la parte alta del estuario (datos propios; Díez-Minguito et al., 2014), donde se produciría esta disminución de la profundidad. Dada la escasa penetración de la luz que habitualmente ocurre en esta parte del estuario (datos propios; Ruiz et al., 2017), la disminución de la profundidad prevista para este tramo no permitiría, en todo caso, una producción primaria neta en la columna de agua, que seguiría siendo un sumidero para el fitoplancton. En realidad, se ha establecido que la producción primaria del estuario, sobre todo dentro del mismo, se soporta en una parte importante por la producción del microfitobentos (microalgas creciendo en las

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Cualquier célula del fitoplancton estaría suspendida en el agua y, siendo un estuario bien mezclado, se movería uniformemente desde aproximadamente el fondo hasta la superficie. Si la capa fótica tiene un espesor de, por ejemplo, 2 m, en una columna de agua de 6 m, el tiempo que pasaría esa célula en la capa fótica por término medio sería de 2/6; es decir, 20 minutos cada hora. Esto, en todo caso, es una aproximación teórica simplificada y la realidad es más compleja, con diversos factores que modifican este proceso; por ejemplo, las células del fitoplancton son frecuentemente agregada en flóculos junto con distintos elementos (sedimento, bacterias, etc.), cuya dinámica depende de la marea, de sus características intrínsecas y de la relación con otros flóculos (esto influye en la velocidad de sedimentación), de manera que su permanencia media en la capa fótica no tiene por qué ser exactamente proporcional a la ratio explicada. No obstante, la disminución de la profundidad por ascenso del fondo sí tendería a generar el efecto que se explica.

orillas) (Díez-Minguito & de Swart, 2020; Miró et al., 2020). Estas algas, creciendo en la zona intermareal, quedan expuestas al sol durante la marea baja, y pueden hacer la fotosíntesis a pesar de la turbidez del agua. La corriente mareal y, en general, cualquier turbulencia en las orillas, resuspende estas células junto con sedimento, y se incorporan a la columna de agua. Cuando, como en este caso, la profundidad de la capa eufótica no es suficiente (la teoría dice que se requiere, al menos, un 20% de la columna de agua; Cloern, 1987) estas células no podrán sobrevivir todo su ciclo de vida en la columna de agua (por eso decimos que es un sumidero para el fitoplancton).

Sin embargo, el exceso de turbidez, en el caso de un estuario como el Guadalquivir, puede ser en cierto sentido una protección: la entrada de nutrientes desde distintas fuentes (principalmente de las poblaciones y la agricultura) es también excesiva (datos propios; Mendiguchía et al., 2007; Ruiz et al., 2017), lo que provoca altos niveles de eutrofización, a través de una proliferación excesiva de fitoplancton que el sistema (i.e., el zooplancton) no puede procesar. Este exceso de fitoplancton, después de su ciclo de vida, se acumularía en el fondo, siendo degradado por bacterias y generando un excesivo consuno de oxígeno, así como procesos de hipoxia. Esto, adicionalmente, también podría llevar asociado el desarrollo de explosiones demográficas de algas tóxicas. Este tipo de procesos se ha descrito en el Guadalquivir (datos propios; Ruiz et al., 2017), pero el exceso de turbidez, en este caso, impide que sean más extensos espacial y temporalmente. Así, los nutrientes atraviesan el estuario siendo poco utilizados por los componentes autótrofos (que pueden realizar fotosíntesis) (Cloern et al., 2014; Ruiz et al., 2017) dada la escasez de luz en la columna, y llegan a la parta más baja y el exterior del estuario donde son utilizados por el fitoplancton y otros organismos autótrofos estimulando la producción primaria en la zona más marina.

Si la disminución de la profundidad ocurriera en la parte baja del estuario, la zona más marina, donde la turbidez es menor, sí podría implicar un aumento más significativo de la producción primaria. Este ocurriría, además, con especies de carácter más marino y con una mayor calidad nutricional (Cañavate et al., 2021) para alimentar las redes tróficas estuarinas y costeras. Sin embargo, las predicciones no apuntan que esta disminución vaya a ocurrir.

En resumen, la disminución de la profundidad en la parte media y alta del estuario y con ello el aumento de la disponibilidad de luz PAR, es poco probable que implique un aumento de la producción primaria en la columna de agua, dado el exceso de turbidez del estuario del Guadalquivir. Pero, en todo caso, si la mayor disponibilidad de luz en esta zona alta del estuario no va acompañada de un mayor control de la descarga de nutrientes, podría amplificar los procesos de hipoxia (esto, en todo caso, creemos que es poco probable).

En este punto, es también importante destacar que el estuario del Guadalquivir se ha mostrado como el más productivo del Golfo de Cádiz (Miró et al., 2020), con unas redes tróficas más complejas (Donázar-Aramendía et al., 2019). En ocasiones se puede confundir la producción primaria del sistema con su producción total (Ruiz et al., 2017); sin embargo, los estuarios en general (Cloern et al., 2014) y el del Guadalquivir en particular (Donázar-Aramendía et al., 2019; Miró et al., 2020), son ecosistemas con un importante carácter heterotrófico y una parte importante de los recursos tróficos que sustentan la producción del zooplancton o de larvas y juveniles de peces son importados desde la cuenca y de las zonas aledañas al estuario (depende solo parcialmente de la producción primaria generada *in situ*).

2) Cambios en la amplitud de la marea: La acumulación de sedimento y subida del fondo explicados anteriormente provocarían, a su vez, cambios en la amplitud de la marea, según las predicciones del GOFIMA. En la parte baja del estuario, hasta aproximadamente Tarfia, aumentaría esta amplitud, alcanzando el máximo en la unión del Brazo de La Torre, de un 4% en 10 años y un 6.5% en 20 años. Dado que, como se ha comentado, una parte importante de la producción primaria del estuario está basada en el microfitobentos que se desarrolla en las zonas intermareales de las orillas, un aumento de la amplitud de la marea incrementaría el espacio disponible para estas microalgas. El rango de marea que frecuentemente se cita para el Guadalquivir es de 3.5 m (Díez-Minguito et al., 2012); sin embargo, esta amplitud de marea ocurre muy ocasionalmente. Para hacer una estima más representativa, utilizando datos del mareógrafo de Bonanza (https://portus.puertos.es) de un año completo, por ejemplo, el 2019, el rango medio de la marea fue cercano a los 1,9 m, variando entre un rango medio en mareas muertas de 1,2 m y de 2,5 m como rango

medio en mareas vivas (definidas como aquellas por debajo del Q25 y por encima del Q75<sup>3</sup>, respectivamente; Jalón-Rojas et al., 2017). Esto se traduce en una ampliación media de 7,6 cm en 10 años y de algo más de 12 cm en 20 años en la zona de El Puntal-Brazo de La Torre (unos 16 cm de promedio en mareas vivas), y disminuyendo hacia Bonanza y hacia Tarfia (Fig. 1). En la mayor parte de la zona afectada, este cambio no implicaría un aumento de la superficie intermareal media suficiente como para afectar de forma significativa a la producción del microfitobentos; pero en algunos puntos con orillas más planas es posible que se incremente de forma más significativa esta superficie intermareal. Hasta la fecha no se tienen medidas de la producción del microfitobentos por unidad de superficie, pero no se puede descartar un cierto aumento de esta producción. En todo caso, es poco probable que este aumento sea muy significativo en relación con los valores globales de producción primaria.

Por el contrario, en la parte alta del estuario, desde la recta de Tarfia (Fig. 1), el rango de marea se prevé que se reduzca. Esta zona alta presenta numerosas cortas y hay pocas orillas con poca pendiente (solo en algunos puntos como la unión con el Guadaira o La Isleta, Fig. 1), por lo que la posible pérdida de orilla tampoco es previsible que tenga un efecto importante en la reducción de la producción del microfitobentos.

En conjunto, los cambios previstos en la amplitud de la marea tenderían a reducir la franja intermareal, y con ello el espacio disponible para el microfitobentos, en la zona media y alta del estuario, al mismo tiempo que a aumentarla en la zona baja. Esto tendería a aumentar la producción del microfitobentos en la zona baja y a reducirla en la zona media y alta; pero los cambios se espera que sean poco significativos.

3) Desplazamiento del gradiente salino: Por último, se prevé que el gradiente salino (la transición entre el agua marina y el agua dulce del río) se desplace hacia la desembocadura. La principal variable que gobierna la distribución de los organismos dentro del estuario es la salinidad y, de hecho, la zona de cría del estuario se delimita por la isohalina de 5 psu (Fernández-Delgado et al., 2007) (la zona con 5 gr de sal por litro). El desplazamiento hacia la desembocadura de este punto disminuiría el espacio

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Es decir, aquellas amplitudes de marea entre el 25% de los valores más altos (mareas vivas) y el 25% de los valores más bajos (mareas muertas).

disponible para la función de cría del estuario. No obstante, como en el resto de las variables evaluadas, el cambio previsto es de 1.5 km en 10 años y de 2 km en 20 años lo que, globalmente, es un pequeño cambio teniendo en cuenta el espacio total disponible (la posición de esta isohalina cambia estacionalmente, pero frecuentemente se encuentra en torno a Tarfia, unos kilómetros más arriba en verano y más abajo en invierno).

## Bibliografía

- Cañavate, J. P., van Bergeijk, S., González-Ortegón, E., & Vílas, C. (2021). Contrasting fatty acids with other indicators to assess nutritional status of suspended particulate organic matter in a turbid estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science, 254*(May 2020). https://doi.org/10.1016/j.ecss.2021.107329
- Cloern, J. E. (1987). Turbidity as a control on phytoplankton biomass and productivity in estuaries. *Continental Shelf Research*, 7(11–12), 1367–1381. https://doi.org/10.1016/0278-4343(87)90042-2
- Cloern, J. E., Foster, S. Q., & Kleckner, A. E. (2014). Phytoplankton primary production in the world's estuarine-coastal ecosystems. *Biogeosciences*, 11(9), 2477–2501. https://doi.org/10.5194/bg-11-2477-2014
- Díez-Minguito, M., Baquerizo, A., Ortega-Sánchez, M., Navarro, G., & Losada, M. A. (2012). Tide transformation in the Guadalquivir estuary (SW Spain) and processbased zonation. *Journal of Geophysical Research*, *117*(C3), C03019. https://doi.org/10.1029/2011JC007344
- Díez-Minguito, M., Baquerizo, A., Swart, H. E., & Losada, M. A. (2014). Structure of the turbidity field in the Guadalquivir estuary: Analysis of observations and a box model approach. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, *119*, 7190–7204. https://doi.org/10.1002/ 2014JC010210

- 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: Oceans*, 118(5), 2267–2278. https://doi.org/10.1002/jgrc.20172
- Díez-Minguito, M., & de Swart, H. E. (2020). Relationships Between Chlorophyll-a and Suspended Sediment Concentration in a High-Nutrient Load Estuary: An Observational and Idealized Modeling Approach. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 125(3), no. https://doi.org/10.1029/2019JC015188
- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J. E., García-Asencio, I., Miró, J. M., Megina,
   C., & García-Gómez, J. C. (2018). Maintenance dredging impacts on a highly
   stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and
   polyhaline habitats. *Marine Environmental Research*, *140*(February), 455–467.
   https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012
- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J. E., García-Asencio, I., Miró, J. M., Megina,
  C., & García-Gómez, J. C. (2019). Human pressures on two estuaries of the Iberian
  Peninsula are reflected in food web structure. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10.
  https://doi.org/10.1038/s41598-019-47793-2
- Elliott, M., & Quintino, V. (2007). The Estuarine Quality Paradox, Environmental Homeostasis and the difficulty of detecting anthropogenic stress in naturally stressed areas. *Marine Pollution Bulletin*, 54(6), 640–645. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.02.003
- Fernández-Delgado, C., Baldó, F., Vilas, C., García-González, D., Cuesta, J. A., González-Ortegón, E., & Drake, P. (2007). Effects of the river discharge management on the nursery function of the Guadalquivir river estuary (SW Spain). *Hydrobiologia*, 587(1), 125–136. https://doi.org/10.1007/s10750-007-0691-9
- González-Ortegón, E., Subida, M. D., Cuesta, J. A., Arias, A. M., Fernández-Delgado, C.,
  & Drake, P. (2010). The impact of extreme turbidity events on the nursery function of a temperate European estuary with regulated freshwater inflow. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *87*(2), 311–324. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2010.01.013

- Jalón-Rojas, I., Schmidt, S., & Sottolichio, A. (2017). Comparison of environmental forcings affecting suspended sediments variability in two macrotidal, highly-turbid estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science, 198*, 529–541. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.02.017
- Mendiguchía, C., Moreno, C., García-Vargas, M., & García, M. (2007). Evaluation of natural and anthropogenic influences on the Guadalquivir River (Spain) by dissolved heavy metals and nutrients. *Chemosphere*, 69(10), 1509–1517. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.082
- Miró, J. M., Megina, C., Donázar-Aramendía, I., & García-Gómez, J. C. (2022). Effects of maintenance dredging on the macrofauna of the water column in a turbid estuary. Science of the Total Environment, 806. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151304
- Miró, J. M., Megina, C., Donázar-aramendía, I., & Reyes-martínez, M. J. (2020). Environmental factors affecting the nursery function for fish in the main estuaries of the Gulf of Cadiz (south-west Iberian Peninsula). *Science of the Total Environment*, 737, 139614. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139614
- Ruiz, J., Macías, D., & Navarro, G. (2017). Natural forcings on a transformed territory overshoot thresholds of primary productivity in the Guadalquivir estuary.
   *Continental Shelf Research*, *148*(September), 199–207. https://doi.org/10.1016/j.csr.2017.09.002

Contents lists available at ScienceDirect



## Marine Environmental Research

Marine Environmental Research

# Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats



I. Donázar-Aramendía\*, J.E. Sánchez-Moyano, I. García-Asencio, J.M. Miró, C. Megina, J.C. García-Gómez

Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R+D+I Biological Research Area., Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012, Sevilla, Spain

ARTICLE INFO	A B S T R A C T
Keywords:	Understanding the effects of dredging in estuaries is a hard task due to the difficulty of implementing an ade-
Macrobenthic community	quate environmental diagnosis, as a consequence of the salinity gradient and anthropogenic disturbances. To
Stable isotopes	assess the effects of maintenance dredging work on the Guadalquivir estuary (southwestern Spain), we used a
Salinity Food web	Before-After-Control-Impact (BACI) approach to determine both direct and indirect effects in two salinity ranges.

## 1. Introduction

Gulf of cadiz

Although estuaries are one of the most productive marine coastal environments in terms of biomass (Wolf, 1983; Wetzel et al., 2013), they often face perturbations (Dauvin et al., 2006; Sánchez-Moyano and García-Asencio, 2010). With more than 60% of Earth's population living in the coastal realm, estuarine ecosystems have been extensively altered by human activities (Ray, 2006). Furthermore, estuaries are dynamic and complex systems where high variability of the physical-chemical gradients makes them one of the most stressful aquatic environments (González-Ortegón et al., 2006; Dauvin, 2008). In this changeable scenario, characteristics of estuarine communities are strongly and directly related to parameters, such as turbidity, temperature and, particularly, salinity (Baldó and Cuesta, 2005; Dauvin, 2008). As a consequence, benthic community diversity is limited, but it is often associated with a high tolerance to variable environmental conditions (Dauvin, 2007). Interpreting disturbance effects in estuaries often is complex, because the dynamic geological, physical and chemical characteristics that rule those systems might be confused with anthropogenic impacts (Morrisey et al., 2003; Dauvin et al., 2006; Dauvin, 2008). An accurate evaluation of the anthropogenic impacts in estuaries is vital for the proper management of resources and maintaining good

environmental health as well as reaching a "good environmental status" in the context of the requirements of the European Water Framework Directive (Taupp and Wetzel, 2013; Rehitha et al., 2017).

No effects were found on water and sediment physicochemical characteristics. The small impacts on dredged

areas were followed by a rapid recovery of opportunistic species. The poor status of the benthos does not permit the detection of significant effects on macrofaunal community structure. The use of stable isotopes analysis to determine impacts on food web structure showed that changes over time seem to be explained by natural temporal variation rather than the dredging works. This paper emphasises the need to define proper management and conservation plans to improve the status of the benthic communities of the Guadalquivir estuary.

> The Guadalquivir estuary (southwestern Spain) is a good example of this kind of stressed scenario. In this system, mixed natural perturbations, such as a horizontal salinity gradient, govern the composition and spatial distribution of the aquatic communities, while human activities have deeply modified the ecosystem (González-Ortegón et al., 2006; Castañeda and Drake, 2008; Llope, 2017). They vary from desiccation of tidal marshes and isolation of the estuary course from the original tidal marshes, reduction of freshwater inputs and eutrophication from urban and agricultural waters to maintenance dredging work (Taglialatela et al., 2014; Llope, 2017). The Guadalquivir estuary is the only navigable river in Spain and gives access to Seville harbour. To maintain navigability, the Autoridad Portuaria de Sevilla (APS) has performed maintenance dredging work every one or two years since 1985 (Gallego and García Novo, 2006). Dredging operations represent a potential risk to the estuarine environment; effects basically depend on the method used, duration and extension, amount of dredge material and sediment characteristics. These activities may cause changes in the seabed and natural fluctuations in water conditions, population dynamics and sedimentary composition of the system and the surrounding

\* Corresponding author.

E-mail address: idonazar@us.es (I. Donázar-Aramendía).

https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012

Received 22 February 2018; Received in revised form 20 July 2018; Accepted 20 July 2018 Available online 25 July 2018 0141-1136/ © 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved. areas (Sánchez-Moyano et al., 2004; Barrio Froján et al., 2011; Ceia et al., 2013; Rehitha et al., 2017). Dredging often has more repercussions on benthic communities due to the relative immobility of organisms (Simonini et al., 2005). Macrofaunal communities play a crucial role in the structure and functioning of ecosystems, such as sediment stability, nutrient processing and contaminant sequestering (Thrush and Dayton, 2002; Ceia et al., 2013). In estuaries, macrofauna are also an important link between organic matter and predators (Kon et al., 2015) acting as a food source for the next trophic level, generally secondary consumers such as fish and shellfish (Bolam et al., 2011).

Studies assessing dredging effects on macrofaunal assemblages are widely available (Klapan et al., 1975; Newell et al., 1998; Sánchez-Movano et al., 2004: Bemvenuti et al., 2005: Ponti et al., 2009: Rehitha et al., 2017). However, more focused studies on dredging effects in different salinity ranges in estuaries are rare, despite the fact that salinity is the major environmental factor influencing the distribution of organisms in estuaries (Attrill, 2002). Most monitoring programs in estuaries have been developed in higher salinity ranges, while low salinity areas have been scarcely studied (Vinagre et al., 2015). Moreover, studies analysing dredging impacts on food web structure are few. Stable isotopes analysis is a useful tool to determine anthropogenic impacts on food web structure in aquatic ecosystems (Ke et al., 2016). Nitrogen and carbon isotopic ratios can be used for tracing the natural or anthropogenic sources of nutrients in estuaries (Castro et al., 2007; Kon et al., 2012; Van De Merwe et al., 2016). Also, the different rates of nutrient assimilation by different organisms can reflect estuarine status over temporal scales (Van De Merwe et al., 2016). For this reason, isotope analysis could be a useful tool to assess dredging impacts and the potential following recovery.

In this context, we analysed the effects of dredging work carried out in the Guadalquivir estuary in two different salinity gradient ranges with a Before-After Control-Impact (BACI) analysis (Underwood, 1991). We combined a classical approach assessing the dredging impact on the physicochemical and biological characteristics of the system, and we incorporated a new approach based on the analysis of stable isotope values of carbon and nitrogen. This study specifically aims to assess (i) effects of dredging on sediment and water characteristics and on macrofaunal communities and (ii) indirect effects on the surrounding shallower habitat and on the whole food web structure.

#### 2. Materials and methods

### 2.1. Study area

The Guadalquivir estuary is located in southwestern Spain. It extends from the mouth in Sanlúcar de Barrameda (Atlantic Ocean) to the Alcalá del Río dam, 110 km upstream. This estuary plays a critical role in the ecological and economic sustainability of very sensitive and protected areas of southwestern Spain (e.g., National Park of Doñana) (Tornero et al., 2014). The Guadalquivir estuary is a well-mixed and tidally dominated system (3.5 m tidal range at the mouth in spring tides) (Díez-Minguito, 2012), which presents a longitudinal salinity gradient with temporal displacement by tides, discharges and seasonal variations (González-Ortegón et al., 2014). In order to guarantee a minimum navigation depth of 6.5 m, the channel is dredged every one or two years (Ruiz et al., 2015). In summer 2015, a maintenance dredging operation was carried out in several estuarine sections. The dredging work was performed by trailer suction dredge. Our study was focused on two dredging sections, one in the polyhaline range (18-30 PSU) and the other in the oligohaline range (< 5 PSU), locally known as Salinas and La Gola, respectively (Fig. 1). Approximately 74,000 and 22,000 m<sup>3</sup> of dredged material were extracted in each range, respectively.

#### 2.2. Sampling design

Our sampling was designed according to a BACI approach (Underwood, 1994). In total, four sampling surveys were carried out: two pre-dredging (June and July 2015) and two post-dredging (October 2015 and August 2016) surveys. In both salinity ranges, two areas were established: one within the dredged section and the other (as a control) far away from the influence of these operations but always at the same salinity range intervals. Establishing more control areas in the same salinity ranges were not possible due to the areas not affected by the dredging being spatially limited (ca. 2 km). In each area, three stations were randomly located inside of the navigation channel and the other three in the shallower left margin in order to assess the direct and indirect effects of dredging in those habitats, respectively. Three samples were taken for macrofaunal analysis with a Van Veen grab (0.15 m<sup>2</sup> total sampling area per station and date). For posterior analysis, all stations were pooled together and were considered replicates of each area. Macrofaunal samples were sieved through a 0.5-mm mesh sieve, and infauna was preserved in ethanol (70%) and stained with rose bengal for subsequent identification and quantification at the lowest possible taxonomic level.

To relate the effects of dredging on sediment characteristics, one additional sample was taken for grain size distribution, particulate organic matter (POM) content and redox potential. Grain size distribution was measured as percentages of 100 g of dry sediment passed through a series of sieves (5 mm, 2 mm, 1 mm, 0.5 mm, 0.250 mm, 0.125 mm and 0.063 mm). Also, the median grain size ( $Q_{50}$ ) and sorting coefficient ( $S_0$ ) (Trask, 1950) were calculated. Granulometric typology was established according to the Wentworth geometric scale (Buchanan, 1984). The POM content was determined by calculating the weight difference between the dried sediment samples of three replicates (at 60 °C until dried weight stabilisation) and after combustion (500 °C for 4 h). Apparent redox potential was measured with a pH meter (WTW pH 1970i with SenTix ORP electrode).

For the heavy metals and trace element concentrations analyses, sediments were taken from the uppermost 2 cm. In the laboratory, sediment samples were air-dried, crushed and sieved though a 2-mm sieve and then ground to  $< 60 \,\mu$ m. These samples were digested with aqua regia (1:3 conc HNO<sub>3</sub>: HCl) in a microwave digester. Quantification of elements in the extracts was achieved using a VARIAN ICP 720-ES (simultaneous ICP-OES with axially viewed plasma). The accuracy of the analytical methods was assessed via a reference soil sample from the Wageningen Evaluating Programs for Analytical Laboratories (WEPAL) for soils, International Soil-Analytical Exchange (ISE). The index of geoaccumulation ( $I_{geo}$ ) has been used as a relative measure of metal pollution in sediments for Cr, Cu and Zn according to the regional background established by Ruiz (2001) for unpolluted sandy and silty-clayey sediments and is given by:  $I_{geo} = \log_2 (Cn/1.5)$ Bn), where Cn is the value of the element n and Bn is the background data of that element. Following Ruiz (2001), the index values were divided into five groups: unpolluted ( $I_{geo}$  < 1); very lowly polluted (1 <  $I_{geo}$  < 2); lowly polluted (2 <  $I_{geo}$  < 3); moderately polluted (3  $\,<\,I_{\rm geo}\,<\,$  4); highly polluted (4  $\,<\,I_{\rm geo}\,<\,$  5) and very highly polluted ( $I_{geo} > 5$ ). Comparisons between metal concentrations and sediment quality values (SOVs) proposed by Long et al. (1995) and Delvalls and Chapman (1998) have also been performed. Heavy metals in water and sediment were only measured in the channel area in July and October 2015 and August 2016.

Water parameters were analysed from the bottom layer with a multiparametric probe Eureka Manta 2 with pH, dissolved oxygen, salinity and turbidity sensors. A 5-l water sample from 1 m above the bottom was collected with a Niskin bottle and then filtered through a GF/C Whatman glass fibre filter with an air vacuum pump; then, suspended organic matter (SUOM) and total suspended solids (TSS) were calculated. SUOM was determined with the same procedure as POM.

We investigated the possible impact of the dredging work on the



Fig. 1. Location of the study area and sampling stations in both ranges of the salinity gradient.

nekton-benthonic food web of the two salinity ranges. Although sampling was carried out at the same time as the macrofaunal surveys, we did not differentiate control and dredging areas because the daily tide movements did not allow the establishment of control areas. We selected this community because it was more diverse and accessible to sample than strictly benthic fauna. Samples of the planktonic community were collected before dredging (July 2015) and twice after it (October 2015 and August 2016). Organisms were collected with a 1000-µm mesh zooplankton net with a 1 m mouth diameter. Oblique tows were performed from surface to bottom during flood tide in the main channel. All organisms were sorted by species, transferred to the laboratory in refrigerated containers and kept alive for 24 h to evacuate their gut contents. Sediment was taken from the upper 2 cm of a Van Veen grab sample for sediment organic matter (SOM) analysis. We rinsed samples with distilled water. Muscle tissue samples of fish larvae and shrimp abdomen were extracted. Pools of several organisms were used when individuals had low biomass values. Samples were dried at 60 °C and ground to a powder. Sediment samples were acidified with 0.1M HCl to remove carbonates and oven-dried. Subsamples of powdered materials were weighed to the nearest 0.3 µg and placed into tin capsules for  $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N determinations. Isotopic analyses were carried out at the Laboratorio de Isótopos Estables of the Estación Biológica de Doñana (LIE-EBD, Spain; www.ebd.csic.es/lie/index.html). All samples were combusted at 1020 °C using a continuous flow isotope-ratio mass spectrometry system by means of Flash HT Plus elemental analyser coupled to a Delta-V Advantage isotope ratio mass spectrometer via a CONFLO IV interface (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany).

## 2.3. Data analysis

Direct and indirect dredging effects were independently examined

in both salinity ranges. Channel and shallower left margin habitats were also separately compared with their respective controls in both salinity ranges. Water and sediment variables differences were tested on Euclidean distances using a permutational univariate analysis of the variance (PERMANOVA) (Anderson, 2001a). PERMANOVA was chosen for univariate analyses because resulting sums of squares and F-ratios are exactly the same as Fisher's univariate F-statistic in traditional ANOVA and does not assume a normal distribution of errors (Anderson, 2005, 2001b; Scyphers et al., 2011). The experimental design included two crossed fixed factors: "Impact vs. Control" with two levels (Impact and Control areas), "Time" with two levels (Before and After the dredging work) and a random factor, the sampling dates "Dates" nested within "Time" with four levels (Jun 15, Jul 15, Oct 15 and Aug 16).

According to a BACI design, if the disposal had a permanent impact, the putatively impacted areas will change over time from the samplings before the dredging work to the samplings after with a different pattern when compared to control areas. This difference can be detected as a significant "Time" x "Impact vs. Control" interaction (Guerra et al., 2009).

Univariate measures, such as species richness (number of taxa, S), Shannon's diversity index (H', based on log 2), total abundance (N, ind/ $m^2$ ) and Pielou's evenness (J') were calculated. Significant interactions were tested using a permutational univariate analysis of the variance (PERMANOVA) with the same experimental design as above. The pvalues were provided using unrestricted (9999) permutation of the abundance data based on the Euclidean distance matrix. When the number of total possible permutations to obtain the p-values were low (< 100), we used the estimate obtained by Monte Carlo sampling (Anderson and Robinson, 2003). Significant interactions, if detected, were further explored in separate analyses, within the levels of the interacting factors; in other words, the significant interactions between "Impact vs. Control" and "Dates" were further analysed separately by impact area and the control area.

The effects on the multivariate structure of the communities were investigated using a PERMANOVA analysis based on the Bray-Curtis similarity index of square-root transformed abundance data with the same design as above. Macrobenthic communities were also investigated by a non-metric multidimensional scaling ordination (nMDS). SIMPER analysis was used to identify the species contributing most to any observed spatial or temporal pattern in the communities (Clarke, 1993).

Previously standardised sediment and water variables were examined using principal components analysis (PCA). Spearman correlations were done with the heavy metal concentrations and univariate community indices.

From the obtained results of stable isotopes analysis, we created graphical plots of the carbon and nitrogen signals (Fry, 2006). Only species found in all surveys in both ranges were used. Differences between stable isotopes signals of carbon and nitrogen were tested with non-parametric Kruskal-Wallis tests. All analyses were carried out in IBM SPSS for Windows and PRIMER v 6.0 software (Clarke and Gorley, 2006).

### 3. Results

#### 3.1. Environmental variables

Water and sediment parameters are shown in Table S1. Granulometry of the sediments in the channel habitat of the oligohaline range, La Gola, oscillated between very fine sand and fine sand with a reduced bottom according to the redox potential. In the channel habitat of the polyhaline range, Salinas, sediments ranged from very fine sand to fine sand, while in the shallow habitat of both ranges, there was always very fine sand (Fig. 2). In the oligohaline range, the turbidity was higher than in the polyhaline range (Fig. 3).

The PERMANOVA results for both ranges showed significant

temporal differences (p < 0.01) in both areas and both habitats (control and dredged and shores and channel, respectively) for most of the water parameters, while sediment parameters remained constant. There were not significant interactions between the factors "Time" and "Impact vs. Control" for any variables. Heavy metal concentrations are shown in Table S2 and mean concentration variation of selected metals in Fig. 4. Results showed generally higher concentrations after the operations in the dredging area of the polyhaline range. The PERMA-NOVA results of heavy metal concentrations for the two ranges did not show significant differences (p > 0.01) between the control and the dredging areas for all the heavy metals analysed. It also did not show interactions between the factors "Time" and "Impact vs. Control" in both salinity ranges. The Igeo index for Cr, Cu, Zn and Pb showed that the sediment was uncontaminated in the majority of the areas and sampling periods though some samples had higher levels of Pb. We found moderately contaminated values only in Salinas in August 2016. All heavy metal concentrations were below quality values of the sediment (SQV: Cd: 98 mg/kg, Cu: 270 mg/kg, Ni: 51.6 mg/kg, Pb: 84.6 mg/kg and Zn: 225 mg/kg (Delvalls and Chapman, 1998; Long et al., 1995; Tornero et al., 2014).

The PCA did not show any relationship between the dredging operation and the physicochemical variables (Fig. 5). In the oligohaline range, sample points were grouped, following the period, independently of the control or dredging area and channel or shallow habitat. The situation at the Salinas site was similar with major homogeneity between stations and/or periods.

## 3.2. Macrofaunal analysis

In total, 17 species were found in the oligohaline range and 38 in the polyhaline range. The most abundant group in all the samples was the annelids, especially the polychaetes *Alkmaria romijni* and *Streblospio shrubsolii*. Crustaceans also showed some importance in contributing to the diversity of the polyhaline range. There was practically no presence of molluscs in the oligohaline range, except some young specimens of the invasive species *Corbicula fluminea* (Table S3).

Univariate community indices are shown in Fig. 6. Species richness showed differences in the oligohaline range in the channel area a month after the dredging operations in relation to previous sampling dates. In October 2015, there were no species present in the dredging area, while the control area did have species. In the shallow habitat, the number of species did not change over the sampling periods. In August 2016, a year after the dredging, the richness in the dredging area was similar to that of the pre-dredging period. A PERMANOVA analysis showed no significant interaction (p > 0.05) between "Time" and "Impact vs. Control" in both channel and shallow habitats (Table 1). On the other hand, in the polyhaline range, we always found some species in every survey, but, in October 2015, a reduction in the number of species was found in both habitats (Fig. 6).

The Shannon's diversity index showed low values in the oligohaline range in all the sampling periods (Fig. 6). The greatest values were found in the polyhaline range. The PERMANOVA results did not show a significant interaction between factors (Table 1). In the polyhaline range, the index values were higher (Fig. 6). In the dredging area of the channel, there was temporal variation over the sampling dates, while in the control, it was more stable. In the shallow habitat of the control area, we found low values due to the high abundance of the polychaete *S. shrubsolii*. The PERMANOVA results showed a significant interaction between "Impact vs. Control" and "Dates" in the channel habitat (p = 0.0013) (Table 1). Separate analysis of the "Impact" level showed significant differences over the sampling dates (p = 0.0039), whilst the "Control" level showed no differences.

Abundance  $(ind/m^2)$  values found in the oligohaline range were low in all areas and dates (< 60 ind/m<sup>2</sup>) (Fig. 6). The PERMANOVA analysis showed an interaction near significance between "Impact vs. Control" and "Dates" in the shallow habitat (p = 0.051) (Table 1).



Fig. 2. Mean ( $\pm$  standard error) of fine percentage (< 0.063 mm) of both channel and shallow habitats of the two salinity ranges.

Separate analysis did not show significant differences over the sampling dates in both control or impact areas. The abundance values in the polyhaline range were higher than in the oligohaline range due to high numbers of the polychaete *S. shrubsolii* (Fig. 6). A PERMANOVA test showed a significant interaction between "Impact vs. Control" and "Dates" in both channel and shallow habitats (p = 0.022 and p = 0.0296, respectively) (Table 1). In the two separate analyses of control and impact stations of the two habitats, the impacted area showed significant differences over the sampling periods and controls did not.

Evenness showed greater values in the oligohaline range and followed similar trends as with Shannon's diversity and richness indices. A significant interaction was detected between the factors "Impact vs. Control" and "Dates" in the channel habitat of the polyhaline range (p = 0.04) (Table 1). Separate analysis also showed significant differences between sampling dates in the impacted area whilst controls did not.

The nMDS analysis in the oligohaline range showed the most of the stations with a similar macrofaunal community and no spatial or temporal patterns (Fig. 7). In the polyhaline range, there was more segregation between channel and shallow stations. The community of the shallow habitat, in both dredging and control areas, was similar in all sampling dates, while the channel habitat had more temporal

variations. The community structure results did not show significant interactions in the oligohaline range. On the other hand, results showed a significant interaction between "Impact vs. Control" and "Dates" in both habitats of the polyhaline range (p = 0.0197 and p = 0.0061, respectively) (Table 2). Both separate analyses of the control and impact stations in the two habitats did not show significant differences in the control over the "Dates" while the "Impact" showed it.

SIMPER analysis of the polyhaline range (Table S4) showed no temporal trends in the channel habitat of the control area over the sampling dates. In the impacted area, results showed a general decrease in October 2015 of the abundances of species, such as the amphipod *Bathyporeia pilosa*, the isopod *Lekanesphaera levii* and *S. shrubsolii*, with respect to pre-dredging surveys, which were characterised by the dominance of these species. In August 2016, more species with no dominance patterns were observed. In the shallow habitat, differences found were mostly due to August 2016 where, in the impacted area, high abundances of the polychaetes *A. romijni* and *S. shrubsolii* and the isopod *Cyathura carinata* occurred.

The Spearman correlation between univariate community indices showed significant negative relationships between richness species and Co (-0.361), and abundance and As (-0.332), Co (-0.426) and Ni (-0.386). Concentrations of As, Co and Ni showed an increase in October in the dredging area of both salinity ranges, except Ni which



Fig. 3. Mean turbidity values (± standard error) of both channel and shallower habitats of the two salinity ranges.

showed a decrease in the oligohaline range. In the control areas, concentrations of these metals showed a decrease or remained at the same levels than the pre-operational measures. In August 2016, an increase in the concentrations was detected, except for Co and As in the dredging area of the oligohaline range (Fig. 4).

Stable isotope plots suggested a more widespread food web structure in the oligohaline range than in the polyhaline range (Fig. 8). This could suggest that organisms in La Gola occupied different trophic niches. The Salinas samples showed similar carbon and nitrogen isotope signals, suggesting similar trophic interactions. Plots also suggested a different organic matter origin in the polyhaline range than in the oligohaline due to the different carbon enrichment values observed in the food web of the polyhaline range.

The two salinity ranges did not show the same pattern over time. In the oligohaline range, some organisms suffered changes in the surveys after the dredging operations. There was a significant (H = 7.64; p = 0.02) decrease in nitrogen values of the mysid *Neomysis integer* in October, one month after the dredging. One year later, the mysid nitrogen signal was at the same level as before. Although plots also showed an increase after dredging on the vegetal matter nitrogen values, there were no significant differences. This value remained at the same level one year after dredging. Carbon values only showed enrichment in the anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in October. One year later, the carbon signal was at pre-dredging levels. The other species did not show any changes. Conversely, in the polyhaline range, isotope signals of the organisms were similar across all sampling months. Only the mysid *Mesopodopsis slaberii* suffered a slight depletion in their carbon signal one year after the dredging work.

### 4. Discussion

Increasing anthropogenic pressures on the benthic environment in estuaries has not always been an issue of concern (Rehitha et al., 2017). Our study assessed the grade of impact of dredging operations carried out in summer 2015 on benthic communities in two salinity ranges in the Guadalquivir estuary. The most noticeable feature observed in the dredging ranges, both in the channel and shallow habitats, is the absence of an evident effect in sediment and water parameters and the low impact in the biological communities independent of the salinity range. Also, the food web structures in both salinity ranges were not clearly affected by the dredging. Changes in the isotopic composition of the anchovies and the mysids could be explained by the natural variation of the system. The impossibility of the establishment of more replicated controls per dredging area makes it necessary to interpret these results with caution. When there are not replicated control areas under study, we do not have a measure of the natural random variability among any two different areas. In case the analysis leads to the identification of differences between the evolution of the control and the potentially impacted areas, these differences cannot be unconfoundedly assigned to an impact. When the differences are found to be not significant, this weakness is less critical given that the inclusion of more replicates of control areas will not change that the observed variation in dredging areas was overlapping with the natural variation.

Although we have no data about the very early effects immediately after dredging, the deepening of channels may significantly increase suspended matter concentrations in the long-term by the stirring up of bottom substratum or erosion from locations that were not sensitive to


Fig. 4. Mean concentration variation (± standard error) over the sampling dates of As, Co and Ni in both salinity ranges.

erosion before (de Jonge et al., 2014; Rehitha et al., 2017). In both ranges, water parameters (pH, oxygen and salinity) showed the expected values for a temperate estuary during the sampling period. Turbidity was notably higher in the oligohaline range than in the

polyhaline range, because this range is in the maximum turbidity zone of the estuary (Vilas et al., 2008). The same pattern was also observed in the sediment characteristics. In both ranges, the granulometry remained stable in both the dredging and control areas. Our data suggest



Fig. 5. Principal components analysis (PCA) results for sediment and water parameters at all the stations in dredging and control areas and channel and shallow habitats over the sampling period. The percentage of variability explained by the two principal axes and vectors of a selection of parameters are given. (CC: Control channel, CS: Control shallow, DC: Dredging channel, DS: Dredging shallow).



Fig. 6. Mean ( $\pm$  standard error) values of the univariate community indices (S, N, H' and J') in the two salinity ranges over the sampling periods.

that sediment characteristics changed similarly in the control and dredging areas following natural variations. Therefore, dredging operations seem not to affect the water and granulometry, possibly due to the extraction method used, which minimized sediment overflow. However, the high flows originated by tides and the high chronic turbidity in the Guadalquivir estuary (Losada et al., 2017) could overshadow these effects.

Dredging operations may also release contaminants that were trapped in bottom sediments to the water column (Wasserman et al., 2016). However, all heavy metal concentrations were below SQV values. Furthermore, PCA analysis indicated that sampled points were grouped according to the period of survey instead of being grouped according to area (dredging vs. control). Our results agree with those reported by Guerra et al. (2009), who found that sediment deposited after dredging had the same contamination levels as before dredging operations. The higher levels of some heavy metal concentrations found after the operations in the dredging area of the polyhaline range were mostly due to the increase in August 2016, one year after dredging. Deepening of channels could lead to a greater dominance of fine fractions of sediment in dredging areas for a few hundred meters due to the dredge plume and lower current velocities, which favoured the deposition of fine sediment with higher levels of heavy metals (Klapan

## Table 1

Univariate PERMANOVA results in both salinity ranges based on the Euclidean distance matrix of the richness data (S), Shannon's diversity (H'), total abundance  $(ind/m^2)$  (N) and Pielou's evenness (J'). \*p estimation obtained by Monte Carlo sampling.

Oligohaline Channel						Polyhaline Channel					
	df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms		df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms
S						S					
Time	1	0.16667	2.94E-02	0.874*	3	Time	1	1.20E + 01	22.231	0.0437*	3
Impact vs Control	1	2.6667	1.2308	0.3623	204	Impact vs Control	1	1.04E + 00	0.10917	0.7357	776
Dates (Time)	2	5.6667	5.44	0.0212	7150	Dates (Time)	2	5.42E-01	0.1413	0.8711	9950
Time x Impact vs Control	1	0.66667	0.30769	0.6148	242	Time x Impact vs Control	1	1.0417	0.10917	0.737	776
Dates(Time) x Impact vs	2	2.1667	2.08	0.1518	9369	Dates(Time) x Impact vs	2	9.5417	2.4891	0.1126	9953
Control	16	1 0417				Control	16	2 0 2 2 2			
Total	22	1.0417				Total	22	3.8333			
Total	23					1000	23				
N						N					
Time	1	9.20E + 01	3.03E-02	0.8796*	3	Time	1	9.49E + 06	4.3854	0.1682*	3
Impact vs Control	1	92.042	1.3937	0.3473	141	Impact vs Control	1	4.56E+06	1.6906	0.3259	794
Dates (Time)	2	3033.4	5.3209	0.0176	9957	Dates (Time)	2	2.16E + 06	3.7833	0.0411	9947
Detec(Time) y Impact vs	1	315.38	4.//54	0.151	801 00E1	Detec(Time) y Impact vs	1	$0.34E \pm 00$	2.34/8	0.2483	798
Control	2	00.042	0.11365	0.0947	9951	Control	2	2.701 + 00	4.72	0.022	9930
Res	16	570.08				Res	16	5.72E + 05			
Total	23					Total	23				
H'						H′					
Time	1	2.78E-03	2.34E-03	0.9664*	3	Time	1	0.85436	7,4997	0.1113*	3
Impact vs Control	1	1.7103	12.66	0.082	800	Impact vs Control	1	1.0158	0.48277	0.5492	794
Dates (Time)	2	1.1844	3.6732	0.0528	9951	Dates (Time)	2	0.11392	0.45563	0.6363	9951
Time x Impact vs Control	1	1.14E-02	8.45E-02	0.7155	799	Time x Impact vs Control	1	1.4878	0.70709	0.4999	800
Dates(Time) x Impact vs	2	0.1351	0.41899	0.6591	9970	Dates(Time) x Impact vs	2	2.1042	8.4158	0.0013	9956
Control	16	0.00044				Control	16	0.05000			
Res	10	0.32244				Res Total	10	0.25003			
Total	23					Total	23				
J'						J'					
Time	1	5.26E-04	1.17E-03	0.974*	3	Time	1	0.19654	15.167	0.061*	3
Impact vs Control	1	0.78073	6.6382	0.1209	799	Impact vs Control	1	6.09E-02	0.3959	0.588	800
Dates (Time)	2	0.44765	2.6904	0.0961	9948	Dates (Time)	2	1.30E-02	0.32005	0.7317	9959
Dates(Time) x Impact vs	1	4.52E-04 0.11761	3.85E-03	0.8174	/93	Dates(Time) x Impact vs	1	0.25978	1.6892	0.3216	/94 0057
Control	2	0.11701	0.70080	0.3099	9950	Control	2	0.13378	3./901	0.0404	9937
Control						Control		4 OFE 02			
Res	16	0 16639				Res	16	4 11:16-112			
Res Total	16 23	0.16639				Res Total	16 23	4.03E-02			
Res Total	16 23	0.16639				Res Total	16 23	4.05E-02			
Res Total Oligohaline Shallow	16 23	0.16639				Res Total Polyhaline Shallow	16 23	4.03E-02			
Res Total Oligohaline Shallow	16 23 df	0.16639 MS	Pseudo-F	р	Unique perms	Res Total Polyhaline Shallow	16 23 df	4.03E-02	Pseudo-F	р	Unique perms
Res Total Oligohaline Shallow	16 23 df	0.16639 MS	Pseudo-F	р	Unique perms	Res Total Polyhaline Shallow	16 23 df	4.03E-02	Pseudo-F	р	Unique perms
Res Total Oligohaline Shallow	16 23 df	0.16639 MS	Pseudo-F	p	Unique perms	Res Total Polyhaline Shallow	16 23 df	4.03E-02 MS	Pseudo-F	р	Unique perms
Res Total Oligohaline Shallow S Time	16 23 df	0.16639 MS	Pseudo-F	p 0.1548*	Unique perms	Res Total Polyhaline Shallow S Time	16 23 df 1	MS 8.1667	Pseudo-F 24.5	p 0.0387*	Unique perms
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833	Pseudo-F 5 168.2 7 815 02	p 0.1548* 0.0738 0.9257	Unique perms 3 748 0050	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2	MS 8.1667 80.667 0.22222	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E 02	p 0.0387* 0.076 0.0547	Unique perms 3 739 0675
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104	Unique perms 3 748 9950 108	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time × Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 1	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785	Unique perms 3 739 9675 530
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs	16 23 df 1 1 2 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7 81E-02	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs	16 23 df 1 1 2 1 2	MS 8.1667 80.667 10.667 0.83333	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926	Unique perms 3 739 9675 530 9928
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Cime) x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 1 2	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926	Unique perms 3 739 9675 530 9928
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res	16 23 df 1 1 2 1 2 16	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res	16 23 df 1 1 2 1 2 16	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926	Unique perms 3 739 9675 530 9928
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926	Unique perms 3 739 9675 530 9928
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926	Unique perms 3 739 9675 530 9928
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time	16 23 df 1 2 1 2 16 23 1	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926	Unique perms 3 739 9675 530 9928
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23 1 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.5388*	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 16 23 16 23 1 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E+05 5.85E+05 5.16E+05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E+06 3.27E+07 9.38E+06	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23 1 1 2 1 1 2 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E+05 5.85E+05 5.16E+05 3.42E+05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149	P 0.1548* 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time X Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E+06 3.27E+07 9.38E+06 6.31E+07	Pseudo-F 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.42E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158	p 0.1548* 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.4506	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23 1 1 2 1 2 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158	p 0.1548* 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Sontrol Dates (Time) Time x Sontrol Dates (Time) X Sontrol Sontrol	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E+06 3.27E+07 9.38E+06 6.31E+07 2.20E+07	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 16	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E+05 5.85E+05 5.16E+05 3.42E+05 3.79E+05 1.22E+05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158	p 0.1548* 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 16	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158	p 0.1548* 0.9257 0.3104 0.9264 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 16 23	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H'	16 23 df 1 2 1 2 16 23 1 2 1 2 16 23	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H Time	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 16 23 1 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05 2.46E-03	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Res Total H' Time	16 23 df 1 2 1 2 16 23 1 1 2 16 23 16 23 1 16 23 1	<ul> <li>A.03E-02</li> <li>MS</li> <li>8.1667</li> <li>80.667</li> <li>0.33333</li> <li>10.667</li> <li>0.83333</li> <li>7.2917</li> <li>5.02E + 06</li> <li>3.27E + 07</li> <li>9.38E + 06</li> <li>6.31E + 07</li> <li>2.20E + 07</li> <li>4.74E + 06</li> <li>2.40E-02</li> </ul>	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H Time Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 1 2 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 2.46E-03 3.8231	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381* 0.0913	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 1 2 1 2	<ul> <li>A.03E-02</li> <li>MS</li> <li>8.1667</li> <li>80.667</li> <li>0.33333</li> <li>10.667</li> <li>0.83333</li> <li>7.2917</li> <li>5.02E + 06</li> <li>3.27E + 07</li> <li>9.38E + 06</li> <li>6.31E + 07</li> <li>2.20E + 07</li> <li>4.74E + 06</li> <li>2.40E-02</li> <li>8.00E + 00</li> </ul>	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.867*	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time X Impact vs Control Res	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 2.46E-03 3.8231 0.30438	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61 1.2763	P 0.1548* 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381* 0.0913 0.3041	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Attes (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) X Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time Total H' Time Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06 2.40E-02 8.00E + 00 0.65004	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279 3.183	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.082 0.0655	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794 9940
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05 2.46E-03 3.8231 0.30438 1.5611	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61 1.2763 4.3323	P 0.1548* 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4598 0.0506 0.9381* 0.0913 0.3041 0.3041 0.3041	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time X Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 1 2 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 2 1 1 2 1 2 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 2 1 2 1 1 2 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 2 1 1 2 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 2 1 1 2 1 2 1 1 1 2 2 1 1 2 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 2 1 1 1 2 1 1 2 1 1 1 1 2 2 1 1 1 1 1 1 1 2 1	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06 2.40E-02 8.00E + 00 0.65004 1.128	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279 3.183 2.2956	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.082 0.0655 0.2415	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794 9940 796
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 2 1 2 1 2 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 2.46E-03 3.8231 0.30438 1.5611 0.36033	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61 1.2763 4.3323 1.5109	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381* 0.0913 0.3041 0.1662 0.2498	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) X Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 11 2 16 23 11 2 1 2 1 2 1 2 1 2	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E+06 3.27E+07 9.38E+06 6.31E+07 2.20E+07 4.74E+06 2.40E-02 8.00E+00 0.65004 1.128 0.49137	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279 3.183 2.2956 2.4061	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.085 0.2415 0.2415 0.1272	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794 9940 796 9947
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) X Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 2.46E-03 3.8231 0.30438 1.5611 0.36033	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61 1.2763 4.3323 1.5109	p 0.1548* 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381* 0.9381* 0.9013 0.3041 0.1662 0.2498	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates(Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates(Time) Res Total H' Time Impact vs Control Dates(Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 11 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2	MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06 2.40E-02 8.00E + 00 0.65004 1.128 0.49137	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279 3.183 2.2956 2.4061	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.082 0.0655 0.2415 0.1272	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794 9940 796 9947
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 16 23 11 2 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E+05 5.85E+05 5.16E+05 3.79E+05 1.22E+05 1.22E+05 2.46E-03 3.8231 0.30438 1.5611 0.36033 0.23848	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61 1.2763 4.3323 1.5109	p 0.1548* 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381* 0.0913 0.3041 0.1662 0.2498	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9956 798 9956 798 9965	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates(Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates(Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 11 2 12 2 11 2 12 2 16	MS 8.1667 80.667 0.3333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06 2.40E-02 8.00E + 00 0.65004 1.128 0.49137 2.04E-01	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279 3.183 2.2956 2.4061	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.082 0.082 0.082 0.082 0.2415 0.1272	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794 9940 796 9947
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total H Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 2.46E-03 3.8231 0.30438 1.5611 0.36033 0.23848	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61 1.2763 4.3323 1.5109	p 0.1548* 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381* 0.0913 0.3041 0.1662 0.2498	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9955	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	<ul> <li>A.03E-02</li> <li>MS</li> <li>8.1667</li> <li>80.667</li> <li>0.33333</li> <li>10.667</li> <li>0.83333</li> <li>7.2917</li> <li>5.02E + 06</li> <li>3.27E + 07</li> <li>9.38E + 06</li> <li>6.31E + 07</li> <li>2.20E + 07</li> <li>4.74E + 06</li> <li>2.40E-02</li> <li>8.00E + 00</li> <li>0.65004</li> <li>1.128</li> <li>0.49137</li> <li>2.04E-01</li> </ul>	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279 3.183 2.2956 2.4061	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.082 0.0655 0.2415 0.1272	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794 9940 796 9947

## Table 1 (continued)

Oligohaline Channel				Polyhaline Channel							
	df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms		df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms
Time	1	4.02E-02	0.22745	0.6885*	3	Time	1	2.89E-02	0.36995	0.6083*	3
Impact vs Control	1	0.4861	9.8016	0.0983	798	Impact vs Control	1	0.70139	14.877	0.0787	801
Dates (Time)	2	0.17683	2.5882	0.102	9948	Dates (Time)	2	7.82E-02	4.7287	0.0142	9952
Time x Impact vs Control	1	0.7592	15.308	0.0796	800	Time x Impact vs Control	1	7.70E-02	1.6334	0.3284	795
Dates(Time) x Impact vs	2	4.96E-02	0.72589	0.4991	9958	Dates(Time) x Impact vs	2	4.71E-02	2.8504	0.0752	9949
Control						Control					
Res	16	6.83E-02				Res	16	1.65E-02			
Total	23					Total	23				

et al., 1975; Newell et al., 1998; Ponti et al., 2009; Crowe et al., 2016). However, our results did not show an increase of the percentage of fine sediments in this area. Moreover, the increase of concentration of pollutant one year after could indicate a possible input of contaminants from different sources. This fact has been pointed out by Tornero et al. (2014), who suggest that other sources, such as mining activities upstream, could explain As and Pb concentrations in clams in the Guadalquivir estuary. Areas affected by dredging work could experience drastic reductions in richness species, abundance and biomass or become completely defaunated (Klapan et al., 1975; Newell et al., 1998; Fraser et al., 2006; Gutperlet et al., 2017). In other studies, with similar volumes dredged, impacts were detected on community structure and other univariate community indices (Ceia et al., 2013; Ponti et al., 2009; Van Dolah et al., 1984). In October 2015, one month after the dredging work, there were no species in the dredging channel area of the oligohaline range. Direct removal of the species seems to be the explanation. Salinas had a more structured and rich community; as a consequence, the reduction suffered in October 2015 in the channel of the dredging area was more pronounced, but did not reach the azoic level, probably due to lateral and vertical migration of surrounding bottom communities (Hall, 1994). On the other hand, it seems that there was no effect in the shallow habitats of the dredging areas. This agrees with the results of Ponti et al. (2009), who found direct effects on dredging channels and no effects on nearby areas. Richness and abundance have been proven to be more effective to indicate the first impacts of a perturbation than the Shannon's diversity index (Katsiaras et al., 2015), and our results showed that richness was the most useful index to describe shifts in the macrofaunal community in both salinity ranges.

The absence of any significant interaction between the factors "Time" and "Impact vs. Control" indicated there was not a permanent effect in the univariate indices or the community structure from the dredging operations (Underwood, 1994). Despite the absence of permanent effects, significant interactions were found between the factor "Dates" and "Impacts vs. Control" in some univariate community indices as well as in the community structure in the polyhaline range. This indicated different trends in the control and dredging areas over the random sampling dates. Separate analysis of the impact and controls always showed a significant variation in the impacted areas whilst the controls did not. SIMPER analysis showed a decrease of abundance of predominant species in the channel habitat of the impacted area one month after the dredging, which could indicate a possible impact. In spite of this, most of the differences were due to changes in August 2016 in the impacted areas of both channel and shallow habitats where a higher number species were found.

Dredging effects on macrofaunal communities and posterior recolonisation rates are site specific (Thrush and Dayton, 2002; Bemvenuti et al., 2005; Fraser et al., 2006; Gutperlet et al., 2015). Estuaries characterised by a muddy bottom and high dynamic areas often have more rapid recoveries than those with stable sand and gravel areas (Gutperlet et al., 2015; Rehitha et al., 2017). For example, rates reviewed by Newell et al. (1998) suggest a recovery time of 6–8 months for muddy estuaries, while communities with sand and gravel may take 2–3 years to re-establish. Our results were in concordance with these studies. One year after the dredging work, abundances in the oligohaline range as well as richness and Shannon's diversity in the polyhaline range reached pre-dredging values.

Dredged habitats are often first colonised by opportunistic species (Sánchez-Moyano et al., 2004). According to Newell et al. (1998), a large population of small sedentary deposit feeders, like polychaetes, would be the first colonisers after cessation of the disturbance and then would progress towards the same levels as before the disturbance. In



Fig. 7. nMDS of the distance among centroids resemblance for the combined factor between the "Dates" and the two dredging and control areas before and after the dredging of both habitats based on abundance of the different species in both salinity ranges. (CC: Control channel, CS: Control shallow, DC: Dredging channel, DS: Dredging shallow).

## Table 2

PERMANOVA results of the Bray-Curtis similarity matrix based on square-root transformed data in both channel and shallow habitats of both salinity ranges. \*p estimation obtained by Monte Carlo sampling.

Oligohaline Channel	df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms	Polyhaline Channel	df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms
Time	1	1095.5	0.14673	0.9809*	3	Time	1	3743.7	1.2603	0.3536*	3
Impact vs Control	1	2307.7	0.79748	0.5166	801	Impact vs Control	1	7689.8	2.3883	0.1507	799
Dates(Time)	2	7466	3.5928	0.0003	9933	Dates(Time)	2	2970.6	2.2071	0.0367	9929
TimexImpact vs Control	1	3075.3	1.0627	0.4183	800	TimexImpact vs Control	1	3148	0.97769	0.4498	800
Dates(Time)xImpact vs Control	2	2893.8	1.3926	0.1778	9922	Dates(Time)xImpact vs Control	2	3219.8	2.3922	0.0197	9926
Res	16	2078				Res	16	1345.9			
Total	23					Total	23				
Oligohaline Shallow						Polyhaline Shallow					
	df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms		df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms
Time	1	4082.3	1.0272	0.444*	3	Time	1	1684.4	1.4344	0.2797*	3
Impact vs Control	1	8354.1	4.8568	0.1106	801	Impact vs Control	1	7760.4	3.9154	0.0814	801
Dates(Time)	2	3974.1	1.8304	0.1073	9945	Dates(Time)	2	1174.2	1.435	0.1399	9919
TimexImpact vs Control	1	2368.2	1.3768	0.3253	798	TimexImpact vs Control	1	3131.5	1.5799	0.2822	800
Dates(Time)xImpact vs Control	2	1720.1	0.79227	0.5742	9941	Dates(Time)xImpact vs Control	2	1982	2.4222	0.0061	9933
Res	16	2171.1				Res	16	818.27			
Total	23					Total	23				

other studies, community recovery demonstrated that univariate community indices, such as abundances and richness, after a dredging impact could reach pre-operational levels after a certain period of time, but the ecological function could be not the same (Ceia et al., 2013). These shifts seem to be related to changes in sediment characteristics. Conversely, Sánchez-Moyano et al. (2004) observed a recovery in one month, reaching the same community structure and not only opportunistic species. In estuaries, Rehitha et al. (2017) detected changes in the granulometry toward more fine sediment in dredged areas as well as a reduction in species richness and diversity followed by a rapid colonisation of opportunistic species compared to non-dredging areas. They also reported that complex communities in the dredging areas could not be reached due to continuous dredging activities. In the Guadalquivir estuary, the benthic community, principally in the oligohaline range, was characterised by high abundances of the polychaetes A. romijnii and S. shrubsolii, even in the control areas. Therefore, these r-strategist species rapidly colonised the dredged areas, showing a rapid and complete recovery. This is consistent with Bemvenuti et al. (2005), who assessed that in areas that annually experience high changes in salinity (e.g., estuaries), fauna were reduced and community structure was altered by dredging activities, but there was also a rapid recovery due to the high resilience of the system. This is consistent with other studies (Fraser et al., 2006 and references therein).

Despite the low number of species present in all surveys is a major constraint for the isotopic analysis in this study, some conclusions can be made. Differences in the food web structures of the two salinity ranges could indicate the use of more carbon-depleted sources of organic matter with a possible terrestrial origin in the oligohaline range. Conversely, in Salinas, the marine inputs coming with the high tides can introduce more enriched carbon sources of organic matter into the food web (Selleslagh et al., 2015). The variation in isotope values in the oligohaline range suggests more complex feeding pathways than in the polyhaline range. In Salinas, the primary consumers could be feeding on the same organic matter sources, because similar isotope signals of secondary consumers could indicate similar diet composition. Conversely, in the oligohaline range, different nitrogen signals of the



Fig. 8. Means for  $\delta$ 13C (x-axis) and  $\delta$ 15N (y-axis) of the organisms collected in oligohaline (left) and polyhaline (right) sampling areas. Arrows represent isotopic variation over the three sampling periods (July 2015, October 2015 and August 2016).

secondary consumers could suggest that they feed on a different suite of prey.

Changes in the isotopic signals of some organisms in the oligohaline range over the sampling periods could suggest an effect of dredging. A decrease in nitrogen levels of N. integer could suggest a change in trophic niche. Differences in trophic position of this species in October could be caused by the elimination of an intermediate consumer or a change in the degree of trophic omnivory (Post and Takimoto, 2007). The increase in the nitrogen signal of the vegetal matter could suggest the presence of more enriched nutrients with an anthropogenic origin. Dredging can resuspend fine sediments, nutrients and pollutants that had been trapped over the years (Ponti et al., 2009; Wasserman et al., 2016), making them available to the food web. In that sense, the variation in the carbon signal of *E. encrasicolus* would indicate that they use sources of organic matter with different origin over time (Dias et al., 2017). The multispecies approach of selecting organisms with different turnover rates would assess the dredging impact over a temporal scale (Modéran et al., 2012; Selleslagh et al., 2015). Changes in the diets of organisms are not immediately reflected by stable isotopes signals; higher trophic level organisms can show an integrated time response to nutrients better than primary producers (Van De Merwe et al., 2016). One year after the dredging work, mysid and vegetal matter isotope signals were still at the same levels as one month after; however, anchovies showed the same levels as pre-dredging measures. Despite changes in the oligohaline range in some isotope values one month post-dredging, variability in the patterns of isotope signals for carbon and nitrogen do not allow us to confirm an impact of dredging on food web structure. Thus, changes seem to be more related to natural variations rather than a dredging impact.

## 5. Conclusion

Maintenance dredging work is common activity that is necessary to maintain navigability and support trade. However, these human impacts may lead to several direct or indirect threats for estuarine ecosystems. The site-specific component of these impacts necessitates the study of these effects in every system (Fraser et al., 2006). In a highly variable scenario with anthropogenic and natural frequent perturbations, such as in the Guadalquivir estuary, macrofaunal communities often are characterised by low diversity and large populations of species well adapted to rapid recolonisation (Newell et al., 1998). The poor benthic community status in both salinity ranges in the Guadalquivir estuary explains the absence of a detectable effect on the community structure, diversity and richness and the quick recovery of the punctual affections by recolonisation of organisms of nearby areas. Moreover, the dredging work did not evidently affect the food web structure either. This poor status has been reported by other authors (Baldó and Drake, 2001; Sánchez-Moyano et al., 2017) and even in drastic impacts, such as acid mining spills released to the estuary, an impact on the benthic community was not detected (Baldó and Drake, 2001). In the management of estuaries, Ceia et al. (2013) reported that higher dredging frequency and extension means a longer recovery period for macrofaunal assemblages due to sediment structure destabilisation. However, the actual pressures on the Guadalquivir estuary, beyond the maintenance dredging work (e.g., unnatural freshwater inputs in summer for rice agriculture, permanent turbidity and high regulation of the natural flow by upstream dams) does not permit the establishment of more complex communities. Therefore, in poor diversity systems, like the Guadalquivir estuary, and from economic and management efficiency perspectives, research efforts should focus on the most diverse areas, such as the polyhaline range. This study marks the need for a proper management plan that involves all the administrations for the improvement of the biological benthic communities of the Guadalquivir estuary.

## Acknowledgments

We thank Autoridad Portuaria de Sevilla (APS) and Acuario de Sevilla for financial and logistical support. This work was partially supported by the V Plan Propio Universidad de Sevilla via two predoctoral grants (I. Donázar-Aramendía, J.M. Miro). We thank Dr. Craig Layman for his invaluable help with stable isotope interpretation.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012.

## References

- Anderson, M.J., 2005. PERMANOVA Permutational multivariate analysis of variance. Austral Ecol. 1–24. https://doi.org/10.1139/cjfas-58-3-626.
- Anderson, M.J., 2001a. A New Method for Non-parametric Multivariate Analysis of Variance. pp. 32–46.
- Anderson, M.J., 2001b. Permutation tests for or multivariate analysis of variance and regression. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 58, 626–639. https://doi.org/10.1139/f01-004.
- Anderson, M.J., Robinson, J., 2003. Generalized discriminant analysis based on distances. Aust. N. Z. J. Stat. 45, 301–318.
- Attrill, M.J., 2002. A testable linear model for diversity trends in estuaries. J. Anim. Ecol. 71, 262–269. https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2002.00593.x.
- Baldó, F., Cuesta, J.A., 2005. Efecto de la regulación del caudal del Río Guadalquivir sobre las características fisicoquímicas del agua y la macrofauna acuática de su estuario Effect of the regulation of freshwater inflow on the physical-chemical characteristics of water and on the aq. Cienc. Mar. 31, 467–476.
- Baldó, F., Drake, A.M.A.P., 2001. La comunidad macrobentónica del estuario del Guadalquivir. Cienc. Mar. 17, 137–148.
- Barrio Froján, C.R.S., Cooper, K.M., Bremner, J., Defew, E.C., Wan Hussin, W.M.R., Paterson, D.M., 2011. Assessing the recovery of functional diversity after sustained sediment screening at an aggregate dredging site in the North Sea. Estuar. Coast Shelf Sci. 92, 358–366. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.01.006.Bernvenuti, C.E., Angonesi, L.G., Gandra, M.S., 2005. Effects of dredging operations on
- Bemvenuti, C.E., Angonesi, L.G., Gandra, M.S., 2005. Effects of dredging operations on soft bottom macrofauna in a harbor in the Patos Lagoon estuarine region of southern Brazil. Braz. J. Biol. 65, 573–581. https://doi.org//S1519-69842005000400003.
- Bolam, S.G., Barry, J., Bolam, T., Mason, C., Rumney, H.S., Thain, J.E., Law, R.J., 2011. Impacts of maintenance dredged material disposal on macrobenthic structure and secondary productivity. Mar. Pollut. Bull. 62, 2230–2245. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2011.04.012.
- Buchanan, J.B., 1984. Sediment analysis. In: Holme, N.A., McIntyre, A.D. (Eds.), Methods for the Study of Marine Benthos. Blackwell Scientific Publications. Oxford. pp. 41–65.
- Castañeda, E., Drake, P., 2008. Spatiotemporal distribution of Lekanesphaera species in relation to estuarine gradients within a temperate European estuary (SW Spain) with regulated freshwater inflow Distribución espaciotemporal de las especies de Lekanesphaera en relación con los gra, vol. 34. pp. 125–141.
- Castro, P., Valiela, I., Freitas, H., 2007. Eutrophication in Portuguese estuaries evidenced by δ15N of macrophytes. Mar. Ecol. Prog. Ser. 351, 43–51. https://doi.org/10.3354/ meps07173.
- Ceia, F.R., Patrício, J., Franco, J., Pinto, R., Fernández-Boo, S., Losi, V., Marques, J.C., Neto, J.M., 2013. Assessment of estuarine macrobenthic assemblages and ecological quality status at a dredging site in a southern Europe estuary. Ocean Coast Manag. 72, 80–92. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2011.07.009.
- Clarke, K.R., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. Austral Ecol. 18, 117–143. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993. tb00438.x.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N., 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. Prim, Plymouth UK, pp. 192. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x.
- Crowe, S.E., Bergquist, D.C., Sanger, D.M., Van Dolah, R.F., 2016. Physical and biological alterations following dredging in two beach nourishment borrow areas in South Carolina's coastal zone. J. Coast Res. 320, 875–889. https://doi.org/10.2112/ JCOASTRES-D-15-00075.1.
- Dauvin, J.-C., 2008. Effects of heavy metal contamination on the macrobenthic fauna in estuaries: the case of the Seine estuary. Mar. Pollut. Bull. 57, 160–169. https://doi. org/10.1016/j.marpolbul.2007.10.012.
- Dauvin, J.C., 2007. Paradox of estuarine quality: benthic indicators and indices, consensus or debate for the future. Mar. Pollut. Bull. 55, 271–281. https://doi.org/10. 1016/j.marpolbul.2006.08.017.
- Dauvin, J.C., Desroy, N., Janson, a L., Vallet, C., Duhamel, S., 2006. Recent changes in estuarine benthic and suprabenthic communities resulting from the development of harbour infrastructure. Mar. Pollut. Bull. 53, 80–90. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2005.09.020.
- de Jonge, V.N., Schuttelaars, H.M., van Beusekom, J.E.E., Talke, S. a., de Swart, H.E., 2014. The influence of channel deepening on estuarine turbidity levels and dynamics, as exemplified by the Ems estuary. Estuar. Coast Shelf Sci. 139, 46–59. https://doi. org/10.1016/j.ecss.2013.12.030.
- Delvalls, T.A., Chapman, P.M., 1998. Site-specific quality values for the gulf of Cádiz (Spain) and San Francisco Bay (USA). using the sediment quality triad and multivariate analysis. Cienc. Mar. 24, 313–336. https://doi.org/10.7773/cm.v24i3.753.

- Dias, E., Morais, P., Faria, A.M., Antunes, C., Hoffman, J.C., 2017. Benthic food webs support the production of sympatric flatfish larvae in estuarine nursery habitat. Fish. Oceanogr. 26, 507–512. https://doi.org/10.1111/fog.12212.
- Díez-Minguito, M., 2012. Tidal wave reflection from the closure dam in the Guadalquivir estuary (Sw Spain). Coast Eng. 1–8 ....
- Fraser, C., Hutchings, P., Williamson, J., 2006. Long-term changes in polychaete assemblages of Botany Bay (NSW, Australia) following a dredging event. Mar. Pollut. Bull. 52, 997–1010. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.12.016.
- Fry, B., 2006. Stable Isotope Ecology. Springer Sci. + Bus. Media, New York, NY.
- Gallego, J.B., García Novo, F., 2006. High-Intensity Versus Low-Intensity Restoration Alternatives of a Tidal Marsh in Guadalquivir Estuary, SW Spain. pp. 112–121. 0. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2006.11.005.
- González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A., Cuesta, J. a, Fernández-Delgado, C., Vilas, C., Drake, P., 2014. Freshwater scarcity effects on the aquatic macrofauna of a European Mediterranean-climate estuary. Sci. Total Environ. 503–504 (9). https://doi.org/10. 1016/j.scitotenv.2014.06.020.
- González-Ortegón, E., Pascual, E., Cuesta, J. a., Drake, P., 2006. Field distribution and osmoregulatory capacity of shrimps in a temperate European estuary (SW Spain). Estuar. Coast Shelf Sci. 67, 293–302. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2005.11.025.
- Guerra, R., Pasteris, A., Ponti, M., 2009. Impacts of maintenance channel dredging in a northern Adriatic coastal lagoon. I: effects on sediment properties, contamination and toxicity. Estuar. Coast Shelf Sci. 85, 134–142. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2009. 05.021.
- Gutperlet, R., Capperucci, R.M., Bartholomä, a., Kröncke, I., 2015. Benthic biodiversity changes in response to dredging activities during the construction of a deep-water port. Mar. Biodivers. 45 (4), 819–839. https://doi.org/10.1007/s12526-014-0298-0.
- Gutperlet, R., Capperucci, R.M., Bartholomä, A., Kröncke, I., 2017. Relationships between spatial patterns of macrofauna communities, sediments and hydroacoustic backscatter data in a highly heterogeneous and anthropogenic altered environment. J. Sea Res. 121, 33–46. https://doi.org/10.1016/j.seares.2017.01.005.
- Hall, J.S., 1994. Physical disturbance and marine benthic communities: life in unconsolidated sediments. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 32, 179–239.
- Katsiaras, N., Simboura, N., Tsangaris, C., Hatzianestis, I., Pavlidou, a., Kapsimalis, V., 2015. Impacts of dredged-material disposal on the coastal soft-bottom macrofauna, Saronikos Gulf, Greece. Sci. Total Environ 508, 320–330. https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2014.11.085.
- Ke, Z., Tan, Y., Huang, L., Zhao, C., Liu, H., 2016. Trophic structure of shrimp-trawl catches in the Pearl River estuary in winter, using stable isotope analyses. Aquat. Ecosys. Health Manag. 19, 468–475. https://doi.org/10.1080/14634988.2016. 1235456.
- Klapan, E., Welker, J., Kraus, M., McCourt, S., 1975. Some factors affecting the colonization of a dreged channel. Mar. Biol. 32, 193–204.
- Kon, K., Hoshino, Y., Kanou, K., Okazaki, D., Nakayama, S., Kohno, H., 2012. Importance of allochthonous material in benthic macrofaunal community functioning in estuarine salt marshes. Estuar. Coast Shelf Sci. 96, 236–244. https://doi.org/10.1016/j. ecss.2011.11.015.
- Kon, K., Tongnunui, P., Kurokura, H., 2015. Do allochthonous inputs represent an important food resource for benthic macrofaunal communities in tropical estuarine mudflats? Food Webs 2, 10–17. https://doi.org/10.1016/j.fooweb.2015.03.001.
- Llope, M., 2017. The ecosystem approach in the Gulf of Cadiz. A perspective from the southernmost European Atlantic regional sea. ICES J. Mar. Sci. 74, 382–390. https:// doi.org/10.1093/icesjms/fsw165.
- Long, E.R., Macdonald, D.D., Smith, S.L., Calder, F.D., 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. Environ. Manag. 19, 81–97. https://doi.org/10.1007/BF02472006. Losada, M.A., Díez-Minguito, M., Reyes-Merlo, M., 2017. Tidal-fluvial interaction in the
- Losada, M.A., Díez-Minguito, M., Reyes-Merlo, M., 2017. Tidal-fluvial interaction in the Guadalquivir River Estuary: spatial and frequency-dependent response of currents and water levels. J. Geophys. Res. Ocean 122, 847–865. https://doi.org/10.1002/ 2016JC011984.
- Modéran, J., David, V., Bouvais, P., Richard, P., Fichet, D., 2012. Organic matter exploitation in a highly turbid environment: planktonic food web in the Charente estuary, France. Estuar. Coast Shelf Sci. 98, 126–137. https://doi.org/10.1016/j.ecss. 2011.12.018.
- Morrisey, D.J., Turner, S.J., Mills, G.N., Williamson, R.B., Wise, B.E., 2003. Factors affecting the distribution of benthic macrofauna in estuaries contaminated by urban runoff. Mar. Environ. Res. 55, 113–136.
- Newell, R.C., Seiderer, L.J., Hitchcock, D.R., 1998. The impact of dredging works in coastal waters: a review of the sensitivity to disturbance and subsequent recovery of biological resources on the sea bed. Oceanogr. Mar. Biol. 36, 127–178.
- Ponti, M., Pasteris, A., Guerra, R., Abbiati, M., 2009. Impacts of maintenance channel dredging in a northern Adriatic coastal lagoon. II: effects on macrobenthic assemblages in channels and ponds. Estuar. Coast Shelf Sci. 85, 143–150. https://doi.org/ 10.1016/j.ecss.2009.06.027.
- Post, D.M., Takimoto, G., 2007. Proximate structural mechanisms for variation in foodchain length. Oikos 116, 775–782. https://doi.org/10.1111/j.2007.0030-1299. 15552.x.
- Rehitha, T.V., Ullas, N., Vineetha, G., Benny, P.Y., Madhu, N.V., Revichandran, C., 2017. Impact of maintenance dredging on macrobenthic community structure of a tropical estuary. Ocean Coast Manag. 144, 71–82. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman. 2017.04.020.

- Marine Environmental Research 140 (2018) 455–467
- Ray, G.C., 2006. The coastal realm's environmental debt. Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst. 16, 1–4. https://doi.org/10.1002/aqc.764.
- Ruiz, F., 2001. Trace metals in estuarine sediments from the southwestern Spanish coast. Mar. Pollut. Bull. 42, 482–490.
- Ruiz, J., Polo, M.J., Díez-minguito, M., Morris, E.P., Díez-minguito, M., Navarro, G., Morris, E.P., Huertas, E., Caballero, I., Contreras, E., Losada, M.A., 2015. The Guadalquivir Estuary: a Hot Spot for Environmental and Human Conflicts. https:// doi.org/10.1007/978-3-319-06305-8.
- Sánchez-Moyano, J.E., Estacio, F.J., García-Adiego, E.M., García-Gómez, J.C., 2004. Dredging impact on the benthic community of an unaltered inlet in southern Spain. Helgol. Mar. Res. 58, 32–39. https://doi.org/10.1007/s10152-003-0166-y.
- Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., 2010. Crustacean assemblages in a polluted estuary from South-Western Spain. Mar. Pollut. Bull. 60, 1890–1897. https://doi.org/ 10.1016/j.marpolbul.2010.07.016.
- Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Donázar-Aramendía, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2017. BENFES, a new biotic index for assessing ecological status of soft-bottom communities. Towards a lower taxonomic complexity, greater reliability and less effort. Mar. Environ. Res. 1–10. https://doi.org/10.1016/j.marenvres. 2017.10.014.
- Scyphers, S.B., Powers, S.P., Heck, K.L., Byron, D., 2011. Oyster reefs as natural breakwaters mitigate shoreline loss and facilitate fisheries. PLoS One 6. https://doi.org/ 10.1371/journal.pone.0022396.
- Selleslagh, J., Blanchet, H., Bachelet, G., Lobry, J., 2015. Feeding habitats, connectivity and origin of organic matter supporting fish populations in an estuary with a reduced intertidal area assessed by stable isotope analysis. Estuar. Coast 1431–1447. https:// doi.org/10.1007/s12237-014-9911-5.
- Simonini, R., Ansaloni, I., Cavallini, F., Graziosi, F., Iotti, M., Massamba N'Siala, G., Mauri, M., Montanari, G., Preti, M., Prevedelli, D., 2005. Effects of long-term dumping of harbor-dredged material on macrozoobenthos at four disposal sites along the Emilia-Romagna coast (Northern Adriatic Sea, Italy). Mar. Pollut. Bull. 50, 1595–1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.031.
- Taglialatela, S., Ruiz, J., Prieto, L., Navarro, G., 2014. Seasonal forcing of image-analysed mesozooplankton community composition along the salinity gradient of the Guadalquivir estuary. Estuar. Coast Shelf Sci. 149, 244–254. https://doi.org/10. 1016/j.ecss.2014.08.021.
- Taupp, T., Wetzel, M. a, 2013. Relocation of dredged material in estuaries under the aspect of the Water Framework Directive—a comparison of benthic quality indicators at dumping areas in the Elbe estuary. Ecol. Indicat. 34, 323–331. https://doi.org/10. 1016/j.ecolind.2013.05.008.
- Thrush, S.F., Dayton, P.K., 2002. Disturbance to marine benthic habitats by trawling and dredging: implications for marine biodiversity. Annu. Rev. Ecol. Systemat. 33, 449–473. https://doi.org/DOI 10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150515.
- Tornero, V., Arias, A.M., Blasco, J., 2014. Trace element contamination in the Guadalquivir River Estuary ten years after the Aznalcóllar mine spill. Mar. Pollut. Bull. 86, 349–360. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.044.
- Trask, P.D., 1950. Applied Sedimentation. John Wiley and Sons Inc, New York, NY, pp. 707.
- Underwood, A., 1991. Beyond BACI: experimental designs for detecting human environmental impacts on temporal variations in natural populations. Mar. Freshw. Res. 42 (569). https://doi.org/10.1071/MF9910569.
- Underwood, A.J., 1994. On beyond BACI: sampling designs that might reliably detect environmental disturbances. Author (s): A. J. Underwood Published by: Ecological Society of America stable URL: http://www.jstor.org/stable/1942110. ON BEYOND BACI: SAMPLING DESIGNS THAT. Ecol. Appl. 4, 3–15. https://doi.org/10.2307/ 1942110.
- Van De Merwe, J.P., Lee, S.Y., Connolly, R.M., Pitt, K.A., Steven, A.D.L., 2016. Assessing temporal and spatial trends in estuarine nutrient dynamics using a multi-species stable isotope approach. Ecol. Indicat. 67, 338–345. https://doi.org/10.1016/j. ecolind.2016.02.058.
- Van Dolah, R.F., Calder, D.R., Knott, D.M., 1984. Effects of dredging and open-water disposal on benthic macroinvertebrates in a South Carolina estuary. Estuaries 7, 28–37. https://doi.org/10.2307/1351954.
- Vilas, C., Drake, P., Fockedey, N., 2008. Feeding preferences of estuarine mysids Neomysis integer and Rhopalophthalmus tartessicus in a temperate estuary (Guadalquivir Estuary, SW Spain). Estuar. Coast Shelf Sci. 77, 345–356. https://doi. org/10.1016/j.ecss.2007.09.025.
- Vinagre, P.A., Pais-Costa, A.J., Marques, J.C., Neto, J.M., 2015. Setting reference conditions for mesohaline and oligohaline macroinvertebrate communities sensu WFD: helping to define achievable scenarios in basin management plans. Ecol. Indicat. 56, 171–183. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.04.008.
- Wasserman, J.C., Wasserman, M.A.V., Barrocas, P.R.G., Almeida, A.M., 2016. Predicting pollutant concentrations in the water column during dredging operations: implications for sediment quality criteria. Mar. Pollut. Bull. 108, 24–32. https://doi.org/10. 1016/j.marpolbul.2016.05.005.
- Wetzel, M. a., Wahrendorf, D.S., von der Ohe, P.C., 2013. Sediment pollution in the Elbe estuary and its potential toxicity at different trophic levels. Sci. Total Environ. 449, 199–207. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.016.
- Wolf, W.J., 1983. Estuarine benthos. In: In: Ketchum, B.H. (Ed.), Ecosystems of the World. Estuaries and Enclosed Seas, vol. 26. Elsevier, Amsterdam, pp. 337–374.

Contents lists available at ScienceDirect





Marine Environmental Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/marenvrev

## Impact of dredged-material disposal on soft-bottom communities in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain



I. Donázar-Aramendía\*, J.E. Sánchez-Moyano, I. García-Asencio, J.M. Miró, C. Megina, J.C. García-Gómez

Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R+D+I Biological Research Area, Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012. Sevilla. Spain

#### ARTICLE INFO ABSTRACT Keywords: This study assesses the effects of dredged material disposal in a recurrent marine dump near the Guadalquivir Disposal Estuary (south-western Spain). We compared the changes observed with two reference areas combining a Macrobenthic community classical ecological approach with new stable isotope techniques to analyse trophic structure. We detected Stable isotopes permanent changes in the macrofaunal community structure as well as in the diversity and biotic indices applied, Food web which showed higher values in the disposal area. The community in the marine dump had lost the natural

event, merging different functional and structural approaches.

## 1. Introduction

Gulf of Cadiz

Both dredging and the dumping of dredged material are common practices around the world and are one of the most serious environmental concerns for coastal management (Marmin et al., 2016; Moog et al., 2015; Van Dolah et al., 1984). These practices are particularly developed in estuaries where sedimentation patterns are high and may be accelerated by human activities (Cesar et al., 2014). However, dredging is essential to maintain security in navigation and to support trade and economic sustainability (OSPAR, 2008; Bates et al., 2015). Although relocation of dredged material is one of the most important concerns in those activities, much of the material dredged is still disposed at sea for economic reasons (Harvey et al., 1998; Katsiaras et al., 2015; Tornero and Hanke, 2016). Dredging and disposal of dredge material may cause environmental problems in coastal and marine areas, both physically and through contaminants (e.g. Bolam et al., 2006; Bolam and Rees, 2003; Cesar et al., 2014; Fredette and French, 2004; Guerra et al., 2009, 2007; OSPAR, 2008). Within the implementation of the European Water Framework Directive, the improvement of our knowledge of human impacts is critical for marine management and conservation (Marmin et al., 2016).

Effects of dumping on coastal ecosystems depend on several factors, such as the disposal method, the amount of sediment disposed, the physical and chemical characteristics of the dredged and receiving sediment, depth, the oceanographic and sedimentary conditions of the receiving habitat, season and the adaptations and composition of the inhabitant community (Katsiaras et al., 2015; Simonini et al., 2005b, and references therein). Dredged material disposal may affect marine organisms through physical alterations such as the smothering of the sea bottom, in addition to increased turbidity and enrichment of pollutant, organic matter and nutrient concentrations in the sediment, among other impacts (Cesar et al., 2014, and references therein). Furthermore, these impacts may lead to important habitat changes through long term effects (Powilleit et al., 2009). Benthic macrofauna are the organisms that are most sensitive to these impacts because of their relative immobility (Simonini et al., 2005b; Taupp and Wetzel, 2013). However, effects on primary production and changes in species composition can have an impact on the whole food web structure (Pezy et al., 2017). Nutrient inputs often affect the basal resources, sometimes converting a complex food web to a more homogeneous system (Rooney et al., 2008). Analysing community trophic structure is one way to assess the nature and magnitude of human impacts (Hussey et al., 2014).

temporal variations observed in the reference areas. These effects could be due to the last disposal event carried out in the summer of 2015 or to the recurrent disposals since 2010. Despite the structural changes shown by the benthic community, these impacts were not reflected in the food web structure of the marine dump. Our results confirm the high variability of disposal disturbances. Hence, we recommend performing studies in every disposal

> When a potential anthropogenic disturbance is repeated over time, the recurrence of this event is also an important factor too (Glasby and Underwood, 1996; Villnäs et al., 2013). On the first hand, sediment

https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.05.010

0141-1136/ © 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

<sup>&</sup>lt;sup>\*</sup> Corresponding author. E-mail address: idonazar@us.es (I. Donázar-Aramendía).

Received 6 February 2018; Received in revised form 25 April 2018; Accepted 4 May 2018 Available online 07 May 2018

disposal after dredging operations can be consider a short-term or "pulse" disturbance, in the sense outlined by Glasby and Underwood (1996). On the other hand, the sediment disposed, if it differs from the native sediment, may constitute permanent or a long-term change in the affected habitat. Recurrent sediment disposal operations and the accumulation of dredged material could generate a series of short-term responses in the biological community, followed by a recovery (to some extent) and convergence to a previous state, a permanent change or a combination of these two processes (Underwood, 1994).

There are several studies addressing the effects of disposal in offshore environments (e.g. Smith and Rule, 2001; Stronkhorst et al., 2003; Zimmerman et al., 2003; Simonini et al., 2005b; Ware et al., 2010; Bolam et al., 2011; Bolam, 2012; Taupp and Wetzel, 2013; Cesar et al., 2014; Katsiaras et al., 2015; Marmin et al., 2016). However, several authors have highlighted the divergent results obtained in disposal impact studies and concluded that the potential environmental effects must be evaluated case by case (Bolam et al., 2006; Bolam and Rees, 2003; Harvey et al., 1998; Katsiaras et al., 2015; OSPAR, 2008; Simonini et al., 2005b). Furthermore, to our knowledge, the effects of disposal of a recurrent and active marine dump on the benthic community have not been widely studied (Bolam et al., 2011). In addition, the impact of sediment disposal on the food web has been studied even less (e.g. Pezy et al., 2017).

In this study we evaluated the impact of dredge sediment deposition on a recurrent marine disposal area in south-western Spain. The Guadalquivir estuary provides access to Seville harbour, the only inland harbour in the Iberian Peninsula, through a 90-km long navigation channel. The strongly modified course and sedimentary dynamics made some dredging work necessary every few years to maintain navigability (Díez-Minguito, 2012). Part of the sediment dredged along the channel is brought ashore for storage, while the other part goes to beach nourishment and some is disposed in an authorised marine area established in 2010. We compared the changes observed in the disposal area with two nearby control areas. Specifically, this study is focused on the following objectives: (i) to assess the response of the benthic community to recurrent sediment discharges (ii) to evaluate the effect of the most recent disposal event (iii) to determinate the effects on the food web structure and (iv) to describe the temporal variation of a biological community in a recurrently stressed area.

## 2. Material and methods

## 2.1. Study area

The marine disposal area is situated five miles offshore in an open water area in front of the river mouth of the Guadalquivir estuary, south-western Spain (Fig. 1). The bottom is 20 m in depth. Sediments are mainly composed of fine sand and mud and are affected by terrigenous inputs of the Guadalquivir River and the hydrodynamic conditions of the Gulf of Cádiz, with predominant east-ward currents (Sainz and Ruiz, 2006). These currents are derived from the North Atlantic surface waters and have the greatest effect on the sediment distribution (Sainz and Ruiz, 2006). The marine dump has a rectangular shape with a surface of 66.26 ha (Fig. 1). The sea bottom near this area has similar sedimentary characteristics (Gonzalez and Dias, 2004) and biological communities (Fa et al., 2003). This dump has been receiving dredge material from harbours and the Guadalquivir estuary in four events since 2010 (2010: 338.652 m<sup>3</sup>, 2011: 353.488 m<sup>3</sup>, 2013: 354.795 m<sup>3</sup> and 2015: present study), (data from Autoridad Portuaria de Sevilla (APS)).

From mid-august to the first week of September 2015, dredging operations for maintenance of the navigation channel of the Guadalquivir estuary and Bonanza port were performed and  $314.275 \text{ m}^3$  of the extracted sediment was discharged in the disposal area.

#### 2.2. Sampling design

Three sampling areas were established in the same environment: one within the marine disposal area (DA) and two controls located approximately three miles from the affected area ( $C_1$  and  $C_2$ ) (Fig. 1). Controls were located at the same depth in a very similar area with equal hydrological and geomorphic characteristics (Sainz and Ruiz, 2006). Distances between controls and the disposal area were enough to avoid any possible impacts. In total, five sampling surveys were carried out: twice before the last dumping event (to test the previous affections of the recurrent disposals) and three times after the last disposal event of summer 2015 (to analyse both effects of this last perturbation and the temporal variation of the system). Before: June and July 2015. After: October 2015 (one month after the last disposal event), March and August 2016, (6 and 12 months after the event, respectively).

At each control and disposal area, three stations were randomly placed. In each station, three samples were taken for macrofaunal analysis with a van Veen grab  $(0.15 \text{ m}^2 \text{ total sampling area per station and date})$ . For posterior analysis, all stations were considered replicates of each area. Macrofaunal samples were sieved through a 0.5 mm size mesh. Infauna was preserved in ethanol (70%), and stained with Rose Bengal for subsequent identification and quantification to species level where possible. A sediment sample was taken for granulometric analysis. Grain size distribution was measured as percentages of 100 gr of dry sediment sieved through a sieve net (5 mm, 2 mm, 1 mm, 0.5 mm, 0.250 mm, 0.125 mm, 0.063 mm).

For the isotope analysis of carbon and nitrogen, fauna were collected in three of the five surveys (June 2015, October 2015 and August 2016) with a van Veen grab  $(0.05 \text{ m}^2)$  and an epibenthic sledge (46  $\times$  25 cm, 2.5 mm net mesh size). The number of samples was sufficient to obtain a representative number of species of the benthic community. All samples were sieved by 0.5 mm mesh sieve and organisms were sorted by species, transferred to the laboratory in refrigerated containers and kept alive for 24 h to evacuate their gut content. In order to determine the isotopic composition of sediment organic matter (SOM), sediment was taken from the upper 2 cm of a van Veen grab sample. In the lab, species identification was confirmed and fauna were rinsed in distilled water. Muscle tissue samples of fish and molluscs were dissected. A pool of several organisms was used when the individuals had low biomass values (< 0.3 mg dry weight). Organisms were dried at 60 °C for at least 48 h and ground to a powder. Sediment samples were acidified with 0.1 M HCl to remove carbonates, and were then oven dried at 60 °C. Subsamples of powdered materials were weighed to the nearest 0.3 mg and placed into tin capsules for  $\delta^{\,13}C$  and  $\delta$   $^{15}N$  determinations. All samples were combusted at 1020  $^\circ C$  using a continuous-flow isotope-ratio mass spectrometry system by means of Flash HT Plus elemental analyser coupled to a Delta-V Advantage isotope ratio mass spectrometer via a CONFLO IV interface (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany). From the obtained results we performed a descriptive approach to the food web structure in the three areas by means of isospace plots based on carbon and nitrogen isotopic signatures (Fry, 2006). Species selected were those that appeared both in the disposal and control areas and in the three surveys.

## 2.3. Data analysis

At disposal and control areas, univariate measures such as species richness (as number of taxa, S), Shannon's diversity index (H' based on log e) and total abundance (as ind/m<sup>2</sup>, N), were calculated. Ecological quality status (EQS) was also assessed through the biotic indices AMBI (Borja et al., 2000), BENTIX (Simboura and Argyrou, 2010; Simboura and Zenetos, 2002) and BENFES (Sánchez-Moyano et al., 2017). The biotic indices are based on the assignation of ecological groups according to the sensitivity or tolerance toward to anthropogenic disturbances (Ponti et al., 2009). All indices were calculated for each station. AMBI and BENTIX are based on the relative abundance of



Fig. 1. Location of the disposal and control areas.

species, and BENFES is based on presence/absence and identification at family level.

To examine the dumping effects in the study area, a Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA) (Anderson, 2001) based on Euclidian similarity matrices of S, N and H' indices using 9999 permutations was performed. When the number of total possible permutations to obtain the p-values were low, we used the estimate obtained by Monte Carlo sampling (Anderson and Robinson, 2003). The experimental design included two crossed fixed factors: "Impact vs Control" with two levels (Impact and Control) and "Time" with two levels (Before and After the last dumping event). The design also included two random factors: "Area" nested within "Impact vs Control" with three levels (DA, C1, C2) and the sampling dates "Dates" nested within "Time" with five levels (Jun 15, Jul 15, Oct 15, Mar 16 and Aug 16).

The results of the multivariate communities' assemblages were also investigated using a PERMANOVA analysis, with the same experimental design as above, based on the Bray-Curtis similarity matrix from the square root transformed abundance sets. When the saturated model (with all explained terms included in the model) generated negative estimates of some components of variation (this indicates that the model in turn is a poor one, according to Anderson et al., 2008), a model selection was performed by excluding the affected terms, one by one, beginning with those of higher order (interactions), and provided that their p values were higher than 0.25 (Anderson et al., 2008). Following this process with all the analyses performed here (both the multivariate and the univariate PERMANOVA), the factor "Area" and its interactions with "Dates" and with "Time" were excluded from all four models. It is important to notice that "Area" is nested within "Impact vs Control" and, given the asymmetric design of this study (there are no replicated areas within "Impact" level), this term only estimates the variance between the two control areas (Anderson et al., 2008), which was negligible in this study. The analysis presented here does not include these terms. Significant interactions, if detected, were further explored in separate analyses, within the levels of the interacting factors; i.e. the significant interactions between "Impact vs Control" and "Dates" were further analysed separately by disposal area and the control area.



Fig. 2. Patterns of variation of the %Fines and univariate indices (S, N, H') in the three areas across the sampling dates. Vertical bars represent ± Standard error.

Macrobenthic communities were also examined by a non-metric multidimensional scaling ordination (nMDS) based on the Bray-Curtis similarity index. SIMPER analysis was used to identify the species contributing most to any observed spatial or temporal pattern in the communities (Clarke, 1993).

All analysis and data visualisations were performed using the statistical software package PRIMER version 6 and SPSS version 24.

## 3. Results

Sedimentary analysis showed that the disposal area had lower % fines (fraction lower than 0.063 mm) than the control areas (Fig. 2). This difference remained across all sampling dates. On the other hand, biological analysis showed a total of 21,899 individuals in 128 species belonging to the phyla Annelida, Arthropoda, Mollusca, Echino-dermata, Chordata, Platyhelminthes and Nemertea across the sampling dates. We did not find any predominant group except for some increments of particular species in all stations. For example, in October 2015 an increment of Arthropoda abundance was observed. The species with the maximum-recorded abundance per station were the polychaetes *Magelona papillicornis* (813 ind/m<sup>2</sup>) and *Sternaspis scutata* (307 ind/m<sup>2</sup>), the tanaidacean *Apseudopsis latreillii* (6313 ind/m<sup>2</sup>) and the decapod *Upogebia tipica* (467 ind/m<sup>2</sup>), and molluscs *Turritella turbona* (60 ind/

 $m^2$ ) and Corbula gibba (800 ind/ $m^2$ ).

Percentage of fines, Shannon's diversity index, Richness and Total Abundance (ind/m<sup>2</sup>) differences are shown in Fig. 2 and Table 1. As mentioned earlier, PERMANOVA analysis of univariate indices showed that there were no differences in the three indices between the two control areas despite the distance between them. PERMANOVA results of the univariate indices also showed that the disposal area had significantly ("Impact vs Control", p < 0.0001) higher values of richness and Shannon's diversity than controls. Differences between areas remained over all the sampling surveys. Total abundance did not show significant differences between controls and disposal area, however we detected a different pattern of variation over the surveys in the disposal area than in controls (Impact vs Control x Dates, p < 0.0001). PER-MANOVA analysis of separated samples of the disposal area did not show significant differences between dates (p = 0.4485). On the contrary, there was a significant difference (p < 0.0001) in the controls between sampling dates. In October 2016, a high number of individuals of the tanaid Apseudopsis latreillii occurred in the control areas (Fig. 3). More than 5000  $ind/m^2$  of this species were found in the control areas while this increase was lower in the disposal area ( $< 3000 \text{ ind/m}^2$ ).

The mean of biotic indices per area are shown in Table 2. The disposal area showed higher values (lower for AMBI) than control areas. However, limits of the ecological statuses for the AMBI and BENFES did

#### Table 1

Univariate PERMANOVA results in the study areas based on the Euclidian similarity matrix of the richness data (S), Shannon's diversity (H') and total abundance (ind/m<sup>2</sup>) (N). \*p estimation obtained by Monte Carlo sampling.

	df	MS	Pseudo-F	p	Unique perms
S					
Impact vs Control	1	1470.20	58.96	0.0074	9555
Time	1	146.22	5.07	0.1081*	10
Dates (Time)	3	28.84	0.86	0.47	9951
Impact vs Control x Time	1	79.35	3.18	0.1721	9549
Impact vs Control x Dates (Time)	3	24.94	0.74	0.5343	9935
Res	35	33.44			
Total	44				
N					
Impact vs Control	1	8.00E + 05	0.12	0.7558	9545
Time	1	3.07E + 06	0.72	0.7241*	10
Dates (Time)	3	1.95E + 07	33.44	0.0001	9960
Impact vs Control x Time	1	1.93E + 06	0.28	0.6651	9568
Impact vs Control x Dates	3	6.78E + 06	11.59	0.0001	9952
(Time)					
Res	35	5.85E + 05			
Total	44				
H'					
Impact vs Control	1	4.309	104.9	0.0051	9812
Time	1	0.133	8.21E-02	0.79*	10
Dates (Time)	3	1.63	17.42	0.0001	9953
Impact vs Control x Time	1	0.343	8.34	0.0697	9854
Impact vs Control x Dates	3	4.11E-02	0.44	0.7343	
(Time)					
Res	35	9.33E-02			
Total	44				



Fig. 3. Abundance of the tanaid *Apseudopsis latreillii* across the sampling surveys. Vertical bars represent  $\pm$  Standard error.



**Fig. 4.** MDS of the distance among centroids resemblance for the factor Area x Dates, with representation based on the abundance of the different species.

not allow for the differentiation between areas or dates. AMBI showed a "Good" ecological status in all the areas across the sampling dates. BENFES showed a "High" status in all areas except in C1 in August 2016. Only BENTIX showed a "Good" ecological status in the disposal area in all the surveys and "Moderate "in October 2015. Control areas showed a "Moderate" status of this index in June, July and October 2015.

The MDS plot showed different tendencies between the areas (Fig. 4). There were similar communities in the two control areas, with clear temporal differences. However, the community in DA was clearly separated from the controls, even before the most recent disposal event, and showed a fuzzy temporal variability.

PERMANOVA results for the community analysis again showed no differences between the two control areas. Results also showed significant differences between the community of the disposal area and controls (p = 0.0205) (Table 3). It must be noted that the pseudo-F for this term (Impact vs Control) is constructed using the mean squared of the interaction term "Impact vs Control x Dates" and provides a test for its significance over and above the potential variability in the effect among sampling dates; it is interpretable as significant even if the interaction between factors "Dates" and "Impact vs Control" were also significant (p = 0.0024). Instead, the results did not show a significant interaction between "Time" and "Impact vs Control" (p = 0.4388). These results indicate a different pattern of change in the control and the disposal area across the sampling dates, but not globally before and after the sediment disposal on October 2015. PERMANOVA results of the separated analysis of the disposal area showed no significant differences (p = 0.1027) across the sampling dates. Conversely, there were different significant community structures in the controls across the sampling dates (p < 0.0001).

SIMPER analysis (Table S1) showed dissimilarities between controls and the disposal area for each sampling date. Before the last dumping event, differences were mostly due to the higher abundance of the tanaid *Apseudopsis latreillii* and the polychaete *Sternaspis scutata* in the controls, and the polychaetes *Magelona papillicornis, Spiophanes kroyeri, Nepthys hombergii, Sigambra parva,* two species of the genus *Mediocorophium* and the cumacean *Eudorella truncatula* in the disposal area.

SIMPER analysis comparing dates within controls (Table S2) showed that differences between June and July 2015 were, firstly, due to several species, such as *A. latreillii* and the mollusc *Hyala vitrea*,

#### Table 2

Results of the biotic indices AMBI, BENFES and BENTIX. Ecological Quality Status (EQS): Blue = "High", Green = "Good", Yellow = "Moderate".

		Jun 15			Jul 15			Oct 15			Mar 16			Aug 16	3
	DA	C1	C2												
AMBI	1.9	2.4	2.6	2.1	2.4	2.6	2.4	2.6	2.7	1.7	2.6	2.4	2.2	2.7	2.5
BENFES	174.0	124.7	108.3	158.0	113.3	117.3	148.3	117.0	124.7	146.3	100.7	113.6	152.7	98.3	117.7
BENTIX	4.0	3.3	3.0	3.8	3.1	3.0	3.2	2.7	2.6	4.4	3.4	3.5	3.9	3.5	4.0

#### Table 3

PERMANOVA results of the Bray-Curtis similarity matrix based of the square root transformed data. \*p estimation obtained by Monte Carlo sampling.

	df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms
Impact vs Control	1	5635	6.3079	0.0205	9626
Time	1	2113	1.0245	0.4368*	10
Dates (Time)	3	2062	4.4828	0.0001	9881
Impact vs Controlx Time	1	949.63	1.063	0.4388	9648
Impact vs Controlx Dates (Time)	3	893.37	1.9422	0.0024	9873
Res	35	459.99			
Total	44				

which began to increase their abundance in July 2015. Secondly, new species such as *U. tipica* and the bivalve *Hemilepton nitidum* occurred in this last month. In October, the abundance of several species experienced a high increase (*A. latreillii, Aonides oxycephala, Capitella capitata, U. tipica, H. nitidum, H. vitrea*). In March 2016 the abundances of these species and others decreased to June 2015 levels. The polychaete *Terebellides stroemi* occurred in this month. In August 2016, abundances of some species increased while others decreased: e.g. *H. vitrea* and *C. gibba* began to increase while others, such as *A. latreillii, E. truncatula* and *T. stroemi* decreased.

On the other hand, in the disposal area (Table S3), SIMPER results showed that the most abundant species such as *A. latreillii* and *U. tipica* followed the same patterns as in the controls areas, but with a lower abundance increase. On the contrary, as with control areas, in October 2015, several species, such as *Mediocorophium sp., Spiophanes kroyerii* and *Lumbrineris latreillei*, suffered a decrease in their abundance. In March 2016 *A. latreilii* decreased while *U. tipica* remained at the same value until August 2016, where it practically disappeared from this area in addition to *H. nitidum*. A general increase in the abundance of other species was observed.

Isotope graphs showed practically no differences in food webs between the three areas (Fig. 5). The carbon isotope signal of SOM in the disposal area showed different signals over time, whilst these signals were similar over time in the control areas. The disposal area showed a more enriched carbon value in June 2015, which became depleted over time. Graphs also suggest that trophic interactions were similar in the three areas (Fig. 5). However, the species *Apseudopsis latreillii* presented a clear difference in the disposal area; the nitrogen signal experienced an increase in the most recent survey, while it remained at the same levels in the control areas.

## 4. Discussion

The community structure in the disposal area displayed marked differences in relation to the nearby environment. Shannon's diversity, richness and the biotic indices showed that the disposal area had developed a more diverse and rich community with higher EQS values than control areas established a few kilometres away. On the other hand, the most recent disposal event, carried out in the summer of 2015, seemed not to permanently affect to any of the indices measured, nor the community structure. Furthermore, other findings in this disposal area include the fact that the natural shifts in abundance and the community structure of the control areas were absent in the disposal area. However, it is difficult to establish whether these effects could be due to the most recent disposal event, or to the recurrent disposals since 2010. On the other hand, these effects on the community have not been reflected clearly in the trophic food web. Although isotopic sediment signals in the disposal area could be influenced by the historical disposals, the isospace occupied by all the organisms was similar in the three areas. This suggests the same use of basal resources, as well as the same trophic interactions over time. Only a tanaid species showed an important increase in their nitrogen value a year after the disposal.

Our results showed that univariate indices such as diversity and richness reflected the changes driven by the historical disposal operations over time better than the biotic indices AMBI and BENFES. Only, BENTIX was able to differentiate the EQS of the disposal area from the controls, however, it did not show any pattern across the sampling dates. This agrees with Simboura et al. (2007), who found that BENTIX was useful for assessing the long term trends of community health in a metalliferous waste dumping. Total abundance and the Shannon's diversity indices also assessed the temporal changes over the sampling dates more effectively. This agrees with Katsiaras et al. (2015) and Ware et al. (2009), who pointed out that most sensitive ecological indicators of dumping effects were richness and abundance rather than AMBI or BENTIX. On the other hand, Taupp and Wetzel (2013) found that species richness, Shannon's diversity and AMBI among others were able to reflect the effects of dumping in estuaries.

Most of the species found in the control areas are characteristic of muddy bottoms, while a mixture of species characterised by both sandy and muddy bottoms were observed in the disposal area. The latter could be explained by the translocation of species from the original dredged material and by the immigration of species from the surrounding muddy community. In a soft bottom, habitat variability and structure are considered as key factors in biodiversity patterns (Hewitt et al., 2008; Reise, 2002; Zajac, 2008), and, generally, it is widely accepted that environments that show a great range of structural components can support a larger number of species and greater abundance (Carvalho et al., 2017). The sea bottom in the control areas was characterised by a very stable sedimentary and hydrological environment, typical of areas close to the mouth of great rivers, and host a biocoenosis typical of coastal terrigenous muds (Bellan-Santini et al., 1994) or Amphiura assemblages according to other authors, such as Thorson (1957). Consequently, these areas show a well-defined animal assemblage, so that the higher diversity and species richness in the disposal area could be due to the increase in structural complexity by the regular addition of more complex sediments characterised by lower % of fines. Johnson and Frid (1995), found similar results and suggested that it appears to be consistent with predictions of the Intermediate Disturbance Hypothesis (IDH) proposed by Connell (1978).

Differences in the temporal variation of the abundance in the disposal area compared to the controls could be explained by two factors: (1) Changes suffered by this area over the years has modified the natural seasonality of the species or (2) The most recent disposal event could lead to physical and chemical disturbances, which affect the macrofaunal community. Disposal could affect seasonal recruitment, affecting the species abundance (Manning et al., 2014). In fact, SIMPER analysis showed a decrease in the abundance of some species in the disposal area after the disposal of 2015. Furthermore, significant interaction between "Impact vs Control" and "Dates" in the abundance analysis, as well as the community structure, indicated a possible effect on the impacted area. Analyses revealed no changes in the disposal area over the dates, while control areas showed natural differences.

According to a Before After Control Impact (Underwood, 1991), if the putatively impacted area had changed over time from before to after the most recent disposal event, with a different pattern when compared to the controls, it would mean a permanent impact from the most recent disposal event. However, the absence of any interaction between the factors "Impact vs Control" and "Time" indicated that there was not a permanent effect from the most recent disposal. The relatively high diversity, richness and abundance found after the disposal could be attributed to a gradual and homogenous deposition of dredge sediment over a relatively large area. The thin layer created would permit the survival of a high proportion of different species, as in the study carried out by Simonini et al. (2005b). Organisms have the capacity to burrow into the sediment in order to avoid burial, making them capable of tolerating these perturbations (Powilleit et al., 2009). This would be in accordance with Marmin et al. (2016), who proposed



Fig. 5.  $\delta$ 13C (x-axis) and  $\delta$ 15N (y-axis) means of the organisms collected in the Disposal area (upper), C1 (middle) and C2 (bottom). Arrows represents isotopic variation over the three sampling dates. Polychaetes have been separated for better visualisation (left column). The x-axis is not always on the same scale.

that more dispersive disposals over a wider area were recommended, rather than depositions at a single point. Furthermore, organisms situated in a perturbed zone present more resilience to perturbations (Bolam and Rees, 2003). Furthermore, a rapid recovery after a disposal has been attributed to the great potential of juvenile settlement and adult colonisation from the edges (Bolam and Rees, 2003; Fredette and French, 2004; Munari and Mistri, 2014).

Several studies have found recovery in disposal areas in terms of abundance, richness and diversity, but not in terms of the community structure (OSPAR, 2008). Changes in macrofaunal community structure have been reported in many disposal effect studies: (e.g. Harvey et al., 1998; Zimmerman et al., 2003; Witt et al., 2004; Bolam et al., 2006; Powilleit et al., 2006; Ware et al., 2010; Taupp and Wetzel, 2013; Munari and Mistri, 2014; Katsiaras et al., 2015). However, other studies, such as Roberts and Forrest (1999), Smith and Rule (2001), Stronkhorst et al. (2003), Simonini et al. (2005b) and Bolam et al. (2011), found scarce indication of impact in their respective disposal areas. Our results pointed to an influence of the dredge material disposal in terms of community structure and a lack of temporal variation in the disposal area. Conversely, the control areas showed a very similar community trend with significant temporal variations. This could again be related to the changes established by the periodic sediment input from maintenance dredging for channel navigation in the Guadalquivir River, or at least to the most recent disposal event in the summer of 2015.

Recovery patterns after a disturbance, such as dredging and disposal operations, seem to take different pathways in every study, and depend on several factors (Newell et al., 1998). Bolam and Rees (2003) pointed

out that communities of naturally stressed environments could recover better than more stable zones. Shallower zones with physical disturbances tend to take less than one year to recover in many cases, while deeper, more stable zones take more time to converge with the initial community structure. Despite the fact that an assessment of recovery in an on-going disposal area is difficult, our results are consistent with OSPAR (2008), where it was pointed out that community structure often fails to converge with natural reference areas. SIMPER analysis showed that one month after the last disposal event was the date with the highest similarity between the control and the disposal area. This could be explained by the decrease of some species in the disposal area that were contributing to these differences before. In this month, the abundance of some abundant species also increased in both control and disposal areas. Six months and a year after the summer 2015 disposal, the community structure of the disposal area showed more dissimilarity with the control areas. This was due to the different patterns of change in terms of species common to both the controls areas and the disposal area, and the appearance of species in the disposal area that were not present in the control areas.

The tanaid *Apseudopsis latreillii* was the main species contributing to the dissimilarity found between the disposal area and the control areas after the disposal of 2015. This organism did not experience such a pronounced increase in its abundance in the disposal area as it did in the two control areas. This species usually spawns during late summer and early autumn, reaching high densities in the soft bottoms of this geographical area (Sánchez-Moyano et al., 2007). de-la-Ossa-Carretero et al. (2010) indicated that *A. latreillii* responds to sewage disposal with a decrease in population density and, furthermore, smaller juvenile individuals appear to be particularly sensitive, since these individuals normally live near the surface and are more exposed to disturbance. Consequently, the coincidence of dumping with the reproductive peak may have adversely affected the populations of this species. However, another species that was very abundant among all studied areas was the decapod Upogebia tipica (and also, in smaller numbers, U. deltaura), which was not affected by the dumping. Upogebiidae usually need sandy and muddy substrates to construct long burrows (deeper than 20-30 cm) where they obtain shelter, protection from predators and appropriate conditions for feeding and reproduction (Coelho et al., 2000). Upogebia spp. occur in the coast of the Gulf of Cádiz between depths of 20 and 40 m and generally show a reproductive event during the spring-summer period with a planktonic larval phase of around three weeks (Pires et al., 2013). Their reproductive cycle prior to sediment disposal, and their deep burrows, could be the reasons why there were no differences between the control and the disposal areas. Similar results have been obtained with other abundant burrowing species, such as the polychaetes Lumbrineris latreilli, Nephthys hombergii and Sternaspis scutata.

Carbon isotopic signals of sediment in the disposal area could suggest a perturbation on the impacted area before the disposal of summer 2015 due to the periodical inputs of more carbon-enriched sediments from the estuary. However, this point was not reflected in the trophic food web, since analysed species showed similar carbon signal in the disposal area and in the two control areas. Since all species showed similar isotope signals over time, it suggests that the origin of organic matter was similar in the three areas. Furthermore, after the disposal in the summer of 2015, the isotopic signal of the sediment in the disposal area was similar to the control areas. Nitrogen isotopic values also suggested similar trophic niches for most organisms in the three areas across all sampling dates. However, Apseudopsis latreillii showed an important increase in their nitrogen values in the marine dump with respect to the control areas in the August 2016 survey. Variation in the tanaid isotopic signal could be attributed to the most recent disposal event, although more specific studies would be necessary to demonstrate this question. Change in diet composition is not immediately reflected by tissue isotopic values, which integrate trophic information over a certain period of time (Sampaio et al., 2010; Sweeting et al., 2005). This could explain the lack of differences in the October 2015 survey. Since there were no changes in nitrogen signal of the basal resources, increase in the nitrogen signal of that species could be explained by a change in the degree of trophic omnivory (Post and Takimoto, 2007). These results contrast with other studies where changes in the trophic structure of disposal impacted areas have been found (Bolam, 2012; Munari and Mistri, 2014; Pezy et al., 2017; Simonini et al., 2005a). However, these studies were focused on functional traits and secondary production rather than a stable isotopic approach.

## 5. Conclusion

The recurrent disposals constitute pulse disturbances, but repeated

## Supplementary data

Table S1

periodically, which could produce: (1) recurrent pulse or short-term responses in the biological community followed by a convergence towards the reference communities, (2) a permanent change or (3) a combination of these two effects (Underwood, 1994). The results of this study suggest that a permanent change exists. However, we cannot discard some short-term effects of most recent disposal event such as the affection of the recruitment of some species.

The impact of depositing dredge material in marine environments depends on various factors, such as the amount of sediment, dumping season, water depth, currents and similarity of dredge material and the native sediment (Powilleit et al., 2006: Marmin et al., 2014). For this reason, the impacts of dredge-material disposal are mostly site-specific (OSPAR, 2008). There are few studies assessing the effects of dumping in a historic marine dump with well-established macrofaunal communities such as Ware et al. (2009, 2010) for example. Our data suggest that in the disposal area, where a disposal operation occurs periodically, there have been changes that have affected biological characteristics permanently. Contrary to other studies, the continuous disposal of dredge material from the Guadalquivir estuary has increased richness and diversity indices, although these historical impacts, as well as the most recent disposal event, could have led to the natural loss of seasonality in the marine dump. Conversely, the food web has not been affected. Furthermore, disposal timing is an important factor to consider. To minimise the impact on soft-bottom communities, dredging and disposal operations should avoid the main reproduction and recruitment periods and be developed, where technical aspects make it possible, in winter months (Sánchez-Moyano et al., 2004; Ceia et al., 2013). Our results confirm the high variability of impacts due to disposal operations and confirm again the 'site-specific' character of these perturbations. We suggest that impact studies are needed in every disposal operation work across temporal and spatial scales. Classic approaches and new techniques are also required to assess the effects of these anthropogenic impacts at different levels in macrofaunal softbottom communities such as functional and trophic traits. Using stable isotope techniques to assess effects of these perturbations appears to be an interesting tool that has never been used in dredging and dumping studies.

## Acknowledgments

We thank Autoridad Portuaria de Sevilla (APS) and Acuario de Sevilla for financial and logistical support. This work was partially supported by the V Plan Propio Universidad de Sevilla via two predoctoral grants (I. Donázar-Aramendía, J.M. Miro). Isotopic analyses were carried out at the Laboratorio de Isótopos Estables of the Estación Biológica de Doñana (LIE-EBD, Spain; www.ebd.csic.es/lie/index. html). We thank Dr. Craig Layman for his invaluable help with stable isotope interpretation.

Average abundance (Av. Abund.) of the most relevant species of the Impact vs Control areas over all sampling dates. Species are listed in decreasing order according to their contribution to the average of the dissimilarity (Av. Diss.) between areas until 50% of the accumulated total similarity.

Impact vs Controls June 2015	I	С	Average dissimilarity: 44.52				
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%		
Apseudopsis latreillii	21.96	35.48	2.43	2.38	5.46		
Magelona papillicornis	16.02	7.66	1.78	1.57	4		
				(continue	ed on next page)		

## Table S1 (continued)

Impact vs Controls June 2015	Ι	С	Average diss	imilarity: 44.52	
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Hyala vitrea	7.07	7.9	1.56	1.54	3.5
Sternaspis scutata	7.33	13.02	1.55	2.8	3.49
Spiophanes kroyeri	11.39	2.47	1.52	1.62	3.41
Eudorella truncatula	17.11	9.2	1.5	2.31	3.37
Sigambra parva	11.94	3.84	1.44	1.86	3.23
Medicorophium runcicorne	7.58	5.55	1.05	3.26	2.35
Capitella capitata	7.49	9.88	1.04	1.26	2.33
Medicorophium aculeatum	4.3	2.15	1.01	0.77	2.28
Nephtys hombergii	11.21	6.73	0.8	0.97	1.8
Iphinoe tenella	4	0	0.79	2.21	1.76
Bodotria scorpioides	4.55	0	0.75	1.17	1.69
Glycera tesselata	5.76	1.65	0.75	1.8	1.69
Nassarius incrassatus	3.84	0	0.72	3.86	1.61
Microspio mecznikowianus	7.95	4.47	0.7	1.47	1.57
Upogebia tipica	3.8	0	0.69	5.3	1.56
Nemerteao	13.34	9.67	0.69	1.64	1.56
Aonides oxycephala	8.19	4.79	0.67	1.65	1.49
Oestergrenia digitata	4.32	4.56	0.65	1.67	1.47
Cheirocratus sundevalli	1.72	3.29	0.59	1.26	1.34

## Impact vs Controls July 2015 I

Average dissimilarity: 36.66

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Apseudopsis latreillii	30.66	38.92	2.02	1.23	5.5
Magelona papillicornis	13.67	7.77	1.38	1.61	3.77
Spiophanes kroyeri	7.95	1.47	1.34	2.72	3.66
Hyala vitrea	8.25	11.48	1.3	1.57	3.53
Nephtys hombergii	11.37	5.71	1.24	1.44	3.39
Lumbrineris latreilli	15.08	12.2	1.13	1.46	3.09
Eudorella truncatula	9.69	4.61	1.06	1.93	2.88
Sigambra parva	8.27	3.27	1.03	1.84	2.82
Medicorophium runcicorne	7.24	2.33	1.01	1.36	2.75
Glycera tesselata	5.49	1.29	0.89	2.67	2.42
Spisula subtruncata	4.55	0	0.86	0.69	2.36
Corbula gibba	11.19	7.11	0.86	1.49	2.34
Mysia undata	3.8	0	0.79	5.04	2.16
Phoronida	5.79	2.21	0.78	1.37	2.14
Sternaspis scutata	7.28	10.2	0.75	1.24	2.05
Nucula hanleyi	8.48	6.59	0.72	1.55	1.96
Turritella turbona	4.2	0.86	0.71	2.52	1.94
Urothoe grimaldii	3.33	0	0.69	1.32	1.88

С

## Impact vs Controls October 2015 I C

Average dissimilarity: 31.49

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Apseudopsis latreillii	48.98	71.95	4.28	1.36	13.59
Capitella capitata	3.93	13.35	1.71	2.32	5.43
Nephtys hombergii	11.6	6.33	0.96	1.14	3.06
Hemilepton nitidum	6.05	10.69	0.95	1.36	3.03
Upogebia tipica	11.94	10.46	0.88	1.23	2.79
Eudorella truncatula	3.93	8.32	0.87	1.42	2.78
Hyala vitrea	6.24	10.08	0.86	1.32	2.75
Lumbrineris latreilli	13.12	15.29	0.86	1.54	2.74
Sternaspis scutata	10.13	11.22	0.8	1.46	2.54
Phoronida	4.54	0.43	0.74	2.6	2.35
Corbula gibba	10.64	6.79	0.7	2.05	2.24
0				(con	tinued on next pag

## Table S1 (continued)

\_ \_

.

.

Impact vs Controls June 2015	I	С	Average dissimilarity: 44.52			
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	
Upogebia deltaura	2.35	6.03	0.67	1.66	2.14	
Turritella turbona	6.74	3.27	0.65	1.38	2.07	
Chamelea gallina	3.44	0	0.63	2.64	1.99	
Neanthes fucata	4.28	0.86	0.62	1.81	1.98	

С

#### Impact vs Controls March 2016 Ι

Average dissimilarity: 44.00

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Hemilepton nitidum	12.64	0.61	2.92	1.22	6.63
Upogebia tipica	12.84	1.67	2.88	1.34	6.53
Apseudopsis latreillii	21.73	28.68	2.59	1.78	5.88
Magelona papillicornis	10.99	7.1	1.98	2.06	4.49
Capitella capitata	6.44	13.48	1.82	1.53	4.14
Terebellides stroemii	0	6.71	1.55	5.04	3.51
Medicorophium runcicorne	7.61	1.9	1.33	2.12	3.01
Corbula gibba	8.16	3.43	1.1	1.91	2.51
Hyala vitrea	6.9	9.75	1.01	1.26	2.29
Amphiura chiajei	6.31	2.04	0.99	2.4	2.25
Urothoe grimaldii	4.7	0.43	0.99	3.92	2.24
Aonides oxycephala	11.19	7.2	0.94	1.97	2.14
Aricidea catherinae	1.72	5.1	0.87	1.67	1.98
Lagis koreni	3.65	0	0.84	15.35	1.91
Eudorella truncatula	9.06	6.91	0.78	1.37	1.78

С

Ι

## **Impact vs Controls August 2016**

Average dissimilarity: 42.01

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Anseudonsis latreillii	21.5	19.9	2.07	1.24	4.92
Corbula gibba	17.95	8.56	2.06	1.45	4.9
Magelona papillicornis	13.67	5.92	1.66	1.63	3.95
Aonides oxycephala	12.16	5.2	1.42	1.73	3.37
Nephtys hombergii	13.82	8.19	1.15	1.32	2.73
Eudorella truncatula	8.47	3.4	1.14	1.75	2.72
Spiophanes kroyeri	5.83	0.43	1.08	1.53	2.57
Hyala vitrea	10.01	11.45	1.05	1.46	2.5
Photis longicaudata	5.26	0.43	1.03	3.7	2.44
Lumbrineris latreilli	15.44	14.86	0.98	1.42	2.34
Medicorophium aculeatum	3.44	1.67	0.93	0.77	2.21
Glycera tesselata	8.07	3.47	0.91	1.4	2.16
Urothoe grimaldii	4.39	0.43	0.87	1.39	2.07
Phoronida	5.07	1.04	0.87	1.73	2.06
Thracia phaseolina	4.13	0	0.75	0.69	1.79
Nucula hanleyi	8.2	6.67	0.73	2.1	1.75
Phaxas pellucidus	3.65	0	0.73	1.36	1.75
Tellina cf. compressa	3.72	0	0.71	1.07	1.69
Capitella capitata	12.9	15.92	0.69	1.2	1.65
Cossura soyeri	2.94	0	0.68	1.33	1.62

Table S2

\_

Average abundance (Av. Abund.) of the most relevant species over the sampling dates of samples in the control areas. Species are listed in decreasing order according to their contribution to the average of the dissimilarity (Av. Diss.) between areas until 50% of the accumulated total similarity.

June vs July 2015	Jun	Jul	Average dissimilarity: 30.25		
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Apseudopsis latreillii	35.48	38.92	1.55	1.23	5.12
Hyala vitrea	7.9	11.48	1.43	1.18	4.71
Upogebia tipica	0	5.06	1.28	4.39	4.22
Eudorella truncatula	9.2	4.61	1.16	1.55	3.85
Capitella capitata	9.88	8.02	0.92	1.25	3.05
Ampelisca diadema	5.28	2.51	0.9	2.3	2.97
Hemilepton nitidum	0	3.53	0.89	1.72	2.94
Sternaspis scutata	13.02	10.2	0.86	1.49	2.84
Medicorophium runcicorne	5.55	2.33	0.8	1.96	2.66
Kurtiella bidentata	0	2.82	0.7	1.35	2.33
Magelona papillicornis	7.66	7.77	0.69	1.23	2.28
Microspio mecznikowianus	4.47	2.35	0.69	1.32	2.28
Nucula hanleyi	4.41	6.59	0.68	1.4	2.24
Turritella turbona	2.92	0.86	0.67	1.36	2.2
Cheirocratus sundevalli	3.29	2.64	0.65	1.36	2.16
Nemertea	9.67	7.44	0.64	1.49	2.11
Aonides oxycephala	4.79	2.51	0.62	1.26	2.06

June vs October 2015	Jun	Oct	Average dissi		
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Apseudopsis latreillii	35.48	71.95	7.46	4.53	20.64
Hemilepton nitidum	0	10.69	2.17	2.57	5.99
Upogebia tipica	0	10.46	2.11	1.81	5.83
Aonides oxycephala	4.79	11.28	1.33	1.99	3.68
Hyala vitrea	7.9	10.08	1.1	1.33	3.03
Nucula hanleyi	4.41	9.66	1.07	2.07	2.95
Leucothoe incisa	1.47	6.4	1.01	2.21	2.8
Capitella capitata	9.88	13.35	0.91	1.61	2.52
Ampelisca diadema	5.28	1.18	0.9	1.84	2.49
Sternaspis scutata	13.02	11.22	0.63	1.61	1.75

July vs October 2015	Jul	Oct	Average dissimilarity: 33.27		
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Apseudopsis latreillii	38.92	71.95	7.05	3.84	21.18
Aonides oxycephala	2.51	11.28	1.86	3.05	5.6
Hemilepton nitidum	3.53	10.69	1.53	1.63	4.61
Upogebia tipica	5.06	10.46	1.32	1.29	3.98
Capitella capitata	8.02	13.35	1.26	2.02	3.8
Leucothoe incisa	1.9	6.4	0.95	2.16	2.86
Hyala vitrea	11.48	10.08	0.9	1.19	2.71
Eudorella truncatula	4.61	8.32	0.84	1.57	2.52
Upogebia deltaura	2.26	6.03	0.79	1.65	2.38
Nucula hanleyi	6.59	9.66	0.74	1.44	2.23
October 2015 vs March 2016	Oct	Mar	Average dissimilarity: 37.58		
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Apseudopsis latreillii	71.95	28.68	9.29	5.73 (co	24.71 ntinued on next page)

## Table S2 (continued)

June vs July 2015	Jun	Jul	Average dissimilarity: 30.25		
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Hemilepton nitidum	10.69	0.61	2.14	2.34	5.69
Upogebia tipica	10.46	1.67	2.03	1.6	5.39
Upogebia deltaura	6.03	0	1.28	4.04	3.42
Sternaspis scutata	11.22	5.39	1.27	1.73	3.37
Leucothoe incisa	6.4	1.35	1.09	2.02	2.9
Hyala vitrea	10.08	9.75	1.01	1.39	2.68
Terebellides stroemii	2.21	6.71	0.97	2.04	2.59

## March 2016 vs August 2016MarAugAverage dissimilarity: 31.96

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Apseudopsis latreillii	28.68	19.9	2.67	1.41	8.34
Hyala vitrea	9.75	11.45	1.48	1.37	4.62
Corbula gibba	3.43	8.56	1.47	1.8	4.59
Terebellides stroemii	6.71	1.65	1.45	2.13	4.52
Eudorella truncatula	6.91	3.4	1.05	1.17	3.3
Kurtiella bidentata	0.61	4.15	1.05	1.31	3.27
Spiophanes kroyeri	3.82	0.43	0.97	1.4	3.02
Lumbrineris latreilli	12.96	14.86	0.93	1.44	2.9
Capitella capitata	13.48	15.92	0.92	1.22	2.88
Ampelisca diadema	2.76	5.71	0.82	1.4	2.58
Magelona papillicornis	7.1	5.92	0.81	1.14	2.54
Venus casina	0.43	3.08	0.77	1.7	2.41
Spiochaetopterus costarum	0.43	3.12	0.77	1.73	2.4
Upogebia tipica	1.67	1.92	0.76	0.8	2.39
Turritella turbona	2.82	0.43	0.75	1.34	2.33

## Table S3

.

\_

-

Average abundance (Av. Abund.) of the most relevant species over the sampling dates of samples in the disposal area. Species are listed in decreasing order according to their contribution to the average of the dissimilarity (Av. Diss.) between areas until 50% of the accumulated total similarity.

June vs July 2015	Jun	Jul	Average dissimilarity: 41.20		
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Apseudopsis latreillii	21.96	30.66	2.01	2.02	4.87
Magelona papillicornis	16.02	13.67	1.45	1.55	3.53
Hyala vitrea	7.07	8.25	1.45	1.63	3.52
Eudorella truncatula	17.11	9.69	1.25	2.3	3.04
Sternaspis scutata	7.33	7.28	1.2	1.76	2.92
Nephtys hombergii	11.21	11.37	1	1.55	2.44
Phoronida	0	5.79	0.96	2.49	2.32
Medicorophium runcicorne	7.58	7.24	0.95	1.51	2.3
Sigambra parva	11.94	8.27	0.83	1.76	2.02
Spisula subtruncata	2.72	4.55	0.83	0.89	2.02
Lumbrineris latreilli	14.2	15.08	0.8	1.58	1.94
Medicorophium aculeatum	4.3	0	0.8	0.66	1.93
Capitella capitata	7.49	7.88	0.79	1.57	1.92
Spiophanes kroyeri	11.39	7.95	0.79	0.98	1.91
Hemilepton nitidum	0	4.35	0.72	2.15	1.75
Iphinoe tenella	4	0	0.69	2.18	1.67
Bodotria scorpioides	4.55	0	0.67	1.12	1.63
Aonides oxycephala	8.19	4.07	0.64	2.05	1.56
Oestergrenia digitata	4.32	2.35	0.64	1.2	1.54
Nemertea	13.34	9.87	0.63	1.55	1.53
Nassarius incrassatus	3.84	2.43	0.62	3.32	1.5
				(coi	ntinued on next page)

## Table S3 (continued)

June vs July 2015	Jun	Jul	Average dissimilarity: 41.20		
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Ampelisca diadema	6.14	3.94	0.61	1.26	1.48
Nucula hanleyi	5.49	8.48	0.61	1.48	1.48

June vs October 2015	Jun	Oct	Average dissi		
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Apseudopsis latreillii	21.96	48.98	4.41	1.46	9.61
Eudorella truncatula	17.11	3.93	2.22	3.48	4.84
Magelona papillicornis	16.02	9.55	1.53	1.75	3.32
Upogebia tipica	3.8	11.94	1.39	3.4	3.03
Sternaspis scutata	7.33	10.13	1.27	1.54	2.76
Hyala vitrea	7.07	6.24	1.26	1.5	2.74
Spiophanes kroyeri	11.39	4.36	1.09	1.07	2.37
Medicorophium runcicorne	7.58	2.35	1.08	1.84	2.34
Hemilepton nitidum	0	6.05	1.02	2.92	2.21
Capitella capitata	7.49	3.93	1	1.65	2.18
Sigambra parva	11.94	6.35	0.95	1.65	2.07
Nephtys hombergii	11.21	11.6	0.92	1.2	2.01
Nemertea	13.34	8.01	0.9	2.19	1.95
Medicorophium aculeatum	4.3	0	0.81	0.67	1.76
Lumbrineris latreilli	14.2	13.12	0.79	1.67	1.71
Nucula hanleyi	5.49	9.99	0.78	2.89	1.69
Phoronida	0	4.54	0.76	3.19	1.66
Neanthes fucata	0	4.28	0.72	2.77	1.57
Iphinoe tenella	4	0	0.7	2.21	1.52

July vs October 2015	Jul	Oct	Average dissimilarity: 34.28
----------------------	-----	-----	------------------------------

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Apseudopsis latreillii	30.66	48.98	3.89	1.47	11.34
Upogebia tipica	4.07	11.94	1.45	2.09	4.24
Lumbrineris latreilli	15.08	13.12	1.15	1.38	3.34
Hyala vitrea	8.25	6.24	1.13	2.38	3.29
Eudorella truncatula	9.69	3.93	1.02	1.45	2.99
Nephtys hombergii	11.37	11.6	0.99	1.35	2.9
Magelona papillicornis	13.67	9.55	0.94	1.83	2.73
Medicorophium runcicorne	7.24	2.35	0.92	1.48	2.68
Aonides oxycephala	4.07	9.1	0.91	2.21	2.64
Sternaspis scutata	7.28	10.13	0.9	1.38	2.63
Spisula subtruncata	4.55	0.86	0.81	0.82	2.37
Capitella capitata	7.88	3.93	0.73	1.2	2.14
Spiophanes kroyeri	7.95	4.36	0.71	1.13	2.07
Mysia undata	3.8	0	0.68	4.66	1.98
Abra nitida	3.21	3.14	0.56	1.52	1.63
Ampelisca diadema	3.94	3.21	0.55	1.72	1.59

October 2015 vs March 2016	Oct Av.Abund	Mar Av.Abund	Average diss	imilarity: 38.99	
Species			Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Apseudopsis latreillii	48.98	21.73	5.47	1.54	14.02
Hemilepton nitidum	6.05	12.64	2.07	1.58	5.31
Upogebia tipica	11.94	12.84	1.71	2.61	4.38
Magelona papillicornis	9.55	10.99	1.5	1.73	3.86
Capitella capitata	3.93	6.44	1.07	1.24	2.74
Eudorella truncatula	3.93	9.06	1.03	1.48	2.65
				(4	continued on next page)

## Table S3 (continued)

June vs July 2015	Jun	Jul	Average dissimila	rity: 41.20	
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Sternaspis scutata	10.13	5.56	1.03	1.2	2.65
Medicorophium runcicorne	2.35	7.61	1	2.2	2.56
Lumbrineris latreilli	13.12	14.05	0.93	1.42	2.38
Nephtys hombergii	11.6	8.79	0.9	1.2	2.31
Sigambra parva	6.35	3.44	0.74	1.49	1.89
Chamelea gallina	3.44	0	0.66	2.56	1.7
Neanthes fucata	4.28	0.86	0.66	1.76	1.7
Nemertea	8.01	5.8	0.63	1.42	1.62
Leucothoe incisa	4.7	3.14	0.57	2.29	1.46

Aug

|--|

Av.Abund Diss/SD Contrib% Av.Abund Av.Diss Species Upogebia tipica 12.84 0.86 2.34 1.37 5.33 3.65 2.17 4.96 Hemilepton nitidum 12.64 1.12Apseudopsis latreillii 21.73 21.5 2.02 1.14 4.61 Corbula gibba 8.16 17.95 1.77 1.34 4.03 Magelona papillicornis 10.99 13.67 1.56 1.56 3.56 Capitella capitata 6.44 1.39 3.17 12.9 1.39 Nephtys hombergii 8.79 13.82 1.18 2.210.97Photis longicaudata 2.17 0 5.26 0.95 8.51 Aricidea catherinae 1.72 6.75 0.94 1.72 2.15 Hyala vitrea 6.9 10.01 0.93 1.7 2.12 Medicorophium runcicorne 7.61 3.44 0.91 1.46 2.07 Lumbrineris latreilli 14.05 15.44 0.86 1.49 1.96 Venus casina 1.225.37 0.78 1.97 1.78 Sigambra parva 3.44 6.85 0.78 1.49 1.78 Turritella turbona 4.16 0 0.77 5.02 1.75 Thracia phaseolina 0.864.13 0.73 0.83 1.65 Medicorophium aculeatum 0 3.44 1.61 0.71 0.67 Spiophanes kroyeri 6.48 5.83 0.7 4.35 1.6 Spisula subtruncata 1.723.33 0.67 1.23 1.53

## References

- Anderson, M., Gorley, R.N., Clarke, K., 2008. PERMANOVA+ for Primer: Guide to Software and Statistical Methods. Primer-E, Plymouth.
- Anderson, M.J., 2001. A New Method for Non-parametric Multivariate Analysis of Variance. pp. 32–46.
- Anderson, M.J., Robinson, J., 2003. Generalized discriminant analysis based on distances. Aust. N. Z. J. Stat. 45, 301–318.
- Bates, M.E., Fox-Lent, C., Seymour, L., Wender, B. a., Linkov, I., 2015. Life cycle assessment for dredged sediment placement strategies. Sci. Total Environ. 511, 309–318. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.003.
- Bellan-Santini, D., Lacaze, J.-C., Poizat, C., 1994. Les biocénoses marines et littorales de Méditerranée, synthèse, menaces et perspectives. Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.
- Bolam, S.G., 2012. Impacts of dredged material disposal on macrobenthic invertebrate communities: a comparison of structural and functional (secondary production) changes at disposal sites around England and Wales. Mar. Pollut. Bull. 64, 2199–2210. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.07.050.
- Bolan, S.G., Barry, J., Bolam, T., Mason, C., Rumney, H.S., Thain, J.E., Law, R.J., 2011. Impacts of maintenance dredged material disposal on macrobenthic structure and secondary productivity. Mar. Pollut. Bull. 62, 2230–2245. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2011.04.012.
- Bolam, S.G., Rees, H.L., 2003. Minimizing impacts of maintenance dredged material disposal in the coastal environment: a habitat approach. Environ. Manag. 32, 171–188. https://doi.org/10.1007/s00267-003-2998-2.
- Bolam, S.G., Rees, H.L., Somerfield, P., Smith, R., Clarke, K.R., Warwick, R.M., Atkins, M., Garnacho, E., 2006. Ecological consequences of dredged material disposal in the marine environment: a holistic assessment of activities around the England and Wales coastline. Mar. Pollut. Bull. 52, 415–426. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005. 09.028.
- Borja, A., Franco, J., Pérez, V., 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments.

Mar. Pollut. Bull. 40, 1100–1114. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00061-8. Carvalho, L.R.S., Loiola, M., Barros, F., 2017. Manipulating habitat complexity to understand its influence on benthic macrofauna. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 489, 48–57.

Average dissimilarity: 43.87

- https://doi.org/10.1016/j.jembe.2017.01.014.
  Ceia, F.R., Patrício, J., Franco, J., Pinto, R., Fernández-Boo, S., Losi, V., Marques, J.C., Neto, J.M., 2013. Assessment of estuarine macrobenthic assemblages and ecological quality status at a dredging site in a southern Europe estuary. Ocean Coast Manag. 72, 80–92. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2011.07.009.
- Cesar, A., Lia, L.R.B., Pereira, C.D.S., Santos, A.R., Cortez, F.S., Choueri, R.B., De Orte, M.R., Rachid, B.R.F., 2014. Environmental assessment of dredged sediment in the major Latin American seaport (Santos, São Paulo - Brazil): an integrated approach. Sci. Total Environ. 497–498, 679–687. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08. 037.
- Clarke, K.R., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. Austral Ecol. 18, 117–143. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993. tb00438.x.
- Coelho, V.R., Cooper, R.A., De Almeida Rodrigues, S., 2000. Burrow morphology and behavior of the mud shrimp Upogebia omissa (Decapoda:Thalassinidea:Upogebiidae). Mar. Ecol. Prog. Ser. 200, 229–240. https://doi.org/10.3354/meps200229.Connell, J.H., 1978. Diversity in tropical forests and coral reefs. Science 199, 1302–1310.
- de-la-Ossa-Carretero, J.A., Del-Pilar-Ruso, Y., Giménez-Casalduero, F., Sánchez-Lizaso, J.L., 2010. Sensitivity of tanaid Apseudes latreillei (Milne-Edwards) populations to sewage pollution. Mar. Environ. Res. 69, 309–317. https://doi.org/10.1016/j. marenvres.2009.12.005.
- Díez-Minguito, M., 2012. Tidal Wave Reflection from the Closure Dam in the Guadalquivir Estuary (Sw Spain). Coastal Engineering ..., pp. 1–8.
- Fa, D., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asensio, I., García-Gómez, J., Finlayson, C., Sheader, M., 2003. A comparative study of the marine ecoregions of the southern Iberian Peninsula, as identified from different coastal habitats. Bol. Inst. Esp. Oceanogr. 19, 135–147.
- Fredette, T.J., French, G.T., 2004. Understanding the physical and environmental consequences of dredged material disposal: history in New England and current perspectives. Mar. Pollut. Bull. 49, 93–102. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.

- Fry, B., 2006. Stable Isotope Ecology. Springer Science + Business Media, New York, NY. Glasby, T.M., Underwood, A.J., 1996. Sampling to differentiate between pulse and press perturbations. Environ. Monit. Assess. 42, 241–252. https://doi.org/10.1007/ BE00414371.
- Gonzalez, R., Dias, J.M.A., 2004. Sediment dispersal patterns on the northern Gulf of Cadiz shelf: which areas are influenced by anthropogenic sand starvation? J. Coast. Res. SI 39, 446–449.
- Guerra, R., Pasteris, A., Ponti, M., 2009. Impacts of maintenance channel dredging in a northern Adriatic coastal lagoon. I: effects on sediment properties, contamination and toxicity. Estuar. Coast Shelf Sci. 85, 134–142. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2009. 05.021.
- Guerra, R., Pasteris, A., Ponti, M., Fabbri, D., Bruzzi, L., 2007. Impact of dredging in a shallow coastal lagoon: Microtox\* Basic Solid-Phase Test, trace metals and Corophium bioassay. Environ. Int. 33, 469–473. https://doi.org/10.1016/j.envint. 2006.10.006.
- Harvey, M., Gauthier, D., Munro, J., 1998. Temporal Changes in the Composition and Abundance of the Macro-benthic Inver- tebrate Communities at Dredged Material Disposal Sites in the Anse h Beaufils, Baie des Chaleurs, Eastern Canada. Mar. Pollut. Bull. 36, 41–55. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(98)90031-5.
- Hewitt, J.E., Thrush, S.F., Dayton, P.D., 2008. Habitat variation, species diversity and ecological functioning in a marine system. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 366, 116–122. https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.07.016.
- Hussey, N.E., Macneil, M.A., McMeans, B.C., Olin, J. a, Dudley, S.F.J., Cliff, G., Wintner, S.P., Fennessy, S.T., Fisk, A.T., 2014. Rescaling the trophic structure of marine food webs. Ecol. Lett. 17, 239–250. https://doi.org/10.1111/ele.12226.
- Johnson, L.J., Frid, C.L.J., 1995. The recovery of benthic communities along the County Durham coast after cessation of colliery spoil dumping. Mar. Pollut. Bull. 30, 215–220. https://doi.org/10.1016/0025-326X(94)00145-Y.
- Katsiaras, N., Simboura, N., Tsangaris, C., Hatzianestis, I., Pavlidou, a, Kapsimalis, V., 2015. Impacts of dredged-material disposal on the coastal soft-bottom macrofauna, Saronikos Gulf, Greece. Sci. Total Environ. 508, 320–330. https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2014.11.085.
- Manning, L.M., Peterson, C.H., Bishop, M.J., 2014. Dominant macrobenthic populations experience sustained impacts from annual disposal of fine sediments on sandy beaches. Mar. Ecol. Prog. Ser. 508, 1–15. https://doi.org/10.3354/meps10870.
- Marmin, S., Dauvin, J.-C., Lesueur, P., 2014. Collaborative approach for the management of harbour-dredged sediment in the Bay of Seine (France). Ocean Coast Manag. 102, 328–339. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2014.10.012.
  Marmin, S., Lesueur, P., Dauvin, J.C., Samson, S., Tournier, P., Gallicher Lavanne, A.,
- Marmin, S., Lesueur, P., Dauvin, J.C., Samson, S., Tournier, P., Gallicher Lavanne, A., Dubrulle-Brunaud, C., Thouroude, C., 2016. An experimental study on dredge spoil of estuarine sediments in the bay of seine (France): a morphosedimentary assessment. Continent. Shelf Res. 116, 89–102. https://doi.org/10.1016/j.csr.2016.01.010.
- Moog, O., Stubauer, I., Haimann, M., Habersack, H., Leitner, P., 2015. Effects of harbour excavating and dredged sediment disposal on the benthic invertebrate fauna of River Danube (Austria). Hydrobiologia. https://doi.org/10.1007/s10750-015-2476-x.
- Munari, C., Mistri, M., 2014. Spatio-temporal pattern of community development in dredged material used for habitat enhancement: a study case in a brackish lagoon. Mar. Pollut. Bull. 89, 340–347. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.09.039.
- Newell, R.C., Seiderer, L.J., Hitchcock, D.R., 1998. The impact of dredging works in coastal waters: a review of the sensitivity to disturbance and subsequent recovery of biological resources on the sea bed. Oceanogr. Mar. Biol. 36, 127–178.
- OSPAR, 2008. Literature Review on the Impacts of Dredged Sediment Disposal at Sea OSPAR Commission, Review Literature and Arts of the Americas.
- Pezy, J.-P., Raoux, A., Marmin, S., Balay, P., Niquil, N., Dauvin, J.-C., 2017. Before-After analysis of the trophic network of an experimental dumping site in the eastern part of the Bay of Seine (English Channel). Mar. Pollut. Bull. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2017.02.042.
- Pires, R., Pan, M., Santos, A., Peliz, Á., Boutov, D., dos Santos, a, 2013. Modelling the variation in larval dispersal of estuarine and coastal ghost shrimp: Upogebia congeners in the Gulf of Cadiz. Mar. Ecol. Prog. Ser. 492, 153–168. https://doi.org/10. 3354/meps10488.
- Ponti, M., Vadrucci, M.R., Orfanidis, S., Pinna, M., 2009. Biotic indices for ecological status of transitional water ecosystems. Trans. Waters Bull. 3, 32–90. https://doi.org/ 10.1285/i1825229Xv3n3p32.
- Post, D.M., Takimoto, G., 2007. Proximate structural mechanisms for variation in foodchain length. Oikos 116, 775–782. https://doi.org/10.1111/j.2007.0030-1299. 15552.x.
- Powilleit, M., Graf, G., Kleine, J., Riethm??ller, R., Stockmann, K., Wetzel, M.A., Koop, J.H.E., 2009. Experiments on the survival of six brackish macro-invertebrates from the Baltic Sea after dredged spoil coverage and its implications for the field. J. Mar. Syst. 75, 441–451. https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2007.06.011.
- Powilleit, M., Kleine, J., Leuchs, H., 2006. Impacts of experimental dredged material disposal on a shallow, sublittoral macrofauna community in Mecklenburg Bay (western Baltic Sea). Mar. Pollut. Bull. 52, 386–396. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2005.09.037.
- Reise, K. 2002. Sediment mediated species interactions in coastal waters. J. Sea Res. 48, 127–141. https://doi.org/10.1016/S1385-1101(02)00150-8.
- Roberts, R.D., Forrest, B.M., 1999. Minimal impact from long-term dredge spoil disposal at a dispersive site in Tasman Bay, New Zealand. N. Z. J. Marine Freshwater Res. 33, 623–633. https://doi.org/10.1080/00288330.1999.9516905.
- Rooney, N., McCann, K.S., Moore, J.C., 2008. A landscape theory for food web architecture. Ecol. Lett. 11, 867–881. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008. 01193.x.
- Sainz, a, Ruiz, F., 2006. Influence of the very polluted inputs of the Tinto-Odiel system on the adjacent littoral sediments of southwestern Spain: a statistical approach.

Marine Environmental Research 139 (2018) 64-78

Chemosphere 62, 1612–1622. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.06.045. Sampaio, L., Rodrigues, A.M., Quintino, V., 2010. Carbon and nitrogen stable isotopes in

- Sampaio, L., Kodrigues, A.M., Quintino, V., 2010. Carbon and nitrogen stable isotopes in coastal benthic populations under multiple organic enrichment sources. Mar. Pollut. Bull. 60, 1790–1802. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.06.003.Sánchez-Moyano, J.E., Estacio, F.J., García-Adiego, E.M., García-Gómez, J.C., 2004.
- Sanchez-Moyano, J.E., Estacio, F.J., Garcia-Adiego, E.M., Garcia-Gomez, J.C., 2004. Dredging impact on the benthic community of an unaltered inlet in southern Spain. Helgol. Mar. Res. 58, 32–39. https://doi.org/10.1007/s10152-003-0166-y.
- Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Donázar-Aramendía, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2017. BENFES, a new biotic index for assessing ecological status of soft-bottom communities. Towards a lower taxonomic complexity, greater reliability and less effort. Mar. Environ. Res. 1–10. https://doi.org/10.1016/j.marenvres. 2017.10.014.
- Sánchez-Moyano, J.E., García-asencio, I., García-gómez, J.C., 2007. Effects of temporal variation of the seaweed Caulerpa prolifera cover on the associated crustacean community. Mar. Ecol. 28, 324–337. https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2006. 00141.x.
- Simboura, N., Argyrou, M., 2010. An insight into the performance of benthic classification indices tested in Eastern Mediterranean coastal waters. Mar. Pollut. Bull. 60, 701–709. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.12.005.
- Simboura, N., Papathanassiou, E., Sakellariou, D., 2007. The use of a biotic index (Bentix) in assessing long-term effects of dumping coarse metalliferous waste on soft bottom benthic communities. Ecol. Indicat. 7, 164–180. https://doi.org/10.1016/j.ecolind. 2005.11.006.

Simboura, N., Zenetos, A., 2002. Benthic Indicators to Use in Ecological Quality Classification of Mediterranean Soft Bottom Marine Ecosystems, Including a New Biotic Index, vol. 3. pp. 77–111.

- Simonini, R., Ansaloni, I., Bonvicini Pagliai, A.M., Cavallini, F., Iotti, M., Mauri, M., Montanari, G., Preti, M., Rinaldi, A., Prevedelli, D., 2005a. The effects of sand extraction on the macrobenthos of a relict sands area (northern Adriatic Sea): results 12 months post-extraction. Mar. Pollut. Bull. 50, 768–777. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2005.02.009.
- Simonini, R., Ansaloni, I., Cavallini, F., Graziosi, F., Iotti, M., Massamba N'Siala, G., Mauri, M., Montanari, G., Preti, M., Prevedelli, D., 2005b. Effects of long-term dumping of harbor-dredged material on macrozoobenthos at four disposal sites along the Emilia-Romagna coast (Northern Adriatic Sea, Italy). Mar. Pollut. Bull. 50, 1595–1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.031.
- Smith, S.D.A., Rule, M.J., 2001. The effects of dredge-spoil dumping on a shallow water soft-sediment community in the Solitary Islands Marine Park, NSW, Australia. Mar. Pollut. Bull. 42, 1040–1048. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00059-5.
- Stronkhorst, J., Ariese, F., Van Hattum, B., Postma, J.F., De Kluijver, M., Den Besten, P.J., Bergman, M.J.N., Daan, R., Murk, A.J., Vethaak, A.D., 2003. Environmental impact and recovery at two dumping sites for dredged material in the North Sea. Environ. Pollut. 124, 17–31. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00430-X.
- Sweeting, C.J., Jennings, S., Polunin, N.V.C., 2005. Variance in isotopic signatures as a descriptor of tissue turnover and degree of omnivory. Funct. Ecol. 19, 777–784. https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2005.01019.x.
- Taupp, T., Wetzel, M. a, 2013. Relocation of dredged material in estuaries under the aspect of the Water Framework Directive—a comparison of benthic quality indicators at dumping areas in the Elbe estuary. Ecol. Indicat. 34, 323–331. https://doi.org/10. 1016/j.ecolind.2013.05.008.
- Tornero, V., Hanke, G., 2016. Chemical contaminants entering the marine environment from sea-based sources: a review with a focus on European seas. Mar. Pollut. Bull. 112, 17–38. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.091.
- Thorson, G., 1957. Bottom communities (sublittoral or shallow shelf). In: Hedgpeth, J.W. (Ed.), Treatise on Marine Ecology and Palaeoecology, Vol. 1. Ecology. Memoirs of the Geological Society of America, pp. 461–534.
- Underwood, A., 1991. Beyond BACI: experimental designs for detecting human environmental impacts on temporal variations in natural populations. Mar. Freshw. Res. 42 (569). https://doi.org/10.1071/MF9910569.
   Underwood, A.J., 1994. On Beyond BACI: Sampling Designs that Might Reliably Detect
- Underwood, A.J., 1994. On Beyond BACI: Sampling Designs that Might Reliably Detect Environmental Disturbances Author (s ): A. J. Underwood Published by: Ecological Society of America Stable URL: http://www.jstor.org/stable/1942110. on beyond baci: sampling designs that. Ecol. Appl. 4, 3–15. https://doi.org/10.2307/1942110.
- Van Dolah, R.F., Calder, D.R., Knott, D.M., 1984. Effects of dredging and open-water disposal on benthic Macroinvertebrates in a South Carolina estuary. Estuaries 7, 28–37. https://doi.org/10.2307/1351954.
- Villnäs, A., Norkko, J., Hietanen, S., Josefson, A.B., Lukkari, K., Norkko, A., 2013. The role of recurrent disturbances for ecosystem multifunctionality. Ecology 94, 2275–2287. https://doi.org/10.1890/12-1716.1.
- Ware, S., Bolam, S.G., Rees, H.L., 2010. Impact and recovery associated with the deposition of capital dredgings at UK disposal sites: lessons for future licensing and monitoring. Mar. Pollut. Bull. 60, 79–90. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009. 08.031.
- Ware, S.J., Rees, H.L., Boyd, S.E., Birchenhough, S.N., 2009. Performance of selected indicators in evaluating the consequences of dredged material relocation and marine aggregate extraction. Ecol. Indicat. 9, 704–718. https://doi.org/10.1016/j.ecolind. 2008.09.010.
- Witt, J., Schroeder, A., Knust, R., Arntz, W.E., 2004. The impact of harbour sludge disposal on benthic macrofauna communities in the Weser estuary. Helgol. Mar. Res. 58, 117–128. https://doi.org/10.1007/s10152-004-0177-3.
- Zajac, R.N., 2008. Macrobenthic biodiversity and sea floor landscape structure. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 366, 198–203. https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.07.025.
- Zimmerman, L.E., Jutte, P.C., Van Dolah, R.F., 2003. An environmental assessment of the charleston ocean dredged material disposal site and surrounding areas after partial completion of the charleston harbor deepening project. Mar. Pollut. Bull. 46, 1408–1419. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00289-3.

Contents lists available at ScienceDirect



## Marine Environmental Research

Marine Environmental Research

# Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats



I. Donázar-Aramendía\*, J.E. Sánchez-Moyano, I. García-Asencio, J.M. Miró, C. Megina, J.C. García-Gómez

Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R+D+I Biological Research Area., Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012, Sevilla, Spain

ARTICLE INFO	A B S T R A C T
Keywords:	Understanding the effects of dredging in estuaries is a hard task due to the difficulty of implementing an ade-
Macrobenthic community	quate environmental diagnosis, as a consequence of the salinity gradient and anthropogenic disturbances. To
Stable isotopes	assess the effects of maintenance dredging work on the Guadalquivir estuary (southwestern Spain), we used a
Salinity Food web	Before-After-Control-Impact (BACI) approach to determine both direct and indirect effects in two salinity ranges.

## 1. Introduction

Gulf of cadiz

Although estuaries are one of the most productive marine coastal environments in terms of biomass (Wolf, 1983; Wetzel et al., 2013), they often face perturbations (Dauvin et al., 2006; Sánchez-Moyano and García-Asencio, 2010). With more than 60% of Earth's population living in the coastal realm, estuarine ecosystems have been extensively altered by human activities (Ray, 2006). Furthermore, estuaries are dynamic and complex systems where high variability of the physical-chemical gradients makes them one of the most stressful aquatic environments (González-Ortegón et al., 2006; Dauvin, 2008). In this changeable scenario, characteristics of estuarine communities are strongly and directly related to parameters, such as turbidity, temperature and, particularly, salinity (Baldó and Cuesta, 2005; Dauvin, 2008). As a consequence, benthic community diversity is limited, but it is often associated with a high tolerance to variable environmental conditions (Dauvin, 2007). Interpreting disturbance effects in estuaries often is complex, because the dynamic geological, physical and chemical characteristics that rule those systems might be confused with anthropogenic impacts (Morrisey et al., 2003; Dauvin et al., 2006; Dauvin, 2008). An accurate evaluation of the anthropogenic impacts in estuaries is vital for the proper management of resources and maintaining good

environmental health as well as reaching a "good environmental status" in the context of the requirements of the European Water Framework Directive (Taupp and Wetzel, 2013; Rehitha et al., 2017).

No effects were found on water and sediment physicochemical characteristics. The small impacts on dredged

areas were followed by a rapid recovery of opportunistic species. The poor status of the benthos does not permit the detection of significant effects on macrofaunal community structure. The use of stable isotopes analysis to determine impacts on food web structure showed that changes over time seem to be explained by natural temporal variation rather than the dredging works. This paper emphasises the need to define proper management and conservation plans to improve the status of the benthic communities of the Guadalquivir estuary.

> The Guadalquivir estuary (southwestern Spain) is a good example of this kind of stressed scenario. In this system, mixed natural perturbations, such as a horizontal salinity gradient, govern the composition and spatial distribution of the aquatic communities, while human activities have deeply modified the ecosystem (González-Ortegón et al., 2006; Castañeda and Drake, 2008; Llope, 2017). They vary from desiccation of tidal marshes and isolation of the estuary course from the original tidal marshes, reduction of freshwater inputs and eutrophication from urban and agricultural waters to maintenance dredging work (Taglialatela et al., 2014; Llope, 2017). The Guadalquivir estuary is the only navigable river in Spain and gives access to Seville harbour. To maintain navigability, the Autoridad Portuaria de Sevilla (APS) has performed maintenance dredging work every one or two years since 1985 (Gallego and García Novo, 2006). Dredging operations represent a potential risk to the estuarine environment; effects basically depend on the method used, duration and extension, amount of dredge material and sediment characteristics. These activities may cause changes in the seabed and natural fluctuations in water conditions, population dynamics and sedimentary composition of the system and the surrounding

\* Corresponding author.

E-mail address: idonazar@us.es (I. Donázar-Aramendía).

https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012

Received 22 February 2018; Received in revised form 20 July 2018; Accepted 20 July 2018 Available online 25 July 2018 0141-1136/ © 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved. areas (Sánchez-Moyano et al., 2004; Barrio Froján et al., 2011; Ceia et al., 2013; Rehitha et al., 2017). Dredging often has more repercussions on benthic communities due to the relative immobility of organisms (Simonini et al., 2005). Macrofaunal communities play a crucial role in the structure and functioning of ecosystems, such as sediment stability, nutrient processing and contaminant sequestering (Thrush and Dayton, 2002; Ceia et al., 2013). In estuaries, macrofauna are also an important link between organic matter and predators (Kon et al., 2015) acting as a food source for the next trophic level, generally secondary consumers such as fish and shellfish (Bolam et al., 2011).

Studies assessing dredging effects on macrofaunal assemblages are widely available (Klapan et al., 1975; Newell et al., 1998; Sánchez-Movano et al., 2004: Bemvenuti et al., 2005: Ponti et al., 2009: Rehitha et al., 2017). However, more focused studies on dredging effects in different salinity ranges in estuaries are rare, despite the fact that salinity is the major environmental factor influencing the distribution of organisms in estuaries (Attrill, 2002). Most monitoring programs in estuaries have been developed in higher salinity ranges, while low salinity areas have been scarcely studied (Vinagre et al., 2015). Moreover, studies analysing dredging impacts on food web structure are few. Stable isotopes analysis is a useful tool to determine anthropogenic impacts on food web structure in aquatic ecosystems (Ke et al., 2016). Nitrogen and carbon isotopic ratios can be used for tracing the natural or anthropogenic sources of nutrients in estuaries (Castro et al., 2007; Kon et al., 2012; Van De Merwe et al., 2016). Also, the different rates of nutrient assimilation by different organisms can reflect estuarine status over temporal scales (Van De Merwe et al., 2016). For this reason, isotope analysis could be a useful tool to assess dredging impacts and the potential following recovery.

In this context, we analysed the effects of dredging work carried out in the Guadalquivir estuary in two different salinity gradient ranges with a Before-After Control-Impact (BACI) analysis (Underwood, 1991). We combined a classical approach assessing the dredging impact on the physicochemical and biological characteristics of the system, and we incorporated a new approach based on the analysis of stable isotope values of carbon and nitrogen. This study specifically aims to assess (i) effects of dredging on sediment and water characteristics and on macrofaunal communities and (ii) indirect effects on the surrounding shallower habitat and on the whole food web structure.

## 2. Materials and methods

## 2.1. Study area

The Guadalquivir estuary is located in southwestern Spain. It extends from the mouth in Sanlúcar de Barrameda (Atlantic Ocean) to the Alcalá del Río dam, 110 km upstream. This estuary plays a critical role in the ecological and economic sustainability of very sensitive and protected areas of southwestern Spain (e.g., National Park of Doñana) (Tornero et al., 2014). The Guadalquivir estuary is a well-mixed and tidally dominated system (3.5 m tidal range at the mouth in spring tides) (Díez-Minguito, 2012), which presents a longitudinal salinity gradient with temporal displacement by tides, discharges and seasonal variations (González-Ortegón et al., 2014). In order to guarantee a minimum navigation depth of 6.5 m, the channel is dredged every one or two years (Ruiz et al., 2015). In summer 2015, a maintenance dredging operation was carried out in several estuarine sections. The dredging work was performed by trailer suction dredge. Our study was focused on two dredging sections, one in the polyhaline range (18-30 PSU) and the other in the oligohaline range (< 5 PSU), locally known as Salinas and La Gola, respectively (Fig. 1). Approximately 74,000 and 22,000 m<sup>3</sup> of dredged material were extracted in each range, respectively.

#### 2.2. Sampling design

Our sampling was designed according to a BACI approach (Underwood, 1994). In total, four sampling surveys were carried out: two pre-dredging (June and July 2015) and two post-dredging (October 2015 and August 2016) surveys. In both salinity ranges, two areas were established: one within the dredged section and the other (as a control) far away from the influence of these operations but always at the same salinity range intervals. Establishing more control areas in the same salinity ranges were not possible due to the areas not affected by the dredging being spatially limited (ca. 2 km). In each area, three stations were randomly located inside of the navigation channel and the other three in the shallower left margin in order to assess the direct and indirect effects of dredging in those habitats, respectively. Three samples were taken for macrofaunal analysis with a Van Veen grab (0.15 m<sup>2</sup> total sampling area per station and date). For posterior analysis, all stations were pooled together and were considered replicates of each area. Macrofaunal samples were sieved through a 0.5-mm mesh sieve, and infauna was preserved in ethanol (70%) and stained with rose bengal for subsequent identification and quantification at the lowest possible taxonomic level.

To relate the effects of dredging on sediment characteristics, one additional sample was taken for grain size distribution, particulate organic matter (POM) content and redox potential. Grain size distribution was measured as percentages of 100 g of dry sediment passed through a series of sieves (5 mm, 2 mm, 1 mm, 0.5 mm, 0.250 mm, 0.125 mm and 0.063 mm). Also, the median grain size ( $Q_{50}$ ) and sorting coefficient ( $S_0$ ) (Trask, 1950) were calculated. Granulometric typology was established according to the Wentworth geometric scale (Buchanan, 1984). The POM content was determined by calculating the weight difference between the dried sediment samples of three replicates (at 60 °C until dried weight stabilisation) and after combustion (500 °C for 4 h). Apparent redox potential was measured with a pH meter (WTW pH 1970i with SenTix ORP electrode).

For the heavy metals and trace element concentrations analyses, sediments were taken from the uppermost 2 cm. In the laboratory, sediment samples were air-dried, crushed and sieved though a 2-mm sieve and then ground to  $< 60 \,\mu$ m. These samples were digested with aqua regia (1:3 conc HNO<sub>3</sub>: HCl) in a microwave digester. Quantification of elements in the extracts was achieved using a VARIAN ICP 720-ES (simultaneous ICP-OES with axially viewed plasma). The accuracy of the analytical methods was assessed via a reference soil sample from the Wageningen Evaluating Programs for Analytical Laboratories (WEPAL) for soils, International Soil-Analytical Exchange (ISE). The index of geoaccumulation ( $I_{geo}$ ) has been used as a relative measure of metal pollution in sediments for Cr, Cu and Zn according to the regional background established by Ruiz (2001) for unpolluted sandy and silty-clayey sediments and is given by:  $I_{geo} = \log_2 (Cn/1.5)$ Bn), where Cn is the value of the element n and Bn is the background data of that element. Following Ruiz (2001), the index values were divided into five groups: unpolluted ( $I_{geo}$  < 1); very lowly polluted (1 <  $I_{geo}$  < 2); lowly polluted (2 <  $I_{geo}$  < 3); moderately polluted (3  $\,<\,I_{\rm geo}\,<\,$  4); highly polluted (4  $\,<\,I_{\rm geo}\,<\,$  5) and very highly polluted ( $I_{geo} > 5$ ). Comparisons between metal concentrations and sediment quality values (SOVs) proposed by Long et al. (1995) and Delvalls and Chapman (1998) have also been performed. Heavy metals in water and sediment were only measured in the channel area in July and October 2015 and August 2016.

Water parameters were analysed from the bottom layer with a multiparametric probe Eureka Manta 2 with pH, dissolved oxygen, salinity and turbidity sensors. A 5-l water sample from 1 m above the bottom was collected with a Niskin bottle and then filtered through a GF/C Whatman glass fibre filter with an air vacuum pump; then, suspended organic matter (SUOM) and total suspended solids (TSS) were calculated. SUOM was determined with the same procedure as POM.

We investigated the possible impact of the dredging work on the



Fig. 1. Location of the study area and sampling stations in both ranges of the salinity gradient.

nekton-benthonic food web of the two salinity ranges. Although sampling was carried out at the same time as the macrofaunal surveys, we did not differentiate control and dredging areas because the daily tide movements did not allow the establishment of control areas. We selected this community because it was more diverse and accessible to sample than strictly benthic fauna. Samples of the planktonic community were collected before dredging (July 2015) and twice after it (October 2015 and August 2016). Organisms were collected with a 1000-µm mesh zooplankton net with a 1 m mouth diameter. Oblique tows were performed from surface to bottom during flood tide in the main channel. All organisms were sorted by species, transferred to the laboratory in refrigerated containers and kept alive for 24 h to evacuate their gut contents. Sediment was taken from the upper 2 cm of a Van Veen grab sample for sediment organic matter (SOM) analysis. We rinsed samples with distilled water. Muscle tissue samples of fish larvae and shrimp abdomen were extracted. Pools of several organisms were used when individuals had low biomass values. Samples were dried at 60 °C and ground to a powder. Sediment samples were acidified with 0.1M HCl to remove carbonates and oven-dried. Subsamples of powdered materials were weighed to the nearest 0.3 µg and placed into tin capsules for  $\delta^{13}$ C and  $\delta^{15}$ N determinations. Isotopic analyses were carried out at the Laboratorio de Isótopos Estables of the Estación Biológica de Doñana (LIE-EBD, Spain; www.ebd.csic.es/lie/index.html). All samples were combusted at 1020 °C using a continuous flow isotope-ratio mass spectrometry system by means of Flash HT Plus elemental analyser coupled to a Delta-V Advantage isotope ratio mass spectrometer via a CONFLO IV interface (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany).

## 2.3. Data analysis

Direct and indirect dredging effects were independently examined

in both salinity ranges. Channel and shallower left margin habitats were also separately compared with their respective controls in both salinity ranges. Water and sediment variables differences were tested on Euclidean distances using a permutational univariate analysis of the variance (PERMANOVA) (Anderson, 2001a). PERMANOVA was chosen for univariate analyses because resulting sums of squares and F-ratios are exactly the same as Fisher's univariate F-statistic in traditional ANOVA and does not assume a normal distribution of errors (Anderson, 2005, 2001b; Scyphers et al., 2011). The experimental design included two crossed fixed factors: "Impact vs. Control" with two levels (Impact and Control areas), "Time" with two levels (Before and After the dredging work) and a random factor, the sampling dates "Dates" nested within "Time" with four levels (Jun 15, Jul 15, Oct 15 and Aug 16).

According to a BACI design, if the disposal had a permanent impact, the putatively impacted areas will change over time from the samplings before the dredging work to the samplings after with a different pattern when compared to control areas. This difference can be detected as a significant "Time" x "Impact vs. Control" interaction (Guerra et al., 2009).

Univariate measures, such as species richness (number of taxa, S), Shannon's diversity index (H', based on log 2), total abundance (N, ind/ $m^2$ ) and Pielou's evenness (J') were calculated. Significant interactions were tested using a permutational univariate analysis of the variance (PERMANOVA) with the same experimental design as above. The pvalues were provided using unrestricted (9999) permutation of the abundance data based on the Euclidean distance matrix. When the number of total possible permutations to obtain the p-values were low (< 100), we used the estimate obtained by Monte Carlo sampling (Anderson and Robinson, 2003). Significant interactions, if detected, were further explored in separate analyses, within the levels of the interacting factors; in other words, the significant interactions between "Impact vs. Control" and "Dates" were further analysed separately by impact area and the control area.

The effects on the multivariate structure of the communities were investigated using a PERMANOVA analysis based on the Bray-Curtis similarity index of square-root transformed abundance data with the same design as above. Macrobenthic communities were also investigated by a non-metric multidimensional scaling ordination (nMDS). SIMPER analysis was used to identify the species contributing most to any observed spatial or temporal pattern in the communities (Clarke, 1993).

Previously standardised sediment and water variables were examined using principal components analysis (PCA). Spearman correlations were done with the heavy metal concentrations and univariate community indices.

From the obtained results of stable isotopes analysis, we created graphical plots of the carbon and nitrogen signals (Fry, 2006). Only species found in all surveys in both ranges were used. Differences between stable isotopes signals of carbon and nitrogen were tested with non-parametric Kruskal-Wallis tests. All analyses were carried out in IBM SPSS for Windows and PRIMER v 6.0 software (Clarke and Gorley, 2006).

## 3. Results

### 3.1. Environmental variables

Water and sediment parameters are shown in Table S1. Granulometry of the sediments in the channel habitat of the oligohaline range, La Gola, oscillated between very fine sand and fine sand with a reduced bottom according to the redox potential. In the channel habitat of the polyhaline range, Salinas, sediments ranged from very fine sand to fine sand, while in the shallow habitat of both ranges, there was always very fine sand (Fig. 2). In the oligohaline range, the turbidity was higher than in the polyhaline range (Fig. 3).

The PERMANOVA results for both ranges showed significant

temporal differences (p < 0.01) in both areas and both habitats (control and dredged and shores and channel, respectively) for most of the water parameters, while sediment parameters remained constant. There were not significant interactions between the factors "Time" and "Impact vs. Control" for any variables. Heavy metal concentrations are shown in Table S2 and mean concentration variation of selected metals in Fig. 4. Results showed generally higher concentrations after the operations in the dredging area of the polyhaline range. The PERMA-NOVA results of heavy metal concentrations for the two ranges did not show significant differences (p > 0.01) between the control and the dredging areas for all the heavy metals analysed. It also did not show interactions between the factors "Time" and "Impact vs. Control" in both salinity ranges. The Igeo index for Cr, Cu, Zn and Pb showed that the sediment was uncontaminated in the majority of the areas and sampling periods though some samples had higher levels of Pb. We found moderately contaminated values only in Salinas in August 2016. All heavy metal concentrations were below quality values of the sediment (SQV: Cd: 98 mg/kg, Cu: 270 mg/kg, Ni: 51.6 mg/kg, Pb: 84.6 mg/kg and Zn: 225 mg/kg (Delvalls and Chapman, 1998; Long et al., 1995; Tornero et al., 2014).

The PCA did not show any relationship between the dredging operation and the physicochemical variables (Fig. 5). In the oligohaline range, sample points were grouped, following the period, independently of the control or dredging area and channel or shallow habitat. The situation at the Salinas site was similar with major homogeneity between stations and/or periods.

## 3.2. Macrofaunal analysis

In total, 17 species were found in the oligohaline range and 38 in the polyhaline range. The most abundant group in all the samples was the annelids, especially the polychaetes *Alkmaria romijni* and *Streblospio shrubsolii*. Crustaceans also showed some importance in contributing to the diversity of the polyhaline range. There was practically no presence of molluscs in the oligohaline range, except some young specimens of the invasive species *Corbicula fluminea* (Table S3).

Univariate community indices are shown in Fig. 6. Species richness showed differences in the oligohaline range in the channel area a month after the dredging operations in relation to previous sampling dates. In October 2015, there were no species present in the dredging area, while the control area did have species. In the shallow habitat, the number of species did not change over the sampling periods. In August 2016, a year after the dredging, the richness in the dredging area was similar to that of the pre-dredging period. A PERMANOVA analysis showed no significant interaction (p > 0.05) between "Time" and "Impact vs. Control" in both channel and shallow habitats (Table 1). On the other hand, in the polyhaline range, we always found some species in every survey, but, in October 2015, a reduction in the number of species was found in both habitats (Fig. 6).

The Shannon's diversity index showed low values in the oligohaline range in all the sampling periods (Fig. 6). The greatest values were found in the polyhaline range. The PERMANOVA results did not show a significant interaction between factors (Table 1). In the polyhaline range, the index values were higher (Fig. 6). In the dredging area of the channel, there was temporal variation over the sampling dates, while in the control, it was more stable. In the shallow habitat of the control area, we found low values due to the high abundance of the polychaete *S. shrubsolii*. The PERMANOVA results showed a significant interaction between "Impact vs. Control" and "Dates" in the channel habitat (p = 0.0013) (Table 1). Separate analysis of the "Impact" level showed significant differences over the sampling dates (p = 0.0039), whilst the "Control" level showed no differences.

Abundance  $(ind/m^2)$  values found in the oligohaline range were low in all areas and dates (< 60 ind/m<sup>2</sup>) (Fig. 6). The PERMANOVA analysis showed an interaction near significance between "Impact vs. Control" and "Dates" in the shallow habitat (p = 0.051) (Table 1).



Fig. 2. Mean ( $\pm$  standard error) of fine percentage (< 0.063 mm) of both channel and shallow habitats of the two salinity ranges.

Separate analysis did not show significant differences over the sampling dates in both control or impact areas. The abundance values in the polyhaline range were higher than in the oligohaline range due to high numbers of the polychaete *S. shrubsolii* (Fig. 6). A PERMANOVA test showed a significant interaction between "Impact vs. Control" and "Dates" in both channel and shallow habitats (p = 0.022 and p = 0.0296, respectively) (Table 1). In the two separate analyses of control and impact stations of the two habitats, the impacted area showed significant differences over the sampling periods and controls did not.

Evenness showed greater values in the oligohaline range and followed similar trends as with Shannon's diversity and richness indices. A significant interaction was detected between the factors "Impact vs. Control" and "Dates" in the channel habitat of the polyhaline range (p = 0.04) (Table 1). Separate analysis also showed significant differences between sampling dates in the impacted area whilst controls did not.

The nMDS analysis in the oligohaline range showed the most of the stations with a similar macrofaunal community and no spatial or temporal patterns (Fig. 7). In the polyhaline range, there was more segregation between channel and shallow stations. The community of the shallow habitat, in both dredging and control areas, was similar in all sampling dates, while the channel habitat had more temporal

variations. The community structure results did not show significant interactions in the oligohaline range. On the other hand, results showed a significant interaction between "Impact vs. Control" and "Dates" in both habitats of the polyhaline range (p = 0.0197 and p = 0.0061, respectively) (Table 2). Both separate analyses of the control and impact stations in the two habitats did not show significant differences in the control over the "Dates" while the "Impact" showed it.

SIMPER analysis of the polyhaline range (Table S4) showed no temporal trends in the channel habitat of the control area over the sampling dates. In the impacted area, results showed a general decrease in October 2015 of the abundances of species, such as the amphipod *Bathyporeia pilosa*, the isopod *Lekanesphaera levii* and *S. shrubsolii*, with respect to pre-dredging surveys, which were characterised by the dominance of these species. In August 2016, more species with no dominance patterns were observed. In the shallow habitat, differences found were mostly due to August 2016 where, in the impacted area, high abundances of the polychaetes *A. romijni* and *S. shrubsolii* and the isopod *Cyathura carinata* occurred.

The Spearman correlation between univariate community indices showed significant negative relationships between richness species and Co (-0.361), and abundance and As (-0.332), Co (-0.426) and Ni (-0.386). Concentrations of As, Co and Ni showed an increase in October in the dredging area of both salinity ranges, except Ni which



Fig. 3. Mean turbidity values (± standard error) of both channel and shallower habitats of the two salinity ranges.

showed a decrease in the oligohaline range. In the control areas, concentrations of these metals showed a decrease or remained at the same levels than the pre-operational measures. In August 2016, an increase in the concentrations was detected, except for Co and As in the dredging area of the oligohaline range (Fig. 4).

Stable isotope plots suggested a more widespread food web structure in the oligohaline range than in the polyhaline range (Fig. 8). This could suggest that organisms in La Gola occupied different trophic niches. The Salinas samples showed similar carbon and nitrogen isotope signals, suggesting similar trophic interactions. Plots also suggested a different organic matter origin in the polyhaline range than in the oligohaline due to the different carbon enrichment values observed in the food web of the polyhaline range.

The two salinity ranges did not show the same pattern over time. In the oligohaline range, some organisms suffered changes in the surveys after the dredging operations. There was a significant (H = 7.64; p = 0.02) decrease in nitrogen values of the mysid *Neomysis integer* in October, one month after the dredging. One year later, the mysid nitrogen signal was at the same level as before. Although plots also showed an increase after dredging on the vegetal matter nitrogen values, there were no significant differences. This value remained at the same level one year after dredging. Carbon values only showed enrichment in the anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in October. One year later, the carbon signal was at pre-dredging levels. The other species did not show any changes. Conversely, in the polyhaline range, isotope signals of the organisms were similar across all sampling months. Only the mysid *Mesopodopsis slaberii* suffered a slight depletion in their carbon signal one year after the dredging work.

## 4. Discussion

Increasing anthropogenic pressures on the benthic environment in estuaries has not always been an issue of concern (Rehitha et al., 2017). Our study assessed the grade of impact of dredging operations carried out in summer 2015 on benthic communities in two salinity ranges in the Guadalquivir estuary. The most noticeable feature observed in the dredging ranges, both in the channel and shallow habitats, is the absence of an evident effect in sediment and water parameters and the low impact in the biological communities independent of the salinity range. Also, the food web structures in both salinity ranges were not clearly affected by the dredging. Changes in the isotopic composition of the anchovies and the mysids could be explained by the natural variation of the system. The impossibility of the establishment of more replicated controls per dredging area makes it necessary to interpret these results with caution. When there are not replicated control areas under study, we do not have a measure of the natural random variability among any two different areas. In case the analysis leads to the identification of differences between the evolution of the control and the potentially impacted areas, these differences cannot be unconfoundedly assigned to an impact. When the differences are found to be not significant, this weakness is less critical given that the inclusion of more replicates of control areas will not change that the observed variation in dredging areas was overlapping with the natural variation.

Although we have no data about the very early effects immediately after dredging, the deepening of channels may significantly increase suspended matter concentrations in the long-term by the stirring up of bottom substratum or erosion from locations that were not sensitive to



Fig. 4. Mean concentration variation (± standard error) over the sampling dates of As, Co and Ni in both salinity ranges.

erosion before (de Jonge et al., 2014; Rehitha et al., 2017). In both ranges, water parameters (pH, oxygen and salinity) showed the expected values for a temperate estuary during the sampling period. Turbidity was notably higher in the oligohaline range than in the

polyhaline range, because this range is in the maximum turbidity zone of the estuary (Vilas et al., 2008). The same pattern was also observed in the sediment characteristics. In both ranges, the granulometry remained stable in both the dredging and control areas. Our data suggest



Fig. 5. Principal components analysis (PCA) results for sediment and water parameters at all the stations in dredging and control areas and channel and shallow habitats over the sampling period. The percentage of variability explained by the two principal axes and vectors of a selection of parameters are given. (CC: Control channel, CS: Control shallow, DC: Dredging channel, DS: Dredging shallow).



Fig. 6. Mean ( $\pm$  standard error) values of the univariate community indices (S, N, H' and J') in the two salinity ranges over the sampling periods.

that sediment characteristics changed similarly in the control and dredging areas following natural variations. Therefore, dredging operations seem not to affect the water and granulometry, possibly due to the extraction method used, which minimized sediment overflow. However, the high flows originated by tides and the high chronic turbidity in the Guadalquivir estuary (Losada et al., 2017) could overshadow these effects.

Dredging operations may also release contaminants that were trapped in bottom sediments to the water column (Wasserman et al., 2016). However, all heavy metal concentrations were below SQV values. Furthermore, PCA analysis indicated that sampled points were grouped according to the period of survey instead of being grouped according to area (dredging vs. control). Our results agree with those reported by Guerra et al. (2009), who found that sediment deposited after dredging had the same contamination levels as before dredging operations. The higher levels of some heavy metal concentrations found after the operations in the dredging area of the polyhaline range were mostly due to the increase in August 2016, one year after dredging. Deepening of channels could lead to a greater dominance of fine fractions of sediment in dredging areas for a few hundred meters due to the dredge plume and lower current velocities, which favoured the deposition of fine sediment with higher levels of heavy metals (Klapan

## Table 1

Univariate PERMANOVA results in both salinity ranges based on the Euclidean distance matrix of the richness data (S), Shannon's diversity (H'), total abundance  $(ind/m^2)$  (N) and Pielou's evenness (J'). \*p estimation obtained by Monte Carlo sampling.

Oligohaline Channel		Polyhaline Channel									
	df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms		df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms
S						S					
Time	1	0.16667	2.94E-02	0.874*	3	Time	1	1.20E + 01	22.231	0.0437*	3
Impact vs Control	1	2.6667	1.2308	0.3623	204	Impact vs Control	1	1.04E + 00	0.10917	0.7357	776
Dates (Time)	2	5.6667	5.44	0.0212	7150	Dates (Time)	2	5.42E-01	0.1413	0.8711	9950
Time x Impact vs Control	1	0.66667	0.30769	0.6148	242	Time x Impact vs Control	1	1.0417	0.10917	0.737	776
Dates(Time) x Impact vs	2	2.1667	2.08	0.1518	9369	Dates(Time) x Impact vs		9.5417	2.4891	0.1126	9953
Control	16	1 0417				Control	16	2 0222			
Res	10	1.0417				Res Total	10	3.8333			
Total	23					Total	23				
N						N					
Time	1	9.20E + 01	3.03E-02	0.8796*	3	Time	1	9.49E + 06	4.3854	0.1682*	3
Impact vs Control	1	92.042	1.3937	0.3473	141	Impact vs Control	1	4.56E + 06	1.6906	0.3259	794
Dates (Time)	2	3033.4	5.3209	0.0176	9957	Dates (Time)	2	2.16E + 06	3.7833	0.0411	9947
Dates(Time) x Impact vs	2	313.38 66.042	4.//54	0.151	0051	Dates(Time) x Impact vs	1	$0.34E \pm 00$ 2 70E $\pm 06$	2.34/8	0.2483	798
Control	2	00.042	0.11365	0.0947	9951	Control	2	2.701 + 00	4.72	0.022	9930
Res	16	570.08				Res	16	5.72E + 05			
Total	23					Total	23				
ц'						U'					
Time	1	2 785-02	2 34F 02	0 9664*	3	Time	1	0.85436	7 4007	0 1112*	3
Impact vs Control	1	1 7103	12.66	0.082	800	Impact vs Control	1	1 0158	0 48277	0.5492	5 794
Dates (Time)	2	1.1844	3.6732	0.0528	9951	Dates (Time)	2	0.11392	0.45563	0.6363	9951
Time x Impact vs Control	1	1.14E-02	8.45E-02	0.7155	799	Time x Impact vs Control	1	1.4878	0.70709	0.4999	800
Dates(Time) x Impact vs	2	0.1351	0.41899	0.6591	9970	Dates(Time) x Impact vs	2	2.1042	8.4158	0.0013	9956
Control						Control					
Res	16	0.32244				Res	16	0.25003			
Total	23					Total	23				
J'						J′					
Time	1	5.26E-04	1.17E-03	0.974*	3	Time	1	0.19654	15.167	0.061*	3
Impact vs Control	1	0.78073	6.6382	0.1209	799	Impact vs Control	1	6.09E-02	0.3959	0.588	800
Dates (Time)	2	0.44765	2.6904	0.0961	9948	Dates (Time)	2	1.30E-02	0.32005	0.7317	9959
Time x Impact vs Control	1	4.52E-04	3.85E-03	0.8174	793	Time x Impact vs Control	1	0.25978	1.6892	0.3216	794
Dates(Time) x Impact vs	2	0.11761	0.70686	0.5099	9950	Dates(Time) x Impact vs	2	0.15378	3.7981	0.0404	9957
Control						Control					
Per	16	0 16620				Per	16	4 05E 02			
Res Total	16 23	0.16639				Res Total	16 23	4.05E-02			
Res Total	16 23	0.16639				Res Total	16 23	4.05E-02			
Res Total Oligohaline Shallow	16 23	0.16639				Res Total Polyhaline Shallow	16 23	4.05E-02			
Res Total Oligohaline Shallow	16 23 df	0.16639 MS	Pseudo-F	р	Unique perms	Res Total Polyhaline Shallow	16 23 df	4.05E-02 MS	Pseudo-F	р	Unique perms
Res Total Oligohaline Shallow	16 23 df	0.16639 MS	Pseudo-F	р	Unique perms	Res Total Polyhaline Shallow	16 23 df	4.05E-02 MS	Pseudo-F	р	Unique perms
Res Total Oligohaline Shallow	16 23 df	0.16639 MS	Pseudo-F	p	Unique perms	Res Total Polyhaline Shallow	16 23 df	4.05E-02 MS	Pseudo-F	p	Unique perms
Res Total Oligohaline Shallow S Time	16 23 df 1	0.16639 MS	Pseudo-F	p 0.1548*	Unique perms	Res Total Polyhaline Shallow S Time	16 23 df 1	4.05E-02 MS 8.1667	Pseudo-F 24.5	p 0.0387*	Unique perms
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833	Pseudo-F 5 168.2 7 815 02	p 0.1548* 0.0738 0.9257	Unique perms 3 748 oosco	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33332	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E 02	p 0.0387* 0.076 0.0547	Unique perms 3 739 0675
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104	Unique perms 3 748 9950 108	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time y Innact vs Control	16 23 df 1 1 2 1	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785	Unique perms 3 739 9675 530
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs	16 23 df 1 1 2 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs	16 23 df 1 1 2 1 2	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.3333 10.667 0.83333	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926	Unique perms 3 739 9675 530 9928
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 1 2	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926	Unique perms 3 739 9675 530 9928
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res	16 23 df 1 1 2 1 2 16	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res	16 23 df 1 1 2 1 2 16	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926	Unique perms 3 739 9675 530 9928
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926	Unique perms 3 739 9675 530 9928
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926	Unique perms 3 739 9675 530 9928
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E+05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time	16 23 df 1 2 1 2 16 23 1	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E+06	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388*	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23 1 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E+05 5.85E+05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.9264	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 1	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E+06 3.27E+07	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 16 23 11 2 1 2 3	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E+06 3.27E+07 9.38E+06	Pseudo-F 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.5388* 0.3404 0.1719	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23 1 1 2 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 5.16E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 812	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E+06 3.27E+07 9.38E+06 6.31E+07	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23 1 1 2 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158	P 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.3375 0.3018 0.4698 0.0506	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.3404 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) X Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Base	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158	P 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.315 0.318 0.4698 0.0506	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Res Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23 1 1 2 1 2 16 23	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158	P 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.318 0.3375 0.018 0.4698 0.0506	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 16 23	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158	P 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158	P 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H'	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 16 23	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05 2.46E-03	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381*	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H' Time	16 23 df 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06 2.40E-02	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.8677*	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 2.46E-03 3.8231 0.2015	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381* 0.09381*	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time Total H' Time	16 23 df 1 1 2 16 23 1 2 16 23 11 2 16 23	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 6.31E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06 2.40E-02 8.00E + 00	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279 9.122	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.867* 0.867	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794 2040
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61 1.2763 4.222	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381* 0.0913 0.3041 0.1662	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06 2.40E-02 8.00E + 00 0.65004	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279 3.183 2.205 c	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.082 0.082	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794 9940 706
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 3.79E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 2.46E-03 3.8231 0.30438 1.5611 0.36432	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61 1.2763 4.3323 1.5109	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381* 0.0913 0.3041 0.3041 0.2092	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time)	16 23 df 1 1 2 16 23 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06 2.40E-02 8.00E + 00 0.65004 1.128 0.49127	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279 3.183 2.2956 2.4061	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.082 0.0655 0.2415 0.172	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794 9940 796 9940 796 9940
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 2.46E-03 3.8231 0.30438 1.5611 0.36033	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61 1.2763 4.3323 1.5109	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381* 0.0913 0.3041 0.1662 0.2498	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06 2.40E-02 8.00E + 00 0.65004 1.128 0.49137	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279 3.183 2.2956 2.4061	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.082 0.0655 0.2415 0.1272	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794 9940 796 9947
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H Time Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H Time Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) X Impact vs Control X Impact vs Control	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 2.46E-03 3.8231 0.30438 1.5611 0.36033 0.23848	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61 1.2763 4.3323 1.5109	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381* 0.0913 0.3041 0.1662 0.2498	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06 2.40E-02 8.00E + 00 0.65004 1.128 0.49137 2.04E-01	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279 3.183 2.2956 2.4061	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.082 0.0655 0.2415 0.1272	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794 9940 796 9947
Res Total Oligohaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H Time Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total H Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	0.16639 MS 1.0417 35.042 0.20833 0.375 0.20833 2.6667 5.01E + 05 5.85E + 05 5.16E + 05 3.42E + 05 1.22E + 05 1.22E + 05 2.46E-03 3.8231 0.30438 1.5611 0.36033 0.23848	Pseudo-F 5 168.2 7.81E-02 1.8 7.81E-02 0.97118 1.542 4.2402 0.90149 3.1158 8.08E-03 10.61 1.2763 4.3323 1.5109	p 0.1548* 0.0738 0.9257 0.3104 0.9264 0.4217* 0.3375 0.018 0.4698 0.0506 0.9381* 0.0913 0.3041 0.1662 0.2498	Unique perms 3 748 9950 108 9953 3 798 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954 812 9954	Res Total Polyhaline Shallow S Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates(Time) x Impact vs Control Res Total N Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Res Total H' Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) Time x Impact vs Control Dates (Time) x Impact vs Control Res Total	16 23 df 1 1 2 16 23 1 1 2 16 23 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1	4.05E-02 MS 8.1667 80.667 0.33333 10.667 0.83333 7.2917 5.02E + 06 3.27E + 07 9.38E + 06 6.31E + 07 2.20E + 07 4.74E + 06 2.40E-02 8.00E + 00 0.65004 1.128 0.49137 2.04E-01	Pseudo-F 24.5 96.8 4.57E-02 12.8 0.11429 0.53537 1.4896 1.9784 2.8717 4.6293 3.69E-02 16.279 3.183 2.2956 2.4061	p 0.0387* 0.076 0.9547 0.0785 0.8926 0.5388* 0.3404 0.1719 0.2385 0.0296 0.867* 0.082 0.0655 0.2415 0.1272	Unique perms 3 739 9675 530 9928 3 798 9936 800 9941 3 794 9940 796 9947

## Table 1 (continued)

Oligohaline Channel	gohaline Channel							Polyhaline Channel									
	df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms		df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms						
Time	1	4.02E-02	0.22745	0.6885*	3	Time	1	2.89E-02	0.36995	0.6083*	3						
Impact vs Control	1	0.4861	9.8016	0.0983	798	Impact vs Control	1	0.70139	14.877	0.0787	801						
Dates (Time)	2	0.17683	2.5882	0.102	9948	Dates (Time)	2	7.82E-02	4.7287	0.0142	9952						
Time x Impact vs Control	1	0.7592	15.308	0.0796	800	Time x Impact vs Control	1	7.70E-02	1.6334	0.3284	795						
Dates(Time) x Impact vs	2	4.96E-02	0.72589	0.4991	9958	Dates(Time) x Impact vs	2	4.71E-02	2.8504	0.0752	9949						
Control						Control											
Res	16	6.83E-02				Res	16	1.65E-02									
Total	23					Total	23										

et al., 1975; Newell et al., 1998; Ponti et al., 2009; Crowe et al., 2016). However, our results did not show an increase of the percentage of fine sediments in this area. Moreover, the increase of concentration of pollutant one year after could indicate a possible input of contaminants from different sources. This fact has been pointed out by Tornero et al. (2014), who suggest that other sources, such as mining activities upstream, could explain As and Pb concentrations in clams in the Guadalquivir estuary. Areas affected by dredging work could experience drastic reductions in richness species, abundance and biomass or become completely defaunated (Klapan et al., 1975; Newell et al., 1998; Fraser et al., 2006; Gutperlet et al., 2017). In other studies, with similar volumes dredged, impacts were detected on community structure and other univariate community indices (Ceia et al., 2013; Ponti et al., 2009; Van Dolah et al., 1984). In October 2015, one month after the dredging work, there were no species in the dredging channel area of the oligohaline range. Direct removal of the species seems to be the explanation. Salinas had a more structured and rich community; as a consequence, the reduction suffered in October 2015 in the channel of the dredging area was more pronounced, but did not reach the azoic level, probably due to lateral and vertical migration of surrounding bottom communities (Hall, 1994). On the other hand, it seems that there was no effect in the shallow habitats of the dredging areas. This agrees with the results of Ponti et al. (2009), who found direct effects on dredging channels and no effects on nearby areas. Richness and abundance have been proven to be more effective to indicate the first impacts of a perturbation than the Shannon's diversity index (Katsiaras et al., 2015), and our results showed that richness was the most useful index to describe shifts in the macrofaunal community in both salinity ranges.

The absence of any significant interaction between the factors "Time" and "Impact vs. Control" indicated there was not a permanent effect in the univariate indices or the community structure from the dredging operations (Underwood, 1994). Despite the absence of permanent effects, significant interactions were found between the factor "Dates" and "Impacts vs. Control" in some univariate community indices as well as in the community structure in the polyhaline range. This indicated different trends in the control and dredging areas over the random sampling dates. Separate analysis of the impact and controls always showed a significant variation in the impacted areas whilst the controls did not. SIMPER analysis showed a decrease of abundance of predominant species in the channel habitat of the impacted area one month after the dredging, which could indicate a possible impact. In spite of this, most of the differences were due to changes in August 2016 in the impacted areas of both channel and shallow habitats where a higher number species were found.

Dredging effects on macrofaunal communities and posterior recolonisation rates are site specific (Thrush and Dayton, 2002; Bemvenuti et al., 2005; Fraser et al., 2006; Gutperlet et al., 2015). Estuaries characterised by a muddy bottom and high dynamic areas often have more rapid recoveries than those with stable sand and gravel areas (Gutperlet et al., 2015; Rehitha et al., 2017). For example, rates reviewed by Newell et al. (1998) suggest a recovery time of 6–8 months for muddy estuaries, while communities with sand and gravel may take 2–3 years to re-establish. Our results were in concordance with these studies. One year after the dredging work, abundances in the oligohaline range as well as richness and Shannon's diversity in the polyhaline range reached pre-dredging values.

Dredged habitats are often first colonised by opportunistic species (Sánchez-Moyano et al., 2004). According to Newell et al. (1998), a large population of small sedentary deposit feeders, like polychaetes, would be the first colonisers after cessation of the disturbance and then would progress towards the same levels as before the disturbance. In



Fig. 7. nMDS of the distance among centroids resemblance for the combined factor between the "Dates" and the two dredging and control areas before and after the dredging of both habitats based on abundance of the different species in both salinity ranges. (CC: Control channel, CS: Control shallow, DC: Dredging channel, DS: Dredging shallow).

## Table 2

PERMANOVA results of the Bray-Curtis similarity matrix based on square-root transformed data in both channel and shallow habitats of both salinity ranges. \*p estimation obtained by Monte Carlo sampling.

Oligohaline Channel	df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms Polyhaline Channel df		df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms
Time	1	1095.5	0.14673	0.9809*	3	Time	1	3743.7	1.2603	0.3536*	3
Impact vs Control	1	2307.7	0.79748	0.5166	801	Impact vs Control	1	7689.8	2.3883	0.1507	799
Dates(Time)	2	7466	3.5928	0.0003	9933	Dates(Time)	2	2970.6	2.2071	0.0367	9929
TimexImpact vs Control	1	3075.3	1.0627	0.4183	800	TimexImpact vs Control	1	3148	0.97769	0.4498	800
Dates(Time)xImpact vs Control	2	2893.8	1.3926	0.1778	9922	Dates(Time)xImpact vs Control	2	3219.8	2.3922	0.0197	9926
Res	16	2078				Res	16	1345.9			
Total	23					Total	23				
Oligohaline Shallow						Polyhaline Shallow					
	df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms		df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms
Time	1	4082.3	1.0272	0.444*	3	Time	1	1684.4	1.4344	0.2797*	3
Impact vs Control	1	8354.1	4.8568	0.1106	801	Impact vs Control	1	7760.4	3.9154	0.0814	801
Dates(Time)	2	3974.1	1.8304	0.1073	9945	Dates(Time)	2	1174.2	1.435	0.1399	9919
TimexImpact vs Control	1	2368.2	1.3768	0.3253	798	TimexImpact vs Control	1	3131.5	1.5799	0.2822	800
Dates(Time)xImpact vs Control	2	1720.1	0.79227	0.5742	9941	Dates(Time)xImpact vs Control	2	1982	2.4222	0.0061	9933
Res	16	2171.1				Res	16	818.27			
Total	23					Total	23				

other studies, community recovery demonstrated that univariate community indices, such as abundances and richness, after a dredging impact could reach pre-operational levels after a certain period of time, but the ecological function could be not the same (Ceia et al., 2013). These shifts seem to be related to changes in sediment characteristics. Conversely, Sánchez-Moyano et al. (2004) observed a recovery in one month, reaching the same community structure and not only opportunistic species. In estuaries, Rehitha et al. (2017) detected changes in the granulometry toward more fine sediment in dredged areas as well as a reduction in species richness and diversity followed by a rapid colonisation of opportunistic species compared to non-dredging areas. They also reported that complex communities in the dredging areas could not be reached due to continuous dredging activities. In the Guadalquivir estuary, the benthic community, principally in the oligohaline range, was characterised by high abundances of the polychaetes A. romijnii and S. shrubsolii, even in the control areas. Therefore, these r-strategist species rapidly colonised the dredged areas, showing a rapid and complete recovery. This is consistent with Bemvenuti et al. (2005), who assessed that in areas that annually experience high changes in salinity (e.g., estuaries), fauna were reduced and community structure was altered by dredging activities, but there was also a rapid recovery due to the high resilience of the system. This is consistent with other studies (Fraser et al., 2006 and references therein).

Despite the low number of species present in all surveys is a major constraint for the isotopic analysis in this study, some conclusions can be made. Differences in the food web structures of the two salinity ranges could indicate the use of more carbon-depleted sources of organic matter with a possible terrestrial origin in the oligohaline range. Conversely, in Salinas, the marine inputs coming with the high tides can introduce more enriched carbon sources of organic matter into the food web (Selleslagh et al., 2015). The variation in isotope values in the oligohaline range suggests more complex feeding pathways than in the polyhaline range. In Salinas, the primary consumers could be feeding on the same organic matter sources, because similar isotope signals of secondary consumers could indicate similar diet composition. Conversely, in the oligohaline range, different nitrogen signals of the



Fig. 8. Means for  $\delta$ 13C (x-axis) and  $\delta$ 15N (y-axis) of the organisms collected in oligohaline (left) and polyhaline (right) sampling areas. Arrows represent isotopic variation over the three sampling periods (July 2015, October 2015 and August 2016).

secondary consumers could suggest that they feed on a different suite of prey.

Changes in the isotopic signals of some organisms in the oligohaline range over the sampling periods could suggest an effect of dredging. A decrease in nitrogen levels of N. integer could suggest a change in trophic niche. Differences in trophic position of this species in October could be caused by the elimination of an intermediate consumer or a change in the degree of trophic omnivory (Post and Takimoto, 2007). The increase in the nitrogen signal of the vegetal matter could suggest the presence of more enriched nutrients with an anthropogenic origin. Dredging can resuspend fine sediments, nutrients and pollutants that had been trapped over the years (Ponti et al., 2009; Wasserman et al., 2016), making them available to the food web. In that sense, the variation in the carbon signal of *E. encrasicolus* would indicate that they use sources of organic matter with different origin over time (Dias et al., 2017). The multispecies approach of selecting organisms with different turnover rates would assess the dredging impact over a temporal scale (Modéran et al., 2012; Selleslagh et al., 2015). Changes in the diets of organisms are not immediately reflected by stable isotopes signals; higher trophic level organisms can show an integrated time response to nutrients better than primary producers (Van De Merwe et al., 2016). One year after the dredging work, mysid and vegetal matter isotope signals were still at the same levels as one month after; however, anchovies showed the same levels as pre-dredging measures. Despite changes in the oligohaline range in some isotope values one month post-dredging, variability in the patterns of isotope signals for carbon and nitrogen do not allow us to confirm an impact of dredging on food web structure. Thus, changes seem to be more related to natural variations rather than a dredging impact.

## 5. Conclusion

Maintenance dredging work is common activity that is necessary to maintain navigability and support trade. However, these human impacts may lead to several direct or indirect threats for estuarine ecosystems. The site-specific component of these impacts necessitates the study of these effects in every system (Fraser et al., 2006). In a highly variable scenario with anthropogenic and natural frequent perturbations, such as in the Guadalquivir estuary, macrofaunal communities often are characterised by low diversity and large populations of species well adapted to rapid recolonisation (Newell et al., 1998). The poor benthic community status in both salinity ranges in the Guadalquivir estuary explains the absence of a detectable effect on the community structure, diversity and richness and the quick recovery of the punctual affections by recolonisation of organisms of nearby areas. Moreover, the dredging work did not evidently affect the food web structure either. This poor status has been reported by other authors (Baldó and Drake, 2001; Sánchez-Moyano et al., 2017) and even in drastic impacts, such as acid mining spills released to the estuary, an impact on the benthic community was not detected (Baldó and Drake, 2001). In the management of estuaries, Ceia et al. (2013) reported that higher dredging frequency and extension means a longer recovery period for macrofaunal assemblages due to sediment structure destabilisation. However, the actual pressures on the Guadalquivir estuary, beyond the maintenance dredging work (e.g., unnatural freshwater inputs in summer for rice agriculture, permanent turbidity and high regulation of the natural flow by upstream dams) does not permit the establishment of more complex communities. Therefore, in poor diversity systems, like the Guadalquivir estuary, and from economic and management efficiency perspectives, research efforts should focus on the most diverse areas, such as the polyhaline range. This study marks the need for a proper management plan that involves all the administrations for the improvement of the biological benthic communities of the Guadalquivir estuary.

## Acknowledgments

We thank Autoridad Portuaria de Sevilla (APS) and Acuario de Sevilla for financial and logistical support. This work was partially supported by the V Plan Propio Universidad de Sevilla via two predoctoral grants (I. Donázar-Aramendía, J.M. Miro). We thank Dr. Craig Layman for his invaluable help with stable isotope interpretation.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012.

## References

- Anderson, M.J., 2005. PERMANOVA Permutational multivariate analysis of variance. Austral Ecol. 1–24. https://doi.org/10.1139/cjfas-58-3-626.
- Anderson, M.J., 2001a. A New Method for Non-parametric Multivariate Analysis of Variance. pp. 32–46.
- Anderson, M.J., 2001b. Permutation tests for or multivariate analysis of variance and regression. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 58, 626–639. https://doi.org/10.1139/f01-004.
- Anderson, M.J., Robinson, J., 2003. Generalized discriminant analysis based on distances. Aust. N. Z. J. Stat. 45, 301–318.
- Attrill, M.J., 2002. A testable linear model for diversity trends in estuaries. J. Anim. Ecol. 71, 262–269. https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2002.00593.x.
- Baldó, F., Cuesta, J.A., 2005. Efecto de la regulación del caudal del Río Guadalquivir sobre las características fisicoquímicas del agua y la macrofauna acuática de su estuario Effect of the regulation of freshwater inflow on the physical-chemical characteristics of water and on the aq. Cienc. Mar. 31, 467–476.
- Baldó, F., Drake, A.M.A.P., 2001. La comunidad macrobentónica del estuario del Guadalquivir. Cienc. Mar. 17, 137–148.
- Barrio Froján, C.R.S., Cooper, K.M., Bremner, J., Defew, E.C., Wan Hussin, W.M.R., Paterson, D.M., 2011. Assessing the recovery of functional diversity after sustained sediment screening at an aggregate dredging site in the North Sea. Estuar. Coast Shelf Sci. 92, 358–366. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.01.006.Bernvenuti, C.E., Angonesi, L.G., Gandra, M.S., 2005. Effects of dredging operations on
- Bemvenuti, C.E., Angonesi, L.G., Gandra, M.S., 2005. Effects of dredging operations on soft bottom macrofauna in a harbor in the Patos Lagoon estuarine region of southern Brazil. Braz. J. Biol. 65, 573–581. https://doi.org//S1519-69842005000400003.
- Bolam, S.G., Barry, J., Bolam, T., Mason, C., Rumney, H.S., Thain, J.E., Law, R.J., 2011. Impacts of maintenance dredged material disposal on macrobenthic structure and secondary productivity. Mar. Pollut. Bull. 62, 2230–2245. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2011.04.012.
- Buchanan, J.B., 1984. Sediment analysis. In: Holme, N.A., McIntyre, A.D. (Eds.), Methods for the Study of Marine Benthos. Blackwell Scientific Publications. Oxford. pp. 41–65.
- Castañeda, E., Drake, P., 2008. Spatiotemporal distribution of Lekanesphaera species in relation to estuarine gradients within a temperate European estuary (SW Spain) with regulated freshwater inflow Distribución espaciotemporal de las especies de Lekanesphaera en relación con los gra, vol. 34. pp. 125–141.
- Castro, P., Valiela, I., Freitas, H., 2007. Eutrophication in Portuguese estuaries evidenced by δ15N of macrophytes. Mar. Ecol. Prog. Ser. 351, 43–51. https://doi.org/10.3354/ meps07173.
- Ceia, F.R., Patrício, J., Franco, J., Pinto, R., Fernández-Boo, S., Losi, V., Marques, J.C., Neto, J.M., 2013. Assessment of estuarine macrobenthic assemblages and ecological quality status at a dredging site in a southern Europe estuary. Ocean Coast Manag. 72, 80–92. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2011.07.009.
- Clarke, K.R., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. Austral Ecol. 18, 117–143. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993. tb00438.x.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N., 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. Prim, Plymouth UK, pp. 192. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x.
- Crowe, S.E., Bergquist, D.C., Sanger, D.M., Van Dolah, R.F., 2016. Physical and biological alterations following dredging in two beach nourishment borrow areas in South Carolina's coastal zone. J. Coast Res. 320, 875–889. https://doi.org/10.2112/ JCOASTRES-D-15-00075.1.
- Dauvin, J.-C., 2008. Effects of heavy metal contamination on the macrobenthic fauna in estuaries: the case of the Seine estuary. Mar. Pollut. Bull. 57, 160–169. https://doi. org/10.1016/j.marpolbul.2007.10.012.
- Dauvin, J.C., 2007. Paradox of estuarine quality: benthic indicators and indices, consensus or debate for the future. Mar. Pollut. Bull. 55, 271–281. https://doi.org/10. 1016/j.marpolbul.2006.08.017.
- Dauvin, J.C., Desroy, N., Janson, a L., Vallet, C., Duhamel, S., 2006. Recent changes in estuarine benthic and suprabenthic communities resulting from the development of harbour infrastructure. Mar. Pollut. Bull. 53, 80–90. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2005.09.020.
- de Jonge, V.N., Schuttelaars, H.M., van Beusekom, J.E.E., Talke, S. a., de Swart, H.E., 2014. The influence of channel deepening on estuarine turbidity levels and dynamics, as exemplified by the Ems estuary. Estuar. Coast Shelf Sci. 139, 46–59. https://doi. org/10.1016/j.ecss.2013.12.030.
- Delvalls, T.A., Chapman, P.M., 1998. Site-specific quality values for the gulf of Cádiz (Spain) and San Francisco Bay (USA). using the sediment quality triad and multivariate analysis. Cienc. Mar. 24, 313–336. https://doi.org/10.7773/cm.v24i3.753.

- Dias, E., Morais, P., Faria, A.M., Antunes, C., Hoffman, J.C., 2017. Benthic food webs support the production of sympatric flatfish larvae in estuarine nursery habitat. Fish. Oceanogr. 26, 507–512. https://doi.org/10.1111/fog.12212.
- Díez-Minguito, M., 2012. Tidal wave reflection from the closure dam in the Guadalquivir estuary (Sw Spain). Coast Eng. 1–8 ....
- Fraser, C., Hutchings, P., Williamson, J., 2006. Long-term changes in polychaete assemblages of Botany Bay (NSW, Australia) following a dredging event. Mar. Pollut. Bull. 52, 997–1010. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.12.016.
- Fry, B., 2006. Stable Isotope Ecology. Springer Sci. + Bus. Media, New York, NY.
- Gallego, J.B., García Novo, F., 2006. High-Intensity Versus Low-Intensity Restoration Alternatives of a Tidal Marsh in Guadalquivir Estuary, SW Spain. pp. 112–121. 0. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2006.11.005.
- González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A., Cuesta, J. a, Fernández-Delgado, C., Vilas, C., Drake, P., 2014. Freshwater scarcity effects on the aquatic macrofauna of a European Mediterranean-climate estuary. Sci. Total Environ. 503–504 (9). https://doi.org/10. 1016/j.scitotenv.2014.06.020.
- González-Ortegón, E., Pascual, E., Cuesta, J. a., Drake, P., 2006. Field distribution and osmoregulatory capacity of shrimps in a temperate European estuary (SW Spain). Estuar. Coast Shelf Sci. 67, 293–302. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2005.11.025.
- Guerra, R., Pasteris, A., Ponti, M., 2009. Impacts of maintenance channel dredging in a northern Adriatic coastal lagoon. I: effects on sediment properties, contamination and toxicity. Estuar. Coast Shelf Sci. 85, 134–142. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2009. 05.021.
- Gutperlet, R., Capperucci, R.M., Bartholomä, a., Kröncke, I., 2015. Benthic biodiversity changes in response to dredging activities during the construction of a deep-water port. Mar. Biodivers. 45 (4), 819–839. https://doi.org/10.1007/s12526-014-0298-0.
- Gutperlet, R., Capperucci, R.M., Bartholomä, A., Kröncke, I., 2017. Relationships between spatial patterns of macrofauna communities, sediments and hydroacoustic backscatter data in a highly heterogeneous and anthropogenic altered environment. J. Sea Res. 121, 33–46. https://doi.org/10.1016/j.seares.2017.01.005.
- Hall, J.S., 1994. Physical disturbance and marine benthic communities: life in unconsolidated sediments. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 32, 179–239.
- Katsiaras, N., Simboura, N., Tsangaris, C., Hatzianestis, I., Pavlidou, a., Kapsimalis, V., 2015. Impacts of dredged-material disposal on the coastal soft-bottom macrofauna, Saronikos Gulf, Greece. Sci. Total Environ 508, 320–330. https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2014.11.085.
- Ke, Z., Tan, Y., Huang, L., Zhao, C., Liu, H., 2016. Trophic structure of shrimp-trawl catches in the Pearl River estuary in winter, using stable isotope analyses. Aquat. Ecosys. Health Manag. 19, 468–475. https://doi.org/10.1080/14634988.2016. 1235456.
- Klapan, E., Welker, J., Kraus, M., McCourt, S., 1975. Some factors affecting the colonization of a dreged channel. Mar. Biol. 32, 193–204.
- Kon, K., Hoshino, Y., Kanou, K., Okazaki, D., Nakayama, S., Kohno, H., 2012. Importance of allochthonous material in benthic macrofaunal community functioning in estuarine salt marshes. Estuar. Coast Shelf Sci. 96, 236–244. https://doi.org/10.1016/j. ecss.2011.11.015.
- Kon, K., Tongnunui, P., Kurokura, H., 2015. Do allochthonous inputs represent an important food resource for benthic macrofaunal communities in tropical estuarine mudflats? Food Webs 2, 10–17. https://doi.org/10.1016/j.fooweb.2015.03.001.
- Llope, M., 2017. The ecosystem approach in the Gulf of Cadiz. A perspective from the southernmost European Atlantic regional sea. ICES J. Mar. Sci. 74, 382–390. https:// doi.org/10.1093/icesjms/fsw165.
- Long, E.R., Macdonald, D.D., Smith, S.L., Calder, F.D., 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. Environ. Manag. 19, 81–97. https://doi.org/10.1007/BF02472006. Losada, M.A., Díez-Minguito, M., Reyes-Merlo, M., 2017. Tidal-fluvial interaction in the
- Losada, M.A., Díez-Minguito, M., Reyes-Merlo, M., 2017. Tidal-fluvial interaction in the Guadalquivir River Estuary: spatial and frequency-dependent response of currents and water levels. J. Geophys. Res. Ocean 122, 847–865. https://doi.org/10.1002/ 2016JC011984.
- Modéran, J., David, V., Bouvais, P., Richard, P., Fichet, D., 2012. Organic matter exploitation in a highly turbid environment: planktonic food web in the Charente estuary, France. Estuar. Coast Shelf Sci. 98, 126–137. https://doi.org/10.1016/j.ecss. 2011.12.018.
- Morrisey, D.J., Turner, S.J., Mills, G.N., Williamson, R.B., Wise, B.E., 2003. Factors affecting the distribution of benthic macrofauna in estuaries contaminated by urban runoff. Mar. Environ. Res. 55, 113–136.
- Newell, R.C., Seiderer, L.J., Hitchcock, D.R., 1998. The impact of dredging works in coastal waters: a review of the sensitivity to disturbance and subsequent recovery of biological resources on the sea bed. Oceanogr. Mar. Biol. 36, 127–178.
- Ponti, M., Pasteris, A., Guerra, R., Abbiati, M., 2009. Impacts of maintenance channel dredging in a northern Adriatic coastal lagoon. II: effects on macrobenthic assemblages in channels and ponds. Estuar. Coast Shelf Sci. 85, 143–150. https://doi.org/ 10.1016/j.ecss.2009.06.027.
- Post, D.M., Takimoto, G., 2007. Proximate structural mechanisms for variation in foodchain length. Oikos 116, 775–782. https://doi.org/10.1111/j.2007.0030-1299. 15552.x.
- Rehitha, T.V., Ullas, N., Vineetha, G., Benny, P.Y., Madhu, N.V., Revichandran, C., 2017. Impact of maintenance dredging on macrobenthic community structure of a tropical estuary. Ocean Coast Manag. 144, 71–82. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman. 2017.04.020.

- Marine Environmental Research 140 (2018) 455–467
- Ray, G.C., 2006. The coastal realm's environmental debt. Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst. 16, 1–4. https://doi.org/10.1002/aqc.764.
- Ruiz, F., 2001. Trace metals in estuarine sediments from the southwestern Spanish coast. Mar. Pollut. Bull. 42, 482–490.
- Ruiz, J., Polo, M.J., Díez-minguito, M., Morris, E.P., Díez-minguito, M., Navarro, G., Morris, E.P., Huertas, E., Caballero, I., Contreras, E., Losada, M.A., 2015. The Guadalquivir Estuary: a Hot Spot for Environmental and Human Conflicts. https:// doi.org/10.1007/978-3-319-06305-8.
- Sánchez-Moyano, J.E., Estacio, F.J., García-Adiego, E.M., García-Gómez, J.C., 2004. Dredging impact on the benthic community of an unaltered inlet in southern Spain. Helgol. Mar. Res. 58, 32–39. https://doi.org/10.1007/s10152-003-0166-y.
- Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., 2010. Crustacean assemblages in a polluted estuary from South-Western Spain. Mar. Pollut. Bull. 60, 1890–1897. https://doi.org/ 10.1016/j.marpolbul.2010.07.016.
- Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Donázar-Aramendía, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2017. BENFES, a new biotic index for assessing ecological status of soft-bottom communities. Towards a lower taxonomic complexity, greater reliability and less effort. Mar. Environ. Res. 1–10. https://doi.org/10.1016/j.marenvres. 2017.10.014.
- Scyphers, S.B., Powers, S.P., Heck, K.L., Byron, D., 2011. Oyster reefs as natural breakwaters mitigate shoreline loss and facilitate fisheries. PLoS One 6. https://doi.org/ 10.1371/journal.pone.0022396.
- Selleslagh, J., Blanchet, H., Bachelet, G., Lobry, J., 2015. Feeding habitats, connectivity and origin of organic matter supporting fish populations in an estuary with a reduced intertidal area assessed by stable isotope analysis. Estuar. Coast 1431–1447. https:// doi.org/10.1007/s12237-014-9911-5.
- Simonini, R., Ansaloni, I., Cavallini, F., Graziosi, F., Iotti, M., Massamba N'Siala, G., Mauri, M., Montanari, G., Preti, M., Prevedelli, D., 2005. Effects of long-term dumping of harbor-dredged material on macrozoobenthos at four disposal sites along the Emilia-Romagna coast (Northern Adriatic Sea, Italy). Mar. Pollut. Bull. 50, 1595–1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.031.
- Taglialatela, S., Ruiz, J., Prieto, L., Navarro, G., 2014. Seasonal forcing of image-analysed mesozooplankton community composition along the salinity gradient of the Guadalquivir estuary. Estuar. Coast Shelf Sci. 149, 244–254. https://doi.org/10. 1016/j.ecss.2014.08.021.
- Taupp, T., Wetzel, M. a, 2013. Relocation of dredged material in estuaries under the aspect of the Water Framework Directive—a comparison of benthic quality indicators at dumping areas in the Elbe estuary. Ecol. Indicat. 34, 323–331. https://doi.org/10. 1016/j.ecolind.2013.05.008.
- Thrush, S.F., Dayton, P.K., 2002. Disturbance to marine benthic habitats by trawling and dredging: implications for marine biodiversity. Annu. Rev. Ecol. Systemat. 33, 449–473. https://doi.org/DOI 10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150515.
- Tornero, V., Arias, A.M., Blasco, J., 2014. Trace element contamination in the Guadalquivir River Estuary ten years after the Aznalcóllar mine spill. Mar. Pollut. Bull. 86, 349–360. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.044.
- Trask, P.D., 1950. Applied Sedimentation. John Wiley and Sons Inc, New York, NY, pp. 707.
- Underwood, A., 1991. Beyond BACI: experimental designs for detecting human environmental impacts on temporal variations in natural populations. Mar. Freshw. Res. 42 (569). https://doi.org/10.1071/MF9910569.
- Underwood, A.J., 1994. On beyond BACI: sampling designs that might reliably detect environmental disturbances. Author (s): A. J. Underwood Published by: Ecological Society of America stable URL: http://www.jstor.org/stable/1942110. ON BEYOND BACI: SAMPLING DESIGNS THAT. Ecol. Appl. 4, 3–15. https://doi.org/10.2307/ 1942110.
- Van De Merwe, J.P., Lee, S.Y., Connolly, R.M., Pitt, K.A., Steven, A.D.L., 2016. Assessing temporal and spatial trends in estuarine nutrient dynamics using a multi-species stable isotope approach. Ecol. Indicat. 67, 338–345. https://doi.org/10.1016/j. ecolind.2016.02.058.
- Van Dolah, R.F., Calder, D.R., Knott, D.M., 1984. Effects of dredging and open-water disposal on benthic macroinvertebrates in a South Carolina estuary. Estuaries 7, 28–37. https://doi.org/10.2307/1351954.
- Vilas, C., Drake, P., Fockedey, N., 2008. Feeding preferences of estuarine mysids Neomysis integer and Rhopalophthalmus tartessicus in a temperate estuary (Guadalquivir Estuary, SW Spain). Estuar. Coast Shelf Sci. 77, 345–356. https://doi. org/10.1016/j.ecss.2007.09.025.
- Vinagre, P.A., Pais-Costa, A.J., Marques, J.C., Neto, J.M., 2015. Setting reference conditions for mesohaline and oligohaline macroinvertebrate communities sensu WFD: helping to define achievable scenarios in basin management plans. Ecol. Indicat. 56, 171–183. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.04.008.
- Wasserman, J.C., Wasserman, M.A.V., Barrocas, P.R.G., Almeida, A.M., 2016. Predicting pollutant concentrations in the water column during dredging operations: implications for sediment quality criteria. Mar. Pollut. Bull. 108, 24–32. https://doi.org/10. 1016/j.marpolbul.2016.05.005.
- Wetzel, M. a., Wahrendorf, D.S., von der Ohe, P.C., 2013. Sediment pollution in the Elbe estuary and its potential toxicity at different trophic levels. Sci. Total Environ. 449, 199–207. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.016.
- Wolf, W.J., 1983. Estuarine benthos. In: In: Ketchum, B.H. (Ed.), Ecosystems of the World. Estuaries and Enclosed Seas, vol. 26. Elsevier, Amsterdam, pp. 337–374.

## 1 SUPPLEMENTARY DATA

- 2 Table S1. Means of water and sediment parameter over the sampling dates in both
- 3 salinity ranges. (CC: Control channel, CS: Control shallow, DC: Dredging channel, DS:
- 4 Dredging shallow).

			T (ºC)	рΗ	Salinity (PSU)	Oxigen (mg/l)	Redox	Turbidity (NTU)	% Organic matter	% Fines	Q50	Sel	SUOM	TSS
Oligohalin	e range													
C	c	mean	24.87	8.08	5.27	6.73	-59.89	998.31	2.51	38.40	0.18	1.44	0.06	0.84
C	C	SD	3.19	0.08	1.95	0.44	114.88	732.58	1.88	40.47	0.09	0.63	0.02	0.58
Г	c	mean	24.84	8.06	7.10	6.82	-113.14	822.60	2.42	45.67	0.15	1.31	0.05	0.69
	C	SD	3.11	0.08	2.41	0.46	94.17	277.02	1.12	30.95	0.05	0.26	0.01	0.65
C	·c	mean	24.98	8.08	4.94	6.75	-137.49	782.99	4.08	83.93	0.10	1.18	0.06	0.84
, c		SD	3.26	0.08	1.78	0.46	68.25	525.80	1.72	8.87	0.00	0.09	0.02	0.58
г	ic i	mean	25.28	8.06	6.88	7.05	-147.28	642.80	3.98	91.44	0.10	1.20	0.05	0.69
L	5	SD	3.32	0.06	1.97	0.53	66.42	400.62	1.07	5.71	0.00	0.01	0.01	0.65
Polyhaline	range													
C	c	mean	24.62	8.00	17.34	6.57	-26.97	405.04	3.20	34.50	0.16	1.29	0.04	0.35
C	C	SD	2.93	0.12	5.15	0.45	78.68	307.60	2.21	43.32	0.05	0.19	0.01	0.25
	c	mean	24.62	8.00	21.88	6.46	-35.61	351.97	3.37	37.65	0.17	1.36	0.02	0.14
	C	SD	2.96	0.12	7.57	0.40	78.56	396.67	2.31	46.39	0.07	0.30	0.00	0.09
c	·c	mean	24.91	8.01	16.16	6.87	-124.08	438.75	3.29	58.37	0.11	1.15	0.04	0.35
C	.5	SD	3.00	0.12	5.33	0.49	83.63	310.85	1.53	24.81	0.02	0.14	0.01	0.25
Г	s	mean	24.60	8.00	22.53	6.52	-98.13	263.62	5.74	86.48	0.10	1.18	0.02	0.14
	5	SD	2.97	0.13	7.61	0.44	57.92	151.90	2.75	12.52	0.01	0.04	0.00	0.09

5

- 6 Table S2. Means of heavy metal concentrations (mg/kg) before and after the dredging
- 7 operations in both salinity ranges at control and dredging areas. (CC: Control channel,
- 8 DC: Dredging channel).

9		As		Co	ł	Co	)	С	r	C	u	Hį	g	N	i	Pl	)	S	r	V	,	Zn
Oligohaline range		Before	After	Before	After Befo	re After																
CC	mean	9.53	9.16	0.18	0.18	9.77	8.94	37.03	25.81	29.28	18.69	0.00	0.24	24.37	18.40	24.23	21.48	249.75	216.98	50.54	39.10 74.6	4 61.24
	SD	0.44	2.79	0.02	0.07	0.60	1.87	2.06	12.20	2.01	11.85	0.00	0.29	2.45	5.72	4.53	5.71	16.73	79.77	2.85	18.80 7.8	9 20.42
DC	mean	7.32	11.11	0.18	0.20	8.11	9.23	24.76	19.24	16.17	14.49	0.01	0.21	17.56	15.89	20.38	18.29	202.57	199.95	35.58	30.05 53.6	3 52.59
	SD	0.67	7.62	0.07	0.08	0.71	2.17	9.77	8.51	7.12	7.94	0.01	0.21	4.47	3.04	4.78	4.35	36.84	71.54	11.24	13.54 12.6	5 12.70
Polyhaline range																						
CC	mean	5.93	6.95	0.22	0.15	7.04	7.58	15.06	17.80	9.91	13.37	0.00	0.23	12.67	13.63	16.95	16.36	185.30	211.68	23.25	28.40 43.4	7 50.93
	SD	1.67	1.45	0.06	0.05	1.05	0.88	6.50	7.84	5.02	9.20	0.00	0.16	3.00	2.88	3.20	2.05	31.54	57.02	7.69	12.11 9.0	9 12.73
DC	mean	5.80	15.77	0.13	0.24	6.73	8.82	7.81	32.36	4.06	27.42	0.22	0.21	8.70	20.50	16.13	24.80	168.01	261.42	12.43	47.66 35.3	3 76.97
	SD	0.79	9.97	0.12	0.15	0.25	2.10	0.70	18.30	0.54	17.71	0.19	0.21	1.59	9.19	1.36	7.53	78.69	62.91	1.82	24.95 4.6	3 32.59
- 10 Table S3. Means of the species abundances before and after the dredging operations
- in control and dredging areas of both channel and shallow habitats. (CC: Control
- 12 channel, CS: Control shallow, DC: Dredging channel, DS: Dredging shallow).

SpeciesCC	13				Oligo	haline							Poly	/haline			
BeforeAfter	Species	CC	2	D	С	C	S	D	S	C	C	D	2	C	S	[	DS .
Oligocheeta0.00 <td></td> <td>Before</td> <td>After</td>		Before	After	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
Capitellar expirata0.000.000.000.000.000.000.001.117.7810.005.5631.11Alporter bases0.00<	Oligochaeta	0.00	0.00	0.00	0.00	34.44	17.78	43.33	10.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.22	2.22	0.00	0.00
Glycene tesseleta0.000.	Capitella capitata	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	7.78	10.00	5.56	31.11
Syllida armata         0.00	Glycera tesselata	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	0.00	0.00	0.00	2.22	0.00	0.00	0.00
Nephtys hombergif0.000.000.000.000.000.000.000.000.011.111.114.440.002.22Heckick diversito0.00 </td <td>Syllidia armata</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td>	Syllidia armata	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11
Hedista diversicolor0.000.000.000.000.000.001.110.001.114.221.117.781.11Anoides avgephala0.000.0	Nephtys hombergii	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	4.44	0.00	2.22
Annetes expeptala         0.00 <td>Hediste diversicolor</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td> <td>1.11</td> <td>42.22</td> <td>1.11</td> <td>7.78</td> <td>1.11</td>	Hediste diversicolor	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	0.00	1.11	1.11	42.22	1.11	7.78	1.11
Polydox hoplura         0.00         0.00         0.00         0.00         0.00         0.00         1.11         205.6 \$0.00         1.11         8.89         0.00         2.22         5.56         0.11           Strebiospin shrubsolii         1.11         3.33         0.00         0.00         0.00         0.00         5.56         21.11         1.77.8         88.89         633.89         2128.89         526.67         127.44           Akmaria romini         0.00	Aonides oxyephala	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.44
Strebiospio shrubsolii         1.1         3.3         0.00         0.1         1.11         5.56         3.1.1         7.1.1         5.1.5         2.1.1         1.1.1         7.08         1.1.1         0.00         2.2.2         1.47.78           Alkmaria romijni         0.00	Polydora hoplura	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	205.56	50.00	1.11	8.89	0.00	2.22	5.56	0.00
Alkmaria romijni6.6710.002.2212.671.116.6725.005.5621.111.117.7811.113.0009.2.221.717Lagis korení0.000.0	Streblospio shrubsolii	1.11	3.33	0.00	0.00	1.11	1.11	5.56	31.11	71.11	51.11	234.44	58.89	6338.89	2128.89	526.67	1274.44
Lagis koreni0.00 <td>Alkmaria romijni</td> <td>6.67</td> <td>10.00</td> <td>2.22</td> <td>16.67</td> <td>1.11</td> <td>6.67</td> <td>26.67</td> <td>550.00</td> <td>5.56</td> <td>21.11</td> <td>1.11</td> <td>7.78</td> <td>11.11</td> <td>30.00</td> <td>92.22</td> <td>1477.78</td>	Alkmaria romijni	6.67	10.00	2.22	16.67	1.11	6.67	26.67	550.00	5.56	21.11	1.11	7.78	11.11	30.00	92.22	1477.78
Ampelsoa diadema0.000.000.000.000.000.000.000.000.000.001.110.00Bathporeia pilosa0.001.110.000.000.000.001.001.122.221.110.002.224.441.110.001.114.111.112.211.110.002.224.441.110.001.114.441.111.112.211.110.000.200.000.000.000.000.000.000.000.001.114.111.112.211.110.002.224.441.110.001.114.111.112.211.110.001.000.00 <td>Lagis koreni</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td> <td>0.00</td> <td>2.22</td> <td>1.11</td>	Lagis koreni	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	0.00	2.22	1.11
Bathyporeia pilosa       0.00       1.11       0.00       0.00       0.00       3.33       0.00       127.78       18.89       2367.78       258.89       1.11       21.11       11.00       1.11       11.11       12.22         Corophium orientale       0.22       2.44       1.11       0.00     <	Ampelisca diadema	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	0.00
Corophium orientale2.224.441.110.001.1134.442.1.112.221.110.002.223.330.001.111.1.112.22Monocorophium acherusicum0.00	Bathyporeia pilosa	0.00	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33	0.00	127.78	188.89	2367.78	258.89	1.11	21.11	10.00	1.11
Monocorophium acherusicum         0.00	Corophium orientale	2.22	4.44	1.11	0.00	1.11	34.44	21.11	2.22	1.11	0.00	2.22	3.33	0.00	1.11	11.11	2.22
Haustorius arenarius0.004.441.110.000.000.000.000.000.004.440.003.330.001.670.000.00Melita palmata0.00 </td <td>Monocorophium acherusicum</td> <td>0.00</td> <td>13.33</td> <td>0.00</td>	Monocorophium acherusicum	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	13.33	0.00
Melita palmata0.000.000.000.000.000.000.000.001.110.000.000.000.003.2.220.00Parapleustes assimilis0.000.	Haustorius arenarius	0.00	4.44	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.44	0.00	3.33	0.00	16.67	0.00	0.00
Parapleustes assimilis0.00<	Melita palmata	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	0.00	0.00	0.00	32.22	0.00
Alpheus macrocheles0.00	Parapleustes assimilis	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.44	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	0.00
Crangon crangon0.00	Alpheus macrocheles	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	1.11
Carcinus maenas0.000.000.000.000.000.000.000.000.000.000.000.000.001.110.00	Crangon crangon	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.22	1.11	0.00	0.00	1.11	0.00	0.00	0.00
Palaemon adspersus0.000.000.000.000.000.000.001.111.110.001.110.001.110.005.561.11Nepinnotheres pinnotheres0.00<	Carcinus maenas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	0.00
Nepinnotheres pinnotheres0.00 <td>Palaemon adspersus</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td> <td>1.11</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td> <td>0.00</td> <td>5.56</td> <td>1.11</td>	Palaemon adspersus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	1.11	0.00	1.11	0.00	1.11	0.00	5.56	1.11
Liocarcinus cf. marmoreus0.000.000.000.000.000.000.001.110.00 <td>Nepinnotheres pinnotheres</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td>	Nepinnotheres pinnotheres	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11
Cyathura carinata0.002.223.332.225.563.001.0044.44251.11194.446.6720.0024.4438.89120.00355.56Eurydice pulchra1.111.111.110.000.000.000.000.000.003.3310.006.670.00 <td>Liocarcinus cf. marmoreus</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td>	Liocarcinus cf. marmoreus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Eurydice pulchra1.111.111.110.000.000.000.000.003.3310.006.670.000.	Cyathura carinata	0.00	2.22	3.33	2.22	5.56	30.00	10.00	44.44	251.11	194.44	6.67	20.00	24.44	38.89	120.00	355.56
Paragnathia formica0.000.000.000.000.001.110.001.110.00	Eurydice pulchra	1.11	1.11	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33	10.00	6.67	0.00	0.00	0.00	0.00
Synidotea laticauda0.000.007.781.110.000.000.006.6714.441.111.110.001.116.673.33Lekanesphaera hoestlandti0.000.000.000.000.000.000.000.0011.111.110.000.000.006.670.00Lekanesphaera hoekeri1.110.001.110.001.110.00 <td>Paragnathia formica</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td>	Paragnathia formica	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	0.00	0.00	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lekanesphaera hoestlandti0.000.000.000.000.000.000.0011.111.110.00 </td <td>Synidotea laticauda</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>7.78</td> <td>1.11</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>6.67</td> <td>14.44</td> <td>1.11</td> <td>1.11</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td> <td>6.67</td> <td>3.33</td>	Synidotea laticauda	0.00	0.00	7.78	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00	6.67	14.44	1.11	1.11	0.00	1.11	6.67	3.33
Lekanesphaera hookeri1.110.001.110.000.000.002.220.00 <t< td=""><td>Lekanesphaera hoestlandti</td><td>0.00</td><td>0.00</td><td>0.00</td><td>0.00</td><td>0.00</td><td>0.00</td><td>0.00</td><td>0.00</td><td>11.11</td><td>1.11</td><td>0.00</td><td>0.00</td><td>0.00</td><td>0.00</td><td>6.67</td><td>0.00</td></t<>	Lekanesphaera hoestlandti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	11.11	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00	6.67	0.00
Lekanesphaera levii0.000.000.000.000.000.000.0062.220.0021.110.001.110.000.000.000.00Lekanesphaera rugicauda0.00	Lekanesphaera hookeri	1.11	0.00	1.11	0.00	0.00	0.00	2.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Lekanesphaera rugicauda0.00	Lekanesphaera levii	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	62.22	0.00	21.11	0.00	1.11	0.00	0.00	0.00
Mesopodopsis slabberi5.561.115.560.000.003.331.114.442.224.442.222.221.112.220.00Neomysis integer0.000.0	Lekanesphaera rugicauda	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Neomysis integer         0.00 <td>Mesopodopsis slabberi</td> <td>5.56</td> <td>1.11</td> <td>5.56</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>3.33</td> <td>1.11</td> <td>4.44</td> <td>2.22</td> <td>4.44</td> <td>2.22</td> <td>2.22</td> <td>1.11</td> <td>2.22</td> <td>0.00</td>	Mesopodopsis slabberi	5.56	1.11	5.56	0.00	0.00	0.00	3.33	1.11	4.44	2.22	4.44	2.22	2.22	1.11	2.22	0.00
Rhopalophthalmus tartessicus       0.00	Neomysis integer	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Chaetognatha       0.00       3.33       0.00       0.00       2.22       0.00       2.22       0.00 <td>Rhopalophthalmus tartessicus</td> <td>0.00</td> <td>3.33</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td>	Rhopalophthalmus tartessicus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pholas dactylus       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       1.11       3.33       0.00       0.00       4.44       0.00         Cerastoderma edule       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       1.11       3.33       0.00       0.00       4.44       0.00         Cerastoderma edule       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       1.11       1.11       2.22       0.00       2.22       22.22         Corbicula fluminea       2.22       0.00	Chaetognatha	0.00	3.33	0.00	0.00	0.00	2.22	0.00	2.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Cerastoderma edule       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       0.00       1.11       1.11       2.22       0.00       2.22       22.22         Corbicula fluminea       2.22       0.00 <td>Pholas dactylus</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td> <td>3.33</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>4.44</td> <td>0.00</td>	Pholas dactylus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	3.33	0.00	0.00	4.44	0.00
Corbicula fluminea       2.22       0.00       0.00       0.00       1.11       0.00       0	Cerastoderma edule	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	1.11	2.22	0.00	2.22	22.22
Scrobicularia plana         0.00 </td <td>Corbicula fluminea</td> <td>2.22</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>1.11</td> <td>0.00</td>	Corbicula fluminea	2.22	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Nemertea 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.	Scrobicularia plana	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.11	0.00	0.00	3.33	26.67	1.11	12.22
	Nemertea	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	8.89	1.11	3.33	2.22	0.00	1.11	6.67	0.00

Table S4. Average abundance (Av. Abund.) of the most relevant species over the sampling dates of samples in the polyhaline range. Species are listed in decreasing order according to their contribution to the average of the dissimilarity (Av. Diss.) between dates until 50% of the accumulated total similarity. Both impact and control areas are showed separately within their respective channel or shallow habitat.

> Dredging channel June vs July 2015

Bathyporeia pilosa

Dredging shallow June vs July 2015

Species

Control channel					
June vs July 2015	Jun	Jul	Average dissim	ilarity: 68.47	
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Polydora hoplura	16.21	0	13.43	1.55	19.62
Bathyporeia pilosa	1.72	13.88	11.7	1.6	17.09
Cyathura carinata	15.37	11.15	9.82	1.17	14.34
June vs October 2015	Jun	Oct	Average dissim	ilarity: 66.47	
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Polydora hoplura	16.21	0	16.33	1.66	24.54
Cyathura carinata	15.37	7.16	12.69	1.46	19.06
Streblospio shrubsolii	4.96	7.86	8.1	1.44	12.17
July vs October 2015	Jul	Oct	Average dissim	ilarity: 66.57	
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Bathyporeia pilosa	13.88	5.77	11.46	1.59	20.76
Cyathura carinata	11.15	7.16	10.39	1.11	18.83
Lekanesphaera levii	9.2	0	9.76	1.56	17.67
October 2015 vs August 2016	Oct	Aug	Average dissim	ilarity: 66.52	
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Bathyporeia pilosa	5.77	14.94	16.5	1.23	24.8
Cyathura carinata	7.16	13.67	12.53	1.32	18.84
Polydora hoplura	0	7.86	8.92	1.45	13.41
Control shallow					
June vs July 2015	Jun	Jul	Average dissim	ilarity: 33.52	
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Streblospio shrubsolii	89.23	61.9	9 18.83	1.24	56.18
June vs October 2015	Jun	Oct	Average dissim	ilarity: 33.71	
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av. Diss	Diss/SD	Contrib%
Streblospio shrubsolii	89.23	55.22	18.94	1.45	56.19
July vs October 2015	Jul	Oct	Average dissimilarity: 29.06		
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av. Diss	Diss/SD	Contrib%
Streblospio shrubsolii	61.9	55.22	15.77	1.35	54.27
October 2015 vs August 2016	Oct	Aug	Average dissim	ilarity: 46.41	
Species	Av.Abund	Av. Abund	Av. Diss	Diss/SD	Contrib%

Streblospio shrubsolii

Alkmaria romijni

55.22

1.22

28.1

5.08

22.57

3.42

1.22

1.01

48.62

7.37

June vs October 2015	Jun	Oct	Average dissir	nilarity: 49.09		
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	
Bathyporeia pilosa	30.16	18.03	19.65	1.26	40.03	
Streblospio shrubsolii	13.64	6.98	8.44	1.55	17.19	
July vs October 2015	Jul	Oct	Oct Average dissimilarity: 54.88			
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	
Bathyporeia pilosa	58.98	18.03	34.49	2.24	62.84	
Streblospio shrubsolii	15.71	6.98	6.97	1.74	12.7	
October 2015 vs August 2016	Oct	Aug	Average dissir	nilarity: 61.13		
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	
Bathyporeia pilosa	18.03	4.16	18.25	1.16	29.85	
Cyathura carinata	0	5.09	7.62	1.24	12.46	
Alkmaria romijni	0	3.93	6.34	4.31	10.37	

Jul

Jul

Av.Abund

58.98

Jun

Av.Abund

30.16

Jun

Average dissimilarity: 38.06

Average dissimilarity: 40.52

Diss/SD

1.26

Contrib%

53.92

Av.Diss

20.52

Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Streblospio shrubsolii	26.82	17.64	6.7	1.77	16.54
Alkmaria romijni	8.19	9.23	3.56	1.91	8.78
Cyathura carinata	8.75	12.05	3.44	1.28	8.48
Melita palmata	2.28	5.24	3.4	1.3	8.38
Monocorophium acherusicum	3.6	1.49	2.27	1.12	5.6
Nemertino	0.86	3.29	1.94	1.49	4.8
June vs October 2015	Jun	Oct	Average dissing	milarity: 39.33	
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Streblospio shrubsolii	26.82	23.57	5.39	1.35	13.71
Cyathura carinata	8.75	8.9	3.59	1.76	9.13
Capitella capitata	0.86	4.89	3.45	1.79	8.78
Alkmaria romijni	8.19	6.27	3.03	1.69	7.71
Cerastoderma edule	0.86	4.82	2.97	1.26	7.54
Monocorophium acherusicum	3.6	0	2.72	1.27	6.93
July vs October 2015	Jul	Oct	Average dissing	milarity: 43.72	
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Cyathura carinata	12.05	8.9	4.79	1.17	10.96
Streblospio shrubsolii	17.64	23.57	4.76	1.28	10.88
Melita palmata	5.24	0	3.66	1.19	8.37
Cerastoderma edule	0.86	4.82	3.09	1.28	7.07
Capitella capitata	1.72	4.89	3.03	1.44	6.92
Alkmaria romijni	9.23	6.27	2.93	1.16	6.7
October 2015 vs August 2016	Oct	Aug	Average dissing	milarity: 51.39	
Species	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD	Contrib%
Alkmaria romijni	6.27	53.2	24.33	6.72	47.34
Streblospio shrubsolii	23.57	43.49	10.15	2.12	19.74

Ciencia del Medio Ambiente Total 737 (2020) 139614

Listas de contenidos disponibles enCienciaDirecta



Ciencia del Medio Ambiente Total

revista Página de inicio:www.elsevier.com/localize/sci totenv

## Factores ambientales que afectan a la función de vivero de peces en los principales estuarios del golfo de Cádiz (suroeste peninsular)



## JM Miroa,,,C. Meginab, I. Donázar-Aramendíaa, MJ Reyes-Martínezc, JE Sánchez-Moyanod, JC García-Gómeza

aLaboratorio Biología Marina, Acuario de Sevilla I+D+I Área de Investigación Biológica, Departamento de Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Sevilla, España bBiodiversidad y Ecología Acuática, Acuario de Sevilla I+D+I Área de Investigaciones Biológicas, Departamento de Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Sevilla, España cInstituto Universitario de Investigación Marina (INMAR), Universidad de Cádiz, Puerto Real, Cádiz, España dDepartamento de Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, España

#### DESTACAR

estuarios

estuarios

#### GRÁFICAMENTE ABSTRACTO



0 510 20 30 4

#### información del artículo

Historial del artículo: Recibido el 24 de febrero de 2020 Recibido en forma revisada el 30 de abril de 2020 Aceptado el 19 de mayo de 2020 Disponible en línea el 27 de mayo de 2020

Las diferentes entradas de agua dulce modifican

fuertemente las propiedades ambientales de los

Los estuarios con gradiente de salinidad tienen densidades

más altas de etapas tempranas de la vida de los peces. • El bajo aporte de agua dulce limita la función

 Las floraciones recurrentes de medusas alteran la comunidad pelágica y el funcionamiento de los

de los estuarios como viveros.La materia orgánica del Guadalquivir sustenta las mayores densidades de

macrofauna acuática.

#### Montaje: Daniel Wunderlin

Palabras clave: Estuario Entrada de agua dulce gradiente de salinidad Materia orgánica Función de guardería Etapas tempranas de la vida de los pece

#### resumen

#### Los factores hidrológicos, geomorfológicos, fisicoquímicos y biológicos influyen en la función de vivero de los estuarios. Nuestro estudio comparó las condiciones ambientales y los ensambles de los primeros estadios de vida de los peces en los cuatro estuarios principales del Golfo de Cádiz (Bahía de Cádiz, Guadalquivir, Odiel-Tinto y Guadiana). Se tomaron muestras dentro de cada estuario y en su costa adyacente, durante las épocas secas-cálidas de 2016, 2017 y 2018. Los resultados mostraron que los ríos con cuencas más pequeñas tenían un aporte de aqua dulce muy bajo y sus estuarios, Odiel-Tinto y Bahía de Cádiz, estaban esencialmente extensiones marinas hacia la tierra, que contienen condiciones fisicoquímicas similares a las de las zonas cercanas a la costa, así como ensamblajes y densidades similares de las primeras etapas de la vida de los peces. Las masas de aguas abiertas de estos estuarios no tienen funciones importantes de vivero. A diferencia de, Las zonas interiores de los estuarios con cuencas más grandes y mayores caudales de agua dulce, Guadalquivir y Guadiana, tienen características ambientales diferentes y una zona de transición larga con un gradiente de salinidad bien definido. Sus ensamblajes y densidades de etapas tempranas de la vida de los peces fueron diferentes entre ellos y con otros estuarios. El estuario del Guadalquivir contuvo la mayor abundancia de larvas y juveniles tempranos de peces, así como biomasa de macrozooplancton. La especie de pez más abundante en todas las zonas de cada estero fue la anchoveta. El estuario del Guadalquivir contuvo la mayor abundancia de larvas y juveniles tempranos de peces, así como biomasa de macrozooplancton. La especie de pez más abundante en todas las zonas de cada estero fue la anchoveta. El estuario del Guadalquivir contuvo la mayor abundancia de larvas y juveniles tempranos de peces, así como biomasa de macrozooplancton. La especie de pez más abundante en todas las zonas de cada estero fue la anchoveta. Engraulis encrasicolus; la zona interior del Guadalquivir presenta la mayor densidad. La alta concentración de materia orgánica en suspensión, aportada por las aportaciones de agua dulce y correlacionada con los sólidos totales en suspensión, la materia inorgánica en suspensión y la turbidez, fue la característica fisicoquímica más característica del Guadalquivir. Esta característica, además del gradiente de salinidad, podría explicar las mayores densidades de macrozooplancton encontradas en este estuario y, en consecuencia, de los primeros estadios de peces. Las floraciones recurrentes de medusas fueron

\* Autor correspondiente.

Dirección de correo electrónico:jmmiro@us.es (JM Miró).

dal Madia Ambianta Tat

observados en la Bahía de Cádiz y la zona interior del Guadiana, afectando a sus funciones de vivero. Odiel-Tinto mostró características fisicoquímicas y biológicas alteradas, que pueden necesitar más investigación específica. © 2020 Elsevier BV Todos los derechos reservados.

#### 1. Introducción

Más del 60% de la población de la Tierra vive en zonas costeras (rayo, 2006) y un rápido desarrollo urbano y agrícola (Lee et al., 2012;Wu et al., 2019) están afectando las condiciones ambientales de los ríos, humedales, llanuras aluviales y estuarios por la alteración del caudal y el alto aporte de sedimentos, nutrientes o contaminantes (González-Ortegón et al., 2015; González-Ortegón y Drake, 2012; Rollos y Bond, 2017). Adicionalmente, el cambio climático global está imponiendo modificaciones complementarias: estudios recientes, basados - en 30 años de datos históricos, han encontrado una disminución significativa en las precipitaciones en las cuencas fluviales del centro-sur de Europa y del Mediterráneo (Xoplaki et al., 2004). Esto, sumado a la extracción antrópica de agua para diversos usos, ha resultado en un aumento del número de días con bajo caudal (Lobanova et al., 2018; Papadimitriou et al., 2016), especialmente durante el verano (Wanders et al., 2015). Se ha informado que estas modificaciones disminuyen el estado ecológico de los ecosistemas afectados (Poff y Zimmerman, 2010), siendo los peces un grupo taxonómico de mayor preocupación (Schinegger et al., 2016). Los estados miembros de la UE han legislado para administrar y proteger todas las aguas corrientes bajo la Directiva Marco de Estrategia Marina (MSFD, por sus siglas en inglés). Comisión Europea, 2008), pero los planes hidrológicos de cuenca de 2018 indicaban que el 60 % de las masas de agua europeas no lograban alcanzar un buen estado ecológico, ya que se ven afectadas por un conjunto complejo de factores de estrés (Agencia Europea de Medio Ambiente, 2018).

De los diferentes ecosistemas acuáticos impactados, los estuarios son particularmente importantes porque juegan un papel esencial en la función de crianza de muchas especies, especialmente para los peces marinos (Strydom et al., 2003). Estos ecosistemas generalmente brindan una alta disponibilidad de alimentos y un buen refugio de depredadores para las etapas tempranas de la vida de estos peces (Bosch y Eugene, 1984;Elliot y Hemingway, 2002). Sin embargo, la actividad humana puede modificar esta función, perturbando el régimen hidrológico y las características de la zona de transición entre aguas costeras y fluviales (Fernández-Delgado et al., 2007;Whitfield y Wooldridge, 1994; Whitfield et al., 2012). Estas modificaciones, a su vez, afectan características biológicas esenciales como la base de las redes alimentarias (producción primaria in situ y materia orgánica detrítica) y cómo la materia y la energía se transfieren primero al zooplancton y luego a las primeras etapas de la vida de los peces ( Donázar-Aramendía et al., 2019;Warry et al., 2016). Por ejemplo, el exceso de aportes de nutrientes puede causar eutrofización con la proliferación de algas tóxicas (Wolanski et al., 2006) o proliferación de medusas (Purcell et al., 1999); los aportes de sedimentos pueden aumentar la turbidez y, en consecuencia, limitar la actividad fotosintética y la productividad primaria empujando las redes alimentarias a un estado más heterótrofo (Ruiz et al., 2017b;Soetaert et al., 2006).

No hay dos estuarios con las mismas características bióticas y abióticas, ya que la cantidad y calidad de sus hábitats suele ser diversa (Vasconcelos et al., 2009). Las variables geomorfológicas tales como las áreas de las cuencas de los ríos y deltas, las arenas de barrera, la longitud del estuario, el ancho de la entrada, la profundidad media o el área plana intermareal también contribuyen a su diverso funcionamiento del estuario (Amezcua et al., 2019;Saintilán, 2004). Según lo declarado porWhitfield (1999), si los peces responden consistentemente al medio ambiente, se esperaría que los conjuntos que habitan tipos similares de estuarios en una región en particular reflejen esta similitud; por lo tanto, los estudios que comparan conjuntos de etapas tempranas de peces y las condiciones ambientales entre diferentes estuarios de la misma región son herramientas esenciales para comprender qué factores influyen en su reclutamiento exitoso y para aprender cómo manejar estos factores de manera sostenible, mejorando potencialmente los servicios ecosistémicos (Harrison y Whitfield, 2006). Además, este tipo de estudio muestra qué estuarios son más productivos para las diferentes especies, qué estuarios pueden proporcionar más reclutas para las poblaciones adultas.

y, en consecuencia, qué áreas deben protegerse como terreno de apoyo para el correcto funcionamiento de los ecosistemas y la gestión pesquera en la región. Sin embargo, la mayoría de los estudios se enfocan en peces adultos, no en etapas tempranas de vida. La investigación estuarina sobre las primeras etapas de los peces que comparan las asociaciones y las condiciones ambientales de dos o más estuarios, utilizando los mismos métodos de muestreo, esfuerzo, períodos y regiones climáticas, es todavía limitada (pero véaseMontoya-Maya y Strydom, 2009;Ramos et al., 2012; Strydom et al., 2003por ejemplo). Además, este tipo de estudios en estuarios templados es escaso, con algunos ejemplos en Sudáfrica (Grange et al., 2000;Harris y Ciro, 2000;Whitfield, 1994) pero ninguno en Europa. Las áreas cercanas a la costa de los estuarios también pueden ser áreas importantes de crianza (Capaz et al., 2013;Araújo et al., 2018), y algunos autores (Beck et al., 2001) propusieron que un estudio de la función de vivero también debería incluir una comparación con otros hábitats circundantes.

El Golfo de Cádiz (GoC) incluye varios estuarios permanentemente abiertos con diferentes regímenes de entrada de agua dulce y tipos de geomorfología ( González-Ortegón et al., 2018, 2019) y, muy probablemente, diferentes características ambientales (gradiente de salinidad, turbidez, materia orgánica, etc.) y biológicas (disponibilidad de presas, concentración de clorofila, etc.) (Drake et al., 2002;Drake y Arias, 1991;Faría et al., 2006). La proximidad de estos estuarios dentro de esta región y, por lo tanto, la influencia similar de algunos factores externos (posición geográfica relativa, clima, suministro de larvas provenientes del mismo stock, conectividad, circulación global de masas de agua dentro del Atlántico Norte, etc.) permiten una comparación informativa de variables específicas que gobiernan el uso de los estuarios por etapas tempranas de vida de los peces.

Los principales objetivos de este estudio son i) evaluar la función potencial de estos estuarios como áreas de crianza comparando las primeras etapas de vida de los conjuntos de peces con sus zonas costeras adyacentes, ii) comparar la estructura y composición de las primeras etapas de vida de los conjuntos de peces en estuarios con diferentes características hidrogeomorfológicas y ambientales y iii) identificar qué variables afectan las distribuciones de ensamblaje y cuantificar su influencia en el éxito de la crianza de cada estuario al comparar sus abundancias relativas de peces de vida temprana mientras se controla por metodología y período de tiempo. Las hipótesis de trabajo fueron: i) los estuarios con características similares tendrían ensamblajes de peces en etapas tempranas de vida similares, pero las variables ambientales clave generarían diferencias en estos ensamblajes;

#### 2. Material y métodos

#### 2.1. Área de estudio

El estudio se centró en una región templada del Atlántico Norte en particular a la entrada del Mar Mediterráneo, el Golfo de Cádiz (suroeste de la Península Ibérica), que exhibe algunas características climáticas atlánticas y mediterráneas típicas, y donde la pesca tiene un importante impacto económico. y rol laboral (Martí, 2018). En concreto, se llevó a cabo en las cuatro principales rías permanentemente abiertas: Guadiana, Odiel-Tinto, Guadalquivir y Bahía de Cádiz (Figura 1) y sus zonas cercanas a la costa.

estuario del Guadiana (37°13′33″N - 7°24′51″W) es un sistema delimitado por rocas de aproximadamente 80 km de longitud. Es un estuario mesomareal bien mezclado con un rango de amplitud de 2m, y su profundidad máxima varía entre 5 y 17m. Está orientado de norte a sur y es la conexión del río Guadiana (810 km de largo y 67.129 km2cuenca) con el Océano Atlántico (Garel y Ferreira, 2015). La entrada de agua dulce al estuario es



Figura 1.Área de estudio en el Golfo de Cádiz con estaciones de muestreo (azul: estaciones estuarinas internas; rojo: estaciones cercanas a la costa). (Para la interpretación de las referencias al color en la leyenda de esta figura, se remite al lector a la versión web de este artículo).

controlada por la presa de Alqueva, cuyo caudal medio anual entre 2016 y 2018 fue de 13,5 m<sub>3</sub>/s (Estación de Pulo do Lobo, a 60 km de la desembocadura del río – Agencia Portuguesa de Medio Ambiente–http://snirh.pt), pero oscila entre estaciones por las precipitaciones (Chícharo et al., 2001;Faría et al., 2006).

Ría Odiel-Tinto (37°12′30″N - 6°56′31″W) es un sistema de marismas de 14.900 ha, cuyos cauces principales de agua tienen una longitud total de 25 km. Es un estuario mesomareal bien mezclado con un rango de amplitud de 2 m (Ruíz et al., 1998), y su profundidad de canal oscila entre 3 y 15 m. Está formada por los ríos Odiel (128 km) y Tinto (83 km) (4761 km2 superficie total de la cuenca), cuyos caudales medios de agua fueron de aproximadamente 4,1 m3/s (estación de Calañas, a 50 km de la desembocadura) y 2,8 m3/s (estación Candón + estación Villarrasa, a 40 km de la desembocadura), respectivamente durante 2016-2018 (Agencia de Medio Ambiente y Agua de Andalucía, http://www.agenciamedioambienteyagua.es).

Estuario del Guadalquivir (36°51'27"N - 6°21'12"W) es un sistema mesomareal bien mezclado con un canal de 110 km de largo y un rango de amplitud de 3 m (Díez- Minguito et al., 2012). El cauce principal es navegable y tiene una profundidad media de 7,1 m (Ruíz et al., 2015). Río Guadalquivir (680 km de longitud y 57.527 km²cuenca) está comunicada con la ría por la presa de Alcalá del Río, que regula el caudal del río con un caudal medio de 39,7 m³/s (estación de Alcalá del Río, a 110 km de la desembocadura) durante 2016-2018 (SAIH Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, http://www.chguadalquivir.es/saih/DatosHistoricos.aspx).

Bahía de Cádiz (36°30'03"N-6°12'33"W) es un estuario de baja afluencia, dinámicamente corto e impulsado por las mareas, con un rango de amplitud de 3 m, que se puede dividir en dos cuencas: las bahías interior y exterior (Zarzuelo et al., 2015). La bahía exterior (7000 ha) está afectada por oleaje, corrientes de marea y bajos caudales de agua dulce del río Guadalete (166 km de longitud y 5960 km²cuenca), con un caudal medio de agua de aproximadamente 4,1 m³/s (estación Embalse de Arcos + estación Embalse de Guadalcaucín, a 58 km de la desembocadura) durante 2016-2018 (SAIH Hidrosur,http://www. redhidrosurmedioambiente.es/saih/). Fondos de arena (90%) y costas rocosas y acantilados (10%) caracterizan esta zona, que tiene una profundidad media de 15 m (Sánchez-Lamadrid et al., 2002). La bahía interior (5000 ha) es una laguna costera semicerrada con aguas someras de 3 m de profundidad promedio y un canal artificial de 8 m de profundidad. Esta zona se caracteriza por fondos fangosos, grandes planicies intermareales, una densa red de canales de marea y por el predominio de praderas de fanerógamas y algas marinas (principalmenteZostera noltii, Z. marina, Cymodocea nodosay Caulerpa prolifera;Brun et al., 2015).

Siguiendo la clasificación geológica de los tipos de estuarios porRoy et al. (2001), la Bahía de Cádiz se considera de tipo I, mientras que Odiel-Tinto, Guadalquivir y Guadiana de tipo II. En relación con las masas de agua, las rías del Guadalquivir y Guadiana se caracterizan por su gradiente longitudinal de salinidad (Chícharo et al., 2001;vanney, 1970), a diferencia de Odiel-Tinto y la Bahía de Cádiz, esencialmente marinas (Cánovas et al., 2007;Zarzuelo et al., 2017) durante la estación seca-cálida.

#### 2.2. Muestreo de campo

El muestreo se realizó durante la época seca-cálida (junio-julio) de 2016, 2017 y 2018. Se tomaron muestras de 20 estaciones con

De 3 a 5 repeticiones de cada uno: 5 estaciones por estuario, 3 en la zona interior de los estuarios y 2 en la ribera adyacente a la desembocadura del río (Figura 1). En los estuarios con gradiente de salinidad (Guadiana y Guadalquivir), las estaciones se distribuyeron a lo largo del rango de salinidad (entre 25 y 5 UPM); en estuarios completamente marinos (Odiel-Tinto y Bahía de Cádiz), las estaciones se distribuyeron espacialmente, cubriendo la mayor parte del área.

Las muestras se recolectaron siempre en la marea alta con una red de plancton de 1 m de diámetro y 1 mm de malla equipada con un medidor de flujo General Oceanics 2030R. Lances oblicuos de 12min (294±77m3; media ± DE) se realizaron con un barco a una velocidad de 2-2,5 nudos. Las muestras se fijaron en etanol al 70% y los primeros estadios de peces se separaron del resto de organismos del macrozooplancton. Los peces fueron identificados y cuantificados siempre que fue posible, a nivel de especie, y la biomasa de macrozooplancton se calculó en peso fresco.

Se registraron tres perfiles fisicoquímicos replicados de toda la columna de agua en cada estación con una multisonda (profundidad, temperatura, salinidad, turbidez, concentración de oxígeno disuelto (OD), saturación de oxígeno (OS), pH y concentración de clorofila (Chla); Eureka™ Manta2). Se tomaron muestras de agua a media profundidad con una botella Niskin para medir la clorofila (para calibrar el fluorímetro de la multisonda) y la concentración de sólidos suspendidos totales (TSS). Para medir los sólidos suspendidos totales (TSS), el agua se filtró a través de filtros precombustidos (4 h, 500 °C) de poro de 0,7 µm (Whatman GF/F); luego los filtros se secaron (24 h, 60 °C) y se pesaron. La materia orgánica suspendida (MOS) e inorgánica (SIM) se obtuvo como pérdida de peso por ignición (500 °C, 4 h). Los filtros de clorofila (Whatman GF/F) se mantuvieron congelados (-20 °C) hasta el análisis fluorométrico mediante el Manual de software del espectrofluorómetro de la serie FP-8000 (Corporación JASCO, 2011).

#### 2.3. Análisis de los datos

La abundancia de peces se estandarizó por volumen filtrado y se expresó como número de individuos/1000 m<sub>3</sub>. Los datos de densidad se organizaron en una matriz de abundancia de especie/muestra, y se calculó una matriz de similitud de Bray-Curtis en datos transformados con raíz cuarta con la adición de una variable ficticia (valor = 1) (Clarke et al., 2006), como una medida de distancia entre muestras (Bray y Curtis, 1957).

Las diferencias en la estructura multivariante de las etapas tempranas de la vida de los conjuntos de peces se analizaron en un análisis de varianza multivariante permutacional basado en la distancia (PERMANOVA) (anderson, 2001 ;Mcardle y Anderson, 2001). El diseño experimental incluyó 3 factores fijos cruzados: ubicación (con 4 niveles, "Guadiana, Odiel-Tinto, Guadalquivir y Bahía de Cádiz" [GN/OT/GO/CB]), zona (con 2 niveles, "Ría Interior y Costanera") y año (con 3 niveles, "2016, 2017 y 2018"), así como 1 factor aleatorio, "Estación", anidado dentro de "Ubicación", "Zona" y "Año". Las unidades de muestreo fueron las réplicas de 3 a 5 remolques seleccionados al azar en cada "Estación". Las interacciones significativas, si se detectaron, se exploraron más a fondo en análisis separados, dentro de los niveles de los factores que interactúan, es decir, las interacciones significativas entre "Ubicación" y "Zona" se analizaron más a fondo por separado por los estuarios GN/OT/GQ/CB y el estuario interior/ zonas cercanas a la costa. Cuando fue apropiado, los términos significativos en los modelos separados se analizaron individualmente mediante la comparación por pares con la prueba PERMANOVA.

Las distancias entre muestras de cada localidad fueron representadas por análisis de coordenadas principales (PCO). SENCILLO (Clarke, 1993) se utilizó para identificar la contribución porcentual que cada taxón hizo a las medidas de similitud y disimilitud entre los diferentes niveles de los factores fijos cruzados de ubicación y zona. Los análisis multivariados se realizaron utilizando el software PRIMER v6.1.11 y el paquete estadístico PERMANOVA+ v1.0.1 (Clarke y Gorley, 2006).

Examinamos diferencias significativas en la abundancia total (ind./1000 m<sub>3</sub>) utilizando pruebas PERMANOVA en matrices de distancia euclidianas, en un enfoque similar al ANOVA paramétrico (anderson, 2001), utilizando el mismo diseño que para la estructura de ensamblaje. Cuando fue apropiado, los términos significativos en el modelo completo se analizaron individualmente mediante la comparación por pares con la prueba PERMANOVA. Para obtener un único valor de las variables fisicoquímicas registradas con la multisonda, para utilizarlas como covariables, se ajustó en cada estación un modelo mixto aditivo generalizado, utilizando como aleatorios los perfiles individuales replicados y obteniendo el suavizante común (Zuur et al., 2015). Esto permite que un valor medio único apropiado represente la columna de agua completa. Los resultados de todas las variables ambientales, junto con la abundancia de macrozooplancton y medusas, se graficaron con boxplot agrupados por ubicación y zona utilizando el paquete "ggplot2" del software R 3.5.2 (Equipo central R, 2018).

Para identificar qué factores fueron los más importantes en la caracterización de las diferencias entre los ensambles de cada localidad y zona, se realizó un análisis de redundancia basado en la distancia (dbRDA). Se construyó una matriz utilizando las estaciones como columnas y los valores medios de las variables ambientales como filas. También se incluyeron variables hidrogeomorfológicas como la longitud del río, la longitud del estuario, el área de la cuenca del río, la profundidad media del fondo y la entrada media anual diaria de agua dulce (ver datos en la sección del área de estudio). Variables que estuvieron altamente correlacionadas (r≥0.7) (turbidez, TSS, SIM, OS, longitud del río y del estuario) fueron excluidos del análisis. La multicolinealidad de las variables seleccionadas se analizó más a fondo con una prueba del factor de inflación de la varianza (VIF) utilizando la función "vif" del paguete "car" (Fox y Weisberg, 2011) en el software R. Todas las variables del mejor modelo seleccionado tenían un VIFb10 (Zuur et al., 2009). Las variables seleccionadas se normalizaron y se calculó una matriz de similitud basada en la distancia euclidiana. Se construyó una matriz de similitud basada en la distancia de Bray Curtis con el valor medio transformado a raíz cuarta de cada estación en cada ubicación y zona durante cada año para las etapas tempranas de la vida del ensamble de peces. Tanto las matrices como el análisis de relaciones se realizaron con el software PRIMER v6.1.11.

#### 3. Resultados

#### 3.1. Análisis de ensamblaje

En total, 20839 individuos de peces en etapas tempranas de vida pertenecientes a 34 especies, 20 géneros, 19 familias y 8 órdenes fueron capturados tanto en zonas estuarinas como cercanas a la costa en las 20 estaciones durante la temporada de verano de 2016, 2017 y 2018 (tabla 1). Entre las localidades, se recolectaron un total de 23 especies en Guadalquivir, 21 en Guadiana, 19 en Odiel-Tinto y 16 en la Bahía de Cádiz.

La estructura del conjunto varió entre estaciones aleatorias dentro de la misma zona y también varió interactivamente entre ubicaciones y zonas y entre ubicaciones y años; es decir, las diferencias entre el interior del estuario y las zonas cercanas a la costa no fueron las mismas en todos los lugares, y las diferencias entre años también fueron diferentes en distintos lugares (Tabla 2).

Análisis PERMANOVA, separando los niveles cerca de la costa y del interior del estuario de la zona del factor (Tabla 3), no reveló diferencias entre las zonas cercanas a la costa de todas las localidades, pero sí mostró diferencias significativas entre los estuarios interiores. La comparación por pares mostró que los dos estuarios interiores con un gradiente de salinidad bien desarrollado, GQ y GN, eran diferentes entre ellos y el resto de estuarios, mientras que los dos estuarios con ambiente marino, OT y CB, no lo eran. Además, las diferencias entre años fueron significativas tanto en los estuarios interiores como en sus zonas costeras cercanas, sin un patrón común claro.

Análisis PERMANOVA, separando cada ubicación (Tabla 4), detectaron diferencias entre estuarios costeros e interiores en GQ y GN pero no en CB y OT. Los diagramas de PCO para cada estuario muestran claramente estas diferencias entre los dos tipos de estuarios (Figura 2). El año fue significativamente diferente en GN, OT y CB pero no en GQ. El análisis post hoc por pares del factor año no mostró ningún patrón en común para los tres estuarios en sus zonas internas.

El análisis SIMPER de ubicación y zonas combinadas mostró que la anchovetaEngraulis encrasicolusfue la especie más consistente en todos los casos (Tabla 5). Adicionalmente, en CB, la zona estuarina interior también estuvo representada porDiplodus anularisyhipocampo hipocampo,

#### tabla 1

Distribución espacial y densidades medias totales (ind./1000m3) de peces en estadios tempranos de vida en la Bahía de Cádiz, Guadalquivir, Odiel-Tinto y estuario interior del Guadiana y zonas litorales adyacentes durante la estación seca-cálida de 2016, 2017 y 2018.

Ordenar	Familia	géneros	Especies	Bahía de Cádiz		Guadalo	Guadalquivir		into	Guadiana	
				cerca de la costa	Interno	cerca de la costa	Interno	cerca de la costa	Interno	cerca de la costa	Interno
					Estuario		Estuario		Estuario		Estuario
perciformes	Ammodytidae		Ammodytidaesp.	0	0	0.10	0	0	0	0	0
Anguilliformes	Anguillidae	anguila	anguila anguila	0	0	0	0.47	0	0	0	0
perciformes	Gobiidae	afia	Aphia minuta	0	0	2.47	0.06	0	0.06	0	0
perciformes	Scianidae	Argyrosomus	Argyrosomus regius	0	0	0.85	13.16	0	0.07	0	0
Atheriniformes	aterínidos	Atherina	Atherinasp.	0	0.10	0	0	0	0.06	0	0
Beloniformes	belónidos	Belone	belone belone	0	0.11	0	0	0	0	0	0
perciformes	Blenniidae		Blenniidaesp.	0.15	0	0.49	0	2.91	0.86	1.26	0
perciformes	callionímidos		calionimosp.	0	0	0	0	1.74	0,65	0,46	0
clupeiformes	clupeidos		clupeidossp.	0	0	0	0.06	0	0	0.29	0.14
perciformes	Morónidos	dicentarco	Dicentrarchus punctatus	0	0.10	0	3.46	0	0	0	0
Pleuronectiformes S	oleidae	dicologlosa	Dicologlossa cuneata	0	0	0.49	0	1.79	0	0.19	0
Perciformes	Sparidae	Diplodus	Diplodus anularis	3.32	5.57	1.69	0.29	6.94	1.04	5.38	0.08
perciformes	Sparidae	Diplodus	Diplodussp.	0	0.11	0	0	0	0	0.47	0
clupeiformes	Engraulidae	Engraulis	Engraulis encrasicolus	24.52	25.25	48.57	761.31	39.67	10.63	21.41	162.09
Batrachoidiformes	Batrachoididae	Halobatrachus	Halobatrachus didactylus	0.41	0.73	0	0.09	0	0	0	0
Syngnathiformes	Syngnathidae	Hipocampo	hipocampo hipocampo	0	0,95	0.12	0	0.12	0.91	0	1.66
perciformes	Labridae		Labridaesp.	0	0	0.24	0	0.10	0.27	0	0.23
perciformes	Blenniidae	Lipophrys	Lipophrys pholis	0.71	0.31	0.23	0	0	0	0.10	0
perciformes	Mugilidae	Quelón	Quelon auratus	0	0	0	0.12	0	0	0	0
perciformes	Mugilidae	Quelón	Quelón ramada	0	0	0	0.07	0	0	0	0
perciformes	Sparidae	Pagrus	Pagrus pagrus	0	0	0	0	0	0	0.49	0
perciformes	Haemulidae	Pomadasis	incisivo pomadasys	0	0	1.01	0	1.46	0	0.93	0
perciformes	Gobiidae	Pomatoschistus	Pomatoschistussp.	0	0,95	0	409.42	0.23	0.73	0.19	89.64
pleuronectiformes	Soléidos	soleá	Solea senegalensis	0	0.22	0.12	0.12	0.72	0.92	0.38	0.14
pleuronectiformes	Soléidos		Soléidossp.	0	0	1.47	0	0.38	0.53	0.12	0.25
Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus	Syngnathus acus	0	0,45	0	0	0.25	0.20	0.10	4.07
Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus	Typhle de Syngnathus	0	0,55	0	0.35	0	0.06	0	13.74
perciformes	carángidos	trachurus	trachurus trachurus	0	0	0.38	0	2.02	0.15	0.12	0
perciformes	Scianidae	Umbrina	Umbrina cirrosa	0.21	0	0.38	0.09	0	0	0	0
Desconocido			Desconocido sp1	0	0	0	0	0	0	0.12	0
Desconocido			sp2 desconocido	0	0	0	0	0	0	1.11	0
Desconocido			sp3 desconocido	0	0	0	0	0.13	0	0	0
Desconocido			sp4 desconocido	0	0.20	0	0	0.11	0.07	0	0
Desconocido			sp5 desconocido	0	0	0	0	0	0	0.12	0

#### Tabla 2

Resultados PERMANOVA de la matriz de similitud de Bray-Curtis basada en los datos de la comunidad transformados por cuarta raíz.

Fuente	d.f.	EM	Pseudo-F	PAG	Único
				(permanente)	permanentes
Localización	3	13,199	4.64	norte0.001	9915
Zona	1	27,036	9.74	norte0.001	9943
Año	2	13,866	4.99	norte0.004	9945
Ubicación × Zona	3	14,056	4.94	norte0.001	9923
Ubicación × Año	6	5091.2	1.78	0.011	9898
Zona × Año	2	3886.4	1.40	0.166	9919
Ubicación × Zona × Año	6	2429	0.85	0.697	9880
Estación (Zona × Ubicación ×	36	2863.4	4.71	norte0.001	9771
Año)					
res	205	607.4			
Total	264				

mientras que la zona cercana a la costa estaba dominada sólo porE. encrasicoluscon más del 95% de aporte de similitud. En la ría de Odiel-Tinto, exceptoE. encrasicolus, D. annularisyBlennidae sp1también contribuyó a la similitud de la zona cercana a la costa, yH. hipocampo, Blenniidae sp1ySolea senegalensisa la similitud de la zona estuarina interior. Similar a OT, en las zonas cercanas a la costa de los estuarios GQ y GN,

E. encrasicolusyD. anularisfueron las especies que más contribuyeron a su similitud. En las zonas interiores de estuarios con gradiente de salinidad bien desarrollado, el aporte de anchoveta disminuyó (45,5% en GQ y 54,1% en GN), compartiendo hábitat con el gobioPomatoschistus sp., que tuvo un 40,9% en GQ y un 24,2% en GN. Adicionalmente, otras especies fueron características de la zona estuarina de GQ, comoArgyrosomus regius,y de GN, comoTyphle de SyngnathusyS.acus.

La abundancia total de los primeros estadios de vida de los peces varió significativamente entre localidades y zonas, con valores más altos en las zonas internas del estuario con un gradiente de salinidad longitudinal, GQ y GN (Fig. 3). Además, el estuario interior de GQ fue la zona con mayor densidad, hasta 5

Tabla 3

Resultados de PERMANOVA de la matriz de similitud de Bray-Curtis basada en los datos de la comunidad transformados con raíz cuarta para niveles de zona separados después de la interacción significativa Ubicación × Zona.

Fuente	estuario interior						cerca de la costa				
	d.f.	EM	Pseudo-F	P (permanente)	permanentes	d.f.	EM	Pseudo-F	P (permanente)	permanentes	
Localización	3	28,619	11.37	norte0.001	9913	3	3533.9	1.02	0.435	9941	
Año	2	5287.1	2.14	0.032	9934	2	11,420	3.42	0.005	9938	
Ubicación × Año	6	3858.8	1.53	0.050	9907	6	3657.7	1.06	0.409	9912	
Estación (Ubicación × Año)	24	2558.1	4.35	norte0.001	9788	12	3473.9	5.46	norte0.001	9846	
Res	121	587.4				84	636.2				
Total	156					107					

#### Tabla 4

Resultados de PERMANOVA de la matriz de similitud de Bray-Curtis basada en los datos de la comunidad transformados con raíz cuarta para niveles de ubicación separados después de la interacción significativa Ubicación × Zona.

Fuente	antes de Criste	antes de Cristo			GQ			Antiguo Testamento			GN		
	d.f.	Pseudo-F	P (permanente)	d.f.	Pseudo-F	P (permanente)	d.f.	Pseudo-F	P (permanente)	d.f.	Pseudo-F	P (permanente)	
Zona	1	1.46	0.217	1	12.45	norte0.001	1	2.49	0.058	1	5.17	0.011	
Año	2	2.90	0.014	2	0.82	0.592	2	4.06	0.004	2	3.29	0.012	
Zona × Año	2	0.88	0.561	2	0.90	0.540	2	1.12	0.372	2	1.23	0.295	
Estación (Zona × Año)	9	2.43	norte0.001	9	10.15	norte0.001	9	2.90	norte0.001	9	5.90	norte0.001	
res	31			60			60			54			
Total	45			74			74			68			



Figura 2.Diagramas de ordenación de Análisis de Coordenadas Principales (PCO) en etapas tempranas de vida de peces de ensamblaje de peces para cada ubicación (Bahía de Cádiz, Guadalquivir, Odiel-Tinto y Guadiana). Muestras codificadas por zonas.

veces más que GN (t = 2,40; p = 0,03) y 25 veces más que CB (t = 2,88; p = 0,01) y OT (t = 3,27; pb0,01). No se encontraron diferencias significativas a lo largo de los años, ni entre zonas cercanas a la costa.

#### 3.2. Análisis ambiental

Se presentaron diagramas de caja de todas las variables por ubicación y zona para el período de estudio completo (Figura 4), además de sus valores medios y rango en el apéndice (Tabla A.1). La salinidad mostró claramente la diferente estructura de los estuarios estudiados, con valores más bajos y un amplio rango de variación en las zonas internas de aquellos estuarios con gradiente de salinidad bien desarrollado, como GQ y GN. Las costas cercanas a todos los estuarios y zonas internas de OT y CB mostraron una salinidad del ambiente marino típico. Relacionado con esto, los dos estuarios con un gradiente de salinidad bien desarrollado mostraron mayor turbidez, lo que también se correlacionó directamente

con TSS, SOM y SIM. Los valores más altos se encontraron en el estuario interior de GQ, seguido de la zona interior de GN. En ambos estuarios, la turbidez aumentó gradualmente en las estaciones aguas arriba. En el resto de las zonas, el agua era más clara. Como era de esperar, las zonas internas mostraron temperaturas más altas en todos los estuarios, mientras que las zonas cercanas a la costa presentaron un gradiente con temperatura más baja en GN y aumentando gradualmente hacia la parte más interna del GdC. En general, los estuarios presentaron valores más altos de DO y OS en su zona cercana a la costa que en sus zonas estuarinas internas, con una diferencia más notoria en GQ. En cuanto a la concentración de clorofila, CB mostró valores similares en la bahía interna y externa, y OT y GN mostraron valores claramente superiores en sus zonas estuarinas internas, mientras que este patrón se invirtió en GQ. Con respecto a la biomasa de macrozooplancton, las zonas estuarinas de GQ y GN presentaron densidades altas, siendo mayores en GQ que en GN. Se encontraron grupos taxonómicos similares en ambos estuarios, principalmente isópodos, decápodos

60

60

#### Tabla 5

Resultados del análisis SIMPER sobre la abundancia de todas las especies de peces larvarios y juveniles de todas las zonas (Ría Interior y Ribera) de las cuatro localidades estudiadas (Bahía de Cádiz, Guadalquivir, Odiel-Tinto y Guadiana).

cerca de la costa				estuario interior						
Especies	AV. abundar	contribución %	Semen. %	Especies	AV. abundar	contribución %	Semen. %			
Bahía de Cádiz										
Promedio de similitud: 33.18				Promedio de similitud: 33,79						
Engraulis encrasicolus	1.49	95.56	95.56	Engraulis encrasicolus	1.66	78.68	78.68			
				Diplodus anularis	0,60	13.37	92.05			
				hipocampo hipocampo	0.31	3.25	95.30			
Guadalquivir										
Promedio de similitud: 28,69				Promedio de similitud: 65.12						
Engraulis encrasicolus	1.81	91.73	91.73	Engraulis encrasicolus	4.31	45.45	45.45			
Diplodus anularis	0.33	2.82	94.55	Pomatoschistus sp.	3.70	40.88	86.32			
Aphia minuta	0.28	1.44	95.98	Argyrosomus regius	1.35	10.42	96.74			
odiel tinto										
Promedio de similitud: 46,98				Promedio de similitud: 40.44						
Engraulis encrasicolus	2.18	83.04	83.04	Engraulis encrasicolus	1.49	89.52	89.52			
Diplodus anularis	0.80	8.49	91.54	Hipocampo hipocampo	0.28	3.07	92.58			
Blennidae sp1	0.54	3.86	95.40	Blenniidae sp1	0.26	1.78	94.36			
				Solea senegalensis	0.23	1.52	95.88			
Guadiana										
Promedio de similitud: 27,72				Promedio de similitud: 45,49						
Engraulis encrasicolus	1.52	68.10	68.10	Engraulis encrasicolus	2.65	54.12	54.12			
Diplodus anularis	0.83	20.54	88.64	Pomatoschistus sp.	1.89	24.21	78.33			
Blennidae sp1	0.34	6.28	94.91	Typle Syngnatus	1.18	14.50	92.83			
Desconocido 2	0.23	1.09	96.01	Syngnatus acus	0.51	3.62	96.45			

y mysids, siendo este último orden el más abundante. Se encontraron medusas en los estuarios de GN y CB. GN tuvo las densidades más altas, con Blackfordia virginicacomo especie principal junto con los ctenóforos del géneroBolinopsis.Además, grandes individuos de las medusasCatóstilo tagi se encontraron en altas densidades (no proporcionamos una estimación de estas densidades porque no se puede estimar correctamente con una red de plancton). Aunque no hubo cantidades importantes de medusas en 2016 (soloC. Tagien estación polihalina), en 2017 y 2018, hubo floraciones de las exóticasB. virginicainvadiendo las aguas polihalinas y mesohalinas (24–7 UPM) del estuario interior, con densidades medias de 1918 ± 621 y 2346± 717 ind./100 m3(media ± SE), respectivamente, y una densidad máxima de 5290 ind./100 m3. Por lo demás, el estuario de CB contenía altas densidades de ctenóforos.Bolinopsis sp.,aunque esto fue solo en la bahía interior de 2017 (71 ± 13 ind./100 m3) y ambas zonas en 2018 (nave interior: 3 ± 1 ind./ 100 m3; bahía exterior: 32 ± 20 ind./100 m3). Él



Fig. 3.Abundancia total (media ± SE) de las primeras etapas de vida de los peces por ubicación y zona durante todo el período estudiado (2016-2018). Los asteriscos indican diferencias significativas entre el estuario interior y las zonas cercanas a la costa de cada ubicación. Letras diferentes indican diferencias significativas entre ubicaciones dentro de cada zona. La misma especie de ctenóforos también se capturó en muestras cercanas a la costa de GQ, pero con un biovolumen total bajo.

La estructura de los ensambles de larvas de peces se relacionó con las variables ambientales seleccionadas (Figura 5). El análisis de ordenación obtuvo una correlación del 42,8% y los dos primeros ejes dbRDA explicaron el 28,2% de la variación total. La salinidad, que estaba inversamente relacionada con la entrada de agua dulce, el área de la cuenca (directamente correlacionada con la longitud del estuario y la longitud del río), el macrozooplancton y la SOM (directamente correlacionada con la turbidez, SST y SOM) separan los conjuntos internos GN y GQ del resto de zonas en el primer eje . A lo largo del eje dos, variables como medusas, temperatura y Chla agruparon conjuntos de ambas zonas CB y varias estaciones del estuario interior GN; inversamente relacionadas con estas variables, el pH, el OD (directamente correlacionado con la OS) y la profundidad del fondo asociaron los ensamblajes del resto de zonas cercanas a la costa.

#### 4. Discusión

Los ensamblajes de las primeras etapas de los peces mostraron claras diferencias entre las ubicaciones y zonas del Golfo de Cádiz. Esta variación está significativamente relacionada con algunas variables hidrogeomorfológicas, fisicoquímicas y biológicas, especialmente el gradiente de salinidad generado por el aporte de agua dulce, la temperatura, la profundidad del fondo, la materia orgánica en suspensión, la clorofila-a, el macrozooplancton y las medusas. Sin embargo, otras variables también pueden influir en las variaciones del ensamblaje, como algunas características intrínsecas de cada sistema o algunos efectos derivados de las presiones antrópicas. Sin embargo, las diferencias observadas no fueron las inicialmente planteadas. Durante la marcada estación seca que caracteriza a esta región, los ríos con cuencas más pequeñas, mostraron un aporte de agua dulce muy bajo y sus estuarios, OT y CB, fueron esencialmente extensiones marinas hacia la tierra, con condiciones fisicoquímicas similares a las zonas cercanas a la costa, así como ensamblajes similares de etapas tempranas de la vida de los peces. En cambio, los estuarios de GQ y GN se diferenciaron entre ellos y el resto de las zonas. Como era de esperar, las condiciones climáticas y ambientales regionales imponen características similares para todas las zonas externas y estamos muy influenciados por las condiciones generales del GdC. La principal variabilidad ambiental entre las áreas costeras fue el gradiente de temperatura, aumentando a medida que ingresa al GdC ( las condiciones climáticas y ambientales regionales imponen características similares para todas las zonas externas y estamos muy influenciados por las condiciones generales del GdC. La principal variabilidad ambiental entre las áreas costeras fue el gradiente de temperatura, aumentando a medida que ingresa al GdC ( las condiciones climáticas y ambientales regionales imponen características similares para todas las zonas externas y estamos muy influenciados por las condiciones generales del GdC. La principal variabilidad ambiental entre las áreas costeras fue el gradiente de temperatura, aumentando a medida que ingresa al GdC (Vargas et al., 2003). Algunas diferencias fueron



Figura 4.Boxplot de todas las variables (TSS: sólidos suspendidos totales; SOM: materia orgánica en suspensión; SIM: materia inorgánica en suspensión; DO: oxígeno disuelto; OS: saturación de oxígeno) en cada localidad (CB: Bahía de Cádiz; GQ: Guadalquivir; OT: Odiel- Tinto; GN: Guadiana) y zona (estuario interior: azul; litoral: rojo) durante el periodo de estudio (estaciones secas-cálidas de 2016, 2017 y 2018). (Para interpretación de las referencias a color en la leyenda de esta figura, el lector se refiere a la versión web de este artículo.)



Figura 5.Ordenación de estaciones de muestreo a lo largo de los dos primeros ejes del análisis de redundancia basado en la distancia (dbRDA) relacionando todas las especies con variables ambientales (flechas azules) durante 2016, 2017 y 2018. Chla: clorofila-a; MOS: materia orgánica en suspensión; DO: oxígeno disuelto; CB: Bahía de Cádiz; GQ: guadalquivir; AT: Odiel-Tinto; GN: Guadiana. (Para la interpretación de las referencias al color en la leyenda de esta figura, se remite al lector a la versión web de este artículo).

también se observó en DO y OS, con valores más bajos en CB, probablemente asociado a su particular morfología de bahía, lo que potencialmente redujo la renovación del agua. La menor profundidad media del fondo de su bahía interior también permitió un aumento de la temperatura. Aún así, estas diferencias no parecieron limitar la comunidad biológica y no generaron diferencias significativas en la distribución de las primeras etapas de vida de los peces, la estructura de sus ensamblajes y sus densidades totales. Esta condición homogénea en las zonas cercanas a la costa ayuda a discernir con mayor precisión qué variables ambientales (bióticas y abióticas) de las zonas internas de los estuarios provocan diferencias en las asociaciones. La principal especie capturada en todas las zonas costeras y estuarios interiores sin gradiente de salinidad (OT y CB) fueEngraulis encrasicolus,seguida por individuos de las familias Sparidae (Diplodus anularis)y Blenniidae. Una composición de especies similar fue encontrada porBaldo et al. (2006)en un estudio del ictioplancton en aguas marinas y costeras del Golfo de Cádiz;

E. encrasicolusfue la especie más abundante durante la misma temporada, aunque encontraron mayores abundancias en las zonas costeras adyacentes de GQ y OT que en GN (tendencia también observada en este estudio pero sin significancia estadística). Todas estas zonas mostraron condiciones ambientales marinas similares, caracterizadas por salinidad alta y homogénea, aguas claras y baja biomasa de macrozooplancton. Solo el estuario interior de OT parece comportarse de manera diferente, mostrando la densidad y el pH promedio más bajos. Sin embargo, se trata de un estuario esencialmente marino con una concentración de clorofila comparativamente alta, que en sus aguas no turbias tendería a aumentar el pH durante el día mediante una actividad fotosintética más intensa.Nieto et al., 2007). Además, la profundidad del fondo parece influir en sus ensamblajes, como han encontrado otros autores para la composición de peces demersales (Araújo et al., 2002); las estaciones cercanas a la bocana del estuario fueron las más profundas del estudio, debido al cauce de navegación de las embarcaciones hacia el puerto interior.

Por el contrario, los conjuntos de peces larvarios y juveniles tempranos en los estuarios interiores de GN y GQ fueron significativamente diferentes entre sí y en todas las demás zonas estuarinas y cercanas a la costa. Estos estuarios, que drenan las dos cuencas más grandes de la región, mantienen un aporte continuo de agua dulce incluso en la estación seca, lo que mantiene una salinidad bien desarrollada.

degradado. Se ha demostrado que la salinidad influye fuertemente en las comunidades biológicas, especialmente en los conjuntos de peces (Amezcua et al., 2019;Araújo et al., 2018;Barletta et al., 2004) y la función de vivero de los estuarios (Francia et al., 2009;Whitfield y Harrison, 2003). Una de las especies más abundantes, y la única característica de estos estuarios con salinidad reducida, fue el gobioPomatoschistussp. Es una especie estuarina residente bentónica (Dolbeth et al., 2007;Pampoulie et al., 1999). Estudios previos en GQ y GN han reportado la alta contribución del gobio a sus estructuras de ensamblaje (Drake et al., 2002;Faría et al., 2006), pero también habita en zonas costeras y lagunas, y se ha registrado en canales intermareales de las marismas de CB (Drake y Arias, 1991). Con un propósito comparativo, esta investigación se centró en un hábitat bien representado en todos los estuarios estudiados: las masas de agua abierta (desde el fondo hasta la superficie), que incluye los cuerpos de agua más grandes, los canales principales y las praderas de pastos marinos (Brun et al., 2015).

Aunque ambos estuarios presentaron una zona de salinidad de transición similar, surgieron algunas características distintivas entre ellos, mostrando diferencias en sus densidades y ensamblajes de etapas tempranas de la vida de los peces. Por ejemplo, especies comoArgyrosomus regiusyDicentrarchus punctatus,que son importantes para el sector pesquero de la región (Catalán et al., 2006;González-Quirós et al., 2011), son características de la zona interior de GQ. En GN, las especies de Syngnathidae fueron más representativas, donde las marismas mareales y las praderas de fanerógamas marinas (Cunha et al., 2013) podría proporcionar hábitats favorables para estas especies (Foster y Vicente, 2004). Aún más ilustrativo es el caso de la anchoa

E. encrasicolus.Esta especie fue la más abundante en la región durante el período estudiado y fue dominante en todas las zonas. Es una especie migratoria marina muy importante para las pesquerías de la región (Ruiz et al., 2017a), y su período de reclutamiento es durante la estación cálido-seco (Baldó et al., 2006;Drake et al., 2007). Su importancia como especie dominante y abundante ha sido previamente reportada en la ría del Guadiana (Faría et al., 2006), Bahía de Cádiz (Drake y Arias, 1991), estuario del Guadalquivir (Drake et al., 2007) y en aguas costeras del Golfo de Cádiz (Baldó et al., 2006). Nuestro enfoque comparativo, utilizando la misma metodología, artes de muestreo y periodo de estudio durante tres temporadas cálidas y secas consecutivas, avala la importancia de esta especie en toda la región y en todos los estuarios, mostrando la ría del Guadalquivir como su principal zona de cría con una notable mayor densidad.

De Carvalho-Souza et al. (2018)mostró que las condiciones ambientales tales como niveles moderados de turbidez (b100 NTU), descargas estables de agua dulce (30-40 m<sub>3</sub>/s), aguas mesohalinas, alta disponibilidad de alimento de los mísidos (ej.Mesopodopsis slabberiyRhopaloftalmo tartésico) y la temperatura cálida, fueron las más significativas para explicar la abundancia deE, encrasicolus en la ría del Guadalquivir. Sin embargo, la ría interior del Guadiana también presentaba características ambientales similares pero presentaba una biomasa de macrozooplancton notablemente inferior a la del Guadalquivir con una abundancia media cuatro veces inferior. Se ha encontrado un patrón similar para el mesozooplancton, con diferentes estudios estimando una densidad de copépodos mucho más alta en GQ (~30,000 ind/m3;Taglialatela et al., 2014) que en GN (~7000 ind/m3;Chícharo et al., 2006) durante la estación seca-cálida. Las principales diferencias fisicoquímicas entre estos dos estuarios fueron la mayor concentración de SST y los valores asociados de SIM, SOM y turbidez en GQ, así como un mayor aporte de agua dulce. La entrada de agua dulce no solo afecta la salinidad, sino que también es una fuente principal de nutrientes, sedimentos y materia orgánica, que influyen en la comunidad biológica y la función de vivero de los estuarios (González-Ortegón y Drake, 2012). La aportación de sedimentos por el drenaje es mayor en el Guadalquivir debido a la geomorfología de la cuenca y a su elevada tasa de erosión del suelo por el uso tradicional del suelo agrícola ( Carmona, 2015). Para la porción heterótrofa de la red alimentaria estuarina, se ha descrito una mayor carga de sedimentos para diluir los recursos alimentarios de mayor calidad (p. ej., fitoplancton celular) y puede constituir una dificultad para el mesozooplancton y el hiperbentos (principalmente copépodos y mísidos) ( Fockedey y Mees, 1999;Gasparini et al., 1999). Aún así, la mayor concentración asociada de materia orgánica suspendida (detritus) también puede proporcionar alimento al zooplancton [directamente

(Islam y Tanaka, 2006;Vilas et al., 2008) o a través de la red alimentaria microbiana (Goosen et al., 1999)], que, a su vez, sustentan las primeras etapas de vida de los peces.Baldó y Drake (2002)mostró que los copépodos y los misidáceos fueron las dos principales presas principales, respectivamente, de la etapa post-larva deE. encrasicolusen la ría del Guadalquivir; la misma presa pero en orden inverso se encontró para la etapa juvenil.Donázar-Aramendía et al. (2019), en su comparación entre la estructura de las redes alimenticias de GQ y GN usando isótopos estables, encontró que la materia orgánica alóctona en forma de detritus puede desempeñar un papel esencial en las redes alimenticias de GQ, compensando la producción limitada de fitoplancton debido a una mayor turbidez. , manteniendo así una alta biomasa de copépodos y misidáceos. Estos autores también encontraron evidencia de una mayor diversidad de recursos basales en las redes alimentarias GQ, cuya relación positiva con la producción de peces se había sugerido previamente (Hoffman et al., 2015).

Por otro lado, se ha informado que los altos niveles de turbidez en el estuario del Guadalquivir limitan la disponibilidad de luz para el fitoplancton, reduciendo la profundidad fótica de la columna de agua y restringiendo su producción primaria ( Ruiz et al., 2017b). Sin embargo, la concentración de clorofila medida en este estudio no fue particularmente baja, con valores similares o incluso superiores a otras zonas más claras. Los niveles de OS y pH, por el contrario, fueron los más bajos en el GO interno (excepto por el pH anómalo en el OT interno), lo que indica una baja actividad fotosintética en la columna de agua. Un estudio previo propuso que la Chla en el estuario de GQ podría ser sustentada por embalses aguas arriba o canales de riego de campos agrícolas adyacentes, además de la producción autóctona cuando las condiciones ambientales de turbidez y temperatura fueran favorables para la fotosíntesis (González-Ortegón y Drake, 2012). Sin embargo, estudios recientes de ensamblajes de fitoplancton en el estuario del Guadalquivir revelan que las diatomeas del géneroNaviculaynitzsquiason algunas de las células más abundantes en sus aguas (Cañavate et al., 2019); se han documentado como el microfitobentos epipélico (MPB) más común de las diatomeas biráfidas ( Sotobosque, 2001). La resuspensión de MPB debido a la marea de inundación y la acción del viento es típica en estuarios altamente turbios (Brito et al., 2012;Irigoien y Castel, 1997;Statham, 2012), donde se ha reportado que su aporte de clorofila a la columna de agua representa una proporción importante en comparación con el aporte de fitoplancton real (Cadée y Hegeman, 1974;De Jonge y Van Beusekom, 1992). Debido a los altos niveles de turbidez en GQ, la fotosíntesis está limitada por el fitoplancton en la columna de agua, pero no en las riberas donde se desarrolló una densa capa de MPB (observación personal), la profundidad del agua es menor y el reflujo de la marea expone las marismas intermareales a la luz solar. Hasta el momento, no ha habido una estimación precisa de la contribución de la MPB a la producción primaria del sistema y la concentración de clorofila en la columna de agua, pero la evidencia aquí presentada apoya que esto sería particularmente importante en el estuario del GO.

El zooplancton gelatinoso es un último factor importante para los ensambles de estadios tempranos de peces en los estuarios del Golfo de Cádiz y la función potencial de vivero que pueden desempeñar. El estuario del Guadiana contenía altas densidades de medusas, lo que disminuyó las densidades de larvas y iuveniles de peces y también aumentó las variaciones de densidad entre años y estaciones (Observación personal;Chícharo et al., 2009;Muha et al., 2017). Se encontró un efecto similar para la biomasa del macrozooplancton. En los años en que floreceBlackfordia virginicase observaron en aguas polihalinas y mesohalinas (2017 y 2018), estaciones oligohalinas (b6 PSU), donde las medusas estaban ausentes, contenían concentraciones más altas de macrozooplancton y etapas tempranas de peces en comparación con toda la zona interior del estuario durante 2016. Estos resultados muestran que la proliferación de medusas en la parte inferior del estuario funciona como una barrera (~30 km) para las asociaciones de zooplancton, que se desplazaron y concentraron río arriba. Las densidades más bajas de esta especie registradas anteriormente (NORTE100 ind./100m<sub>3</sub>y una densidad máxima de 3700 ind./100m3; Chícharo et al., 2009) puede indicar una intensificación de esta invasión. De acuerdo aMuha et al. (2017), antes de la construcción de la Presa de Alqueva, esta especie no estaba presente en el estuario del GN, pero después de la construcción de la presa, las bajas descargas del río proporcionaron uno de los principales factores para su

expansión en este ecosistema. De hecho, el estuario del Guadiana recibió una aportación media anual de agua dulce tres veces inferior al estuario del Guadalquivir a pesar de tener una mayor superficie de cuenca. Los estudios ecohidrológicos en el estuario del GN exigen mayores descargas de la presa de Alqueva durante la estación seca-cálida para producir una mayor productividad de plancton y biomasa y controlar la proliferación de medusas (Muha et al., 2012; Wolanski et al., 2006). Actualmente, esta medusa no ha sido reportada en el estuario del GQ a pesar de ser una especie que habita en aguas salobres (Marques et al., 2017; Molinos y Sommer, 1995), la cercanía a GN y la larga historia de esta invasión (fue reportada por primera vez en 2001; Muha et al., 2012), lo que podría haber facilitado su colonización. Las mayores descargas de agua dulce y los fondos fangosos podrían dificultar el asentamiento de la fase polipoide, que necesita un sustrato duro. Sin embargo, B. virginicasigue siendo un riesgo potencial para el estuario del GQ y su función de vivero. Por el contrario, el ctenóforoBolinopsissp. se encontró en más ubicaciones del GdC, además de la zona interna de GN. El estuario CB mostró altas densidades en ambas zonas, v también estuvo presente en la zona cercana a la costa de GO con baio biovolumen. Sin embargo, se ha observado con abundancias importantes en ambas zonas de GO durante otros periodos (observación personal:Diz et al., 2015). Las medusas son elementos clave en los ensamblajes de plancton cuando ocurren florecimientos demográficos con un impacto significativo por la depredación y la competencia con consumidores zooplanctívoros como las larvas de peces (Boero, 2013; Purcell y Arai, 2001; Robinson et al., 2014). El caso de GN es especialmente preocupante, ya que se trata de uno de los estuarios más productivos de la región, con una gran zona de transición y un gradiente de salinidad bien desarrollado, que se ve bloqueado de forma recurrente por la proliferación de medusas durante el principal período de reclutamiento en la región. Esto necesariamente debe afectar la función del vivero y la industria pesquera y puede ser parcialmente responsable de las diferencias cuantitativas encontradas entre los viveros GN y GO.

#### 5. Conclusión

Los estuarios tienen la capacidad de funcionar como vivero, pero no todos lo logran porque depende de las características que les brindan sus hábitats, los cuales se ven fuertemente afectados por las alteraciones antrópicas y las preferencias de los peces. Los cuatro estuarios principales del Golfo de Cádiz se ven afectados por la actividad humana, al igual que la mayoría de los estuarios del mundo; significativamente, la construcción de represas y la extracción de agua pueden tener efectos profundos en las condiciones ambientales, los conjuntos de zooplancton y las primeras etapas de vida de los peces, y el uso que estos últimos hacen de los estuarios como criaderos. Los estuarios cuvos ríos descargan suficiente aqua dulce para preservar un gradiente de salinidad horizontal bien desarrollado (es decir, los estuarios del Guadalquivir y Guadiana) mantienen ensambles diferentes y más densos en sus zonas internas. Las masas de aguas abiertas de los estuarios con escaso caudal fluvial mantienen unas condiciones ambientales esencialmente marinas (es decir, los estuarios del Odiel-Tinto y la Bahía de Cádiz) similares a las zonas próximas a la costa, y no se puede considerar que tengan una función de vivero importante. Además, la aparición de floraciones de medusas también se ve potenciada por la escasez de agua y podría afectar a la comunidad biológica al interferir con la función de vivero de los estuarios y la industria pesquera, como es el caso del estuario del Guadiana. De lo contrario, los altos niveles de sedimentos en suspensión y turbiedad limitan la producción primaria pelágica, que puede ser parcialmente compensada por otras fuentes como el microfitobentos. Aún así, la materia orgánica en suspensión asociada a este sedimento alimenta la base de la red alimentaria a través de la vía heterótrofa, lo que podría mantener una alta productividad de los ecosistemas, como en la ría del Guadalquivir. Este estuario presentó la mayor cantidad de etapas tempranas de peces y macrozooplancton en el GdC, con la anchoveta Engraulis encrasicolus siendo la especie más abundante durante el período de estudio, lo que proporciona el stock de reclutamiento más importante para la pesquería en la región. Como conclusión práctica para gestionar los viveros en el GdC, la producción pesquera actual en la región puede estar respaldada por un equilibrio productivo que depende de los aportes fluviales de sedimentos al estuario del Guadalquivir. La turbiedad alta y casi permanente en este estuario es una preocupación actual, y su reducción es un objetivo comúnmente reclamado.

Cualquier modificación en este sentido, incluso con el objetivo de mejorar su estado ecológico, debe hacerse con cautela y ser objeto de un estrecho seguimiento. Por otro lado, el otro estuario potencialmente muy productivo de la región, el Guadiana, se encuentra actualmente empobrecido debido a las recurrentes floraciones de medusas, asociadas a los escasos vertidos de agua dulce en el estuario. Una mejora en la gestión de los vertidos, como ya han afirmado varios autores, es posible y mejoraría notablemente la función de vivero, el estado ecológico y la producción pesquera de la región.

Los datos complementarios a este artículo se pueden encontrar en línea enhttps:// doi. org/10.1016/j.scitotenv.2020.139614.

#### Declaración de contribución de autoría CRediT

JM Miró:Conceptualización, Metodología, Software, Validación, Análisis formal, Investigación, Curación de datos, Redacción - borrador original. C. Megina:Conceptualización, Metodología, Software, Análisis formal, Investigación, Redacción - borrador original, Administración de proyectos.I. Donázar-Aramendía:Metodología, Investigación, Recursos, Redacción - revisión y edición.MJ Reyes-Martínez:Metodología, Investigación, Redacción - revisión y edición.JE Sánchez-Moyano:Análisis formales.JC García-Gómez:Conceptualización, Supervisión, Adquisición de fondos, Redacción - revisión y edición.

#### Declaración de competencia de intereses

Los autores declaran que no tienen intereses financieros en competencia ni relaciones personales conocidas que pudieran haber influido en el trabajo informado en este documento.

#### Agradecimientos

Agradecemos a la Autoridad Portuaria de Sevilla (APS) y al Acuario de Sevilla por el apoyo financiero y logístico. Este trabajo ha sido financiado parcialmente por el V Plan Propio Universidad de Sevilla a través de dos becas predoctorales (I. Donázar-Aramendía, JM Miró). Agradecemos a la Agencia de Medio Ambiente y Agua de Andalucía, la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir y la Agencia Portuguesa de Medio Ambiente por el soporte de datos de descargas de ríos. Agradecemos a todos los miembros de la LBM que participan en los estudios de campo y en el procesamiento de muestras.

#### Referencias

- Able, KW, Wuenschel, MJ, Grothues, TM, Vasslides, JM, Rowe, PM, 2013. Haz surf zonas en Nueva Jersey proporcionan un h\u00e1bitat de "criadero" para los peces del sur? Reinar. Biol. Pescado 96, 661–675.https://doi.org/10.1007/s10641-012-0056-8.
- Amezcua, F., Ramirez, M., Flores-Verdugo, F., 2019. Clasificación y comparación de cinco estuarios en el sureste del Golfo de California con base en variables ambientales y conjuntos de peces. Toro. Ciencia de marzo. 95, 139–159.https://doi.org/10.5343/bms.2018.0018.
- Anderson, MJ, 2001.Un nuevo método para el análisis de varianza multivariado no paramétrico. Austral Ecol 26, 32–46.
- Araújo, FG, Azevedo, MCC, Silva, MA, Pessanha, ALM, Gomes, ID, Gomes da Cruz-Filho, A., 2002.Influencias ambientales en los conjuntos de peces demersales en la Bahía de Sepetiba, Brasil. Estuar. Res. Alimentados. 25, 441–450.
- Araújo, FG, Rodrigues, FL, Teixeira-Neves, TP, Vieira, JP, Azevedo, MCC, Guedes, APP, Garcia, AM, Pessanha, ALM, 2018. Patrones regionales en la riqueza de especies y diversidad taxonómica de la comunidad de peces costeros en la costa brasileña. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 208, 9–22.https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.04.027. Baldó, F.,
- Drake, P., 2002. Un enfoque multivariante de los hábitos alimentarios de los peces pequeños en la Ría del Guadalquivir. J. Pescado Biol. 61, 21–32.https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb01758.x.
- Baldó, F., García-Isarch, E., Jiménez, MP, Romero, Z., Sánchez-Lamadrid, A., Catalán, IA, 2006. Distribución espacial y temporal de las primeras etapas de vida de tres especies de peces comerciales en la plataforma nororiental del Golfo de Cádiz. Resolución de aguas profundas. Parte II Superior. Semental. Oceanogr. 53, 1391–1401.https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.04.004. Barletta, M.,
- Barletta-Bergan, A., Saint-Paul, U., Hubold, G., 2004. El papel de la salinidad en estructurando los ensambles de peces en un estuario tropical. J. Fish Biol., 45–72https://doi. org/10.1111/j.1095-8649.2004.00582.x.
- Beck, MW, Heck, KL, Able, KW, Childers, DL, Eggleston, DB, Gillanders, BM, Halpern, B., Hays, CG, Hoshino, K., Minello, TJ, Orth, RJ, Sheridan, PF, Weinstein, MP, 2001. Identificación, conservación y gestión de viveros marinos y de estuarios para peces e invertebrados. Biociencia 51, 633–641.https://doi.org/ 10.1641/0006-3568(2001)051[0633:TICAMO]2.0.CO;2.

- Boero, F., 2013.Revisión de las floraciones de medusas en el Mediterráneo y el Mar Negro. Estudios y Reseñas. 92. Comisión General de Pesca del Mediterráneo, Roma, FAO, p. 53.
- Bosch, DF, Eugene, RT, 1984.Dependencia de las especies pesqueras en las marismas: el papel de alimento y refugio. Estuarios 7, 460–468.
- Bray, JR, Curtis, JT, 1957. Una ordenación de las comunidades forestales de tierras altas del sur Wisconsin. Ecol. Monogr. 27 (4), 325–349.https://doi.org/10.2307/1942268. Brito, AC, Fernandes, TF, Newton, A., Facca, C., Tett, P., 2012. ¿Microfitobentos
- ¿Influye la resuspensión del fitoplancton en sistemas someros? Una comparación a través de un análisis de series de Fourier. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 110, 77–84.https://doi.org/10.1016/j. ecss.2012.03.028.
- Brun, F., Vergara, J., Pérez-Lloréns, JL, Ramírez, C., Morris, E., Peralta, G., Hernández, I., 2015.Diversidad de angiospermas marinas en la bahía de Cádiz: redescubriendo a Zostera marina. cron. naturaleza 56, 45–56.
- Cadée, GC, Hegeman, J., 1974. Producción primaria de fitoplancton en los Países Bajos Mar de Wadden. Países Bajos J. Sea Res. 8, 240–259.https://doi.org/10.1017/ CBO9781107415324.004.
- Cañavate, J.-P., van Bergeijk, S., Giráldez, I., González-Ortegón, E., Vílas, C., 2019. ácidos para cuantificar los grupos funcionales del fitoplancton y su dinámica espaciotemporal en un estuario altamente turbio. Estuar. Costashttps://doi.org/10.1007/ s12237-019-00629-8.
- Cánovas, CR, Olías, M., Nieto, JM, Sarmiento, AM, Cerón, JC, 2007. Hidrogeoquímica características de los ríos Tinto y Odiel (SO de España). Factores que controlan el contenido de metales. ciencia Entorno Total. 373, 363–382.https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2006.11.022.
- Carmona, I., 2015.Agricultura de conservación en cultivos extensivos del valle del Guadalquivir: caracterización de sistemas a escala de parcela comercial y análisis de estrategias de mejora. Universidad Córdoba Doctorado t 154.
- Catalán, IA, Rubín, JP, Navarro, G., Prieto, L., 2006. Distribución de larvas de peces en dos Situaciones hidrográficas actuales en el Golfo de Cádiz. Profundo. Res. Parte II Superior. Semental. Oceanogr. 53, 1377–1390.https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.04.010.
- Chícharo, L., Chícharo, MA, Esteves, E., Andrade, JP, Morais, P., 2001.Efectos de las alteraciones en el suministro de agua dulce sobre la abundancia y distribución de Engraulis encrasicolus en el estuario del Guadiana y áreas costeras adyacentes del sur de Portugal. Ecohidrol. hidrobiol. 1 (3), 341-345.
- Chícharo, L., Chícharo, MA, Ben-Hamadou, R., 2006. Uso de una infraestructura hidrotécnica ture (Presa de Alqueva) para la regulación de conjuntos planctónicos en el estuario del Guadiana: base para la gestión sostenible del agua y los servicios ecosistémicos. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 70, 3–18.https://doi.org/10.1016/j.ecss.2006.05.039.
- Chícharo, MA, Leitão, T., Range, P., Gutiérrez, C., Morales, J., Morais, P., Chícharo, L., 2009. Especies exóticas en el estuario del guadiana (SE-Portugal/SW-España): Blackfordia virginica (Cnidaria, Hydrozoa) y Palaemon macrodactylus (Crustacea, Decapoda): impactos potenciales y medidas de mitigación. agua Invasiones 4, 501–506.https://doi.org/ 10.3391/ai.2009.4.3.11.
- Clarke, KR, 1993. Análisis multivariados no paramétricos de los cambios en la estructura comunitaria. tura agosto J. Ecol. 18, 117–143.https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x. Clarke, KR, Gorley, RN, 2006.PRIMER v6: Manual de usuario/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth,
- RENO UNDO.
- Clarke, KR, Somerfield, PJ, Chapman, MG, 2006. Sobre las medidas de semejanza para ecologestudios ical, incluidas las diferencias taxonómicas y un coeficiente de Bray-Curtis ajustado a cero para conjuntos denudados. Exp. J. Mar Bio. Ecol. 330, 55–80.https://doi.org/ 10.1016/ j.jembe.2005.12.017.
- Cunha, AH, Assis, JF, Serrão, EA, 2013. Pastos marinos en Portugal: un mahábitat de rines. agua Bot. 104, 193–203.https://doi.org/10.1016/j. aguabot.2014.02.007.
- De Carvalho-Souza, GF, González-Ortegón, E., Baldó, F., Vilas, C., Drake, P., Llope, M., 2018. Efectos naturales y antropogénicos en las primeras etapas de vida de la anchoa europea en uno de sus hábitats esenciales para peces, el estuario del Guadalquivir. Mar. Ecol. prog. Ser. 617–618, 67–79. https://doi.org/10.3354/meps12562.
- De Jonge, VN, Van Beusekom, JEE, 1992. Contribución de resuspendido microfitobentos al fitoplancton total en el estuario de EMS y su posible papel para los herbívoros. Países Bajos J. Sea Res. 30, 91–105.https://doi.org/10.1016/0077-7579 (92)90049-K.
- Díez-Minguito, M., Baquerizo, A., Ortega-Sánchez, M., Navarro, G., Losada, MA, 2012. Marea transformación en el estuario del Guadalquivir (SO de España) y zonificación por procesos. J. Geophys. Res. Océano. 117, 1–14.https://doi.org/10.1029/2011JC007344.
- Diz, F., González-Ortegón, E., Vilas, C., 2015.Primera caracterización del plancton gelatinoso del estuario del río Guadalquivir (SW España). Foro Iberoam. rec. Mar. Acuí. VI 513–518.
- Dolbeth, M., Martinho, F., Leitão, R., Cabral, H., Pardal, MA, 2007. Estrategias de Pomatoschistus minutus y Pomatoschistus microps para hacer frente a la inestabilidad ambiental. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 74, 263–273.https://doi.org/10.1016/j. ecss.2007.04.016.
- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, JE, García-Asencio, I., Miró, JM, Megina, C., García-Gómez, JC, 2019. Las presiones humanas sobre dos estuarios de la Península Ibérica se reflejan en la estructura de la red alimentaria. ciencia Rep. 9, 1–10.https://doi.org/10.1038/s41598-019-47793-2.
- Drake, P., Arias, AM, 1991. Composición y fluctuaciones estacionales del ictioplancton comunidad en un canal de marea somero de la Bahía de Cádiz (SW España). J. Pescado Biol. 39, 245–263.https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1991.tb04360.x.
- Drake, P., Arias, AM, Baldó, F., Cuesta, JA, 2002. Variación espacial y temporal de la nekton e hiperbentos de un estuario europeo templado con entrada de agua dulce regulada. Estuarios 25, 451–468.https://doi.org/10.1007/BF02695987. Drake, P.,
- Borlán, A., González-Ortegón, E., Baldó, F., Vilas, C., Fernández-Delgado, C., 2007. Distribución espacio-temporal de las primeras etapas de vida de la anchoveta europea Engraulis encrasicolus L. dentro de un estuario templado europeo con agua dulce regulada

afluencia: efectos de las variables ambientales. J. Pescado Biol. 70, 1689–1709.https://doi.org/ 10.1111/j.1095-8649.2007.01433.x.

Elliot, M., Hemingway, K., 2002. Peces en estuarios. Blackwell Science Ltd, Oxford, Reino Unido https://doi.org/10.1002/9780470995228.

- Comisión Europea, 2008. Directiva 2008/56/CE del Parlamento Europeo y de la Consejo de 17 de junio de 2008 por el que se establece un marco de actuación comunitaria en el ámbito de la política medioambiental marina (Directiva marco sobre la estrategia marina). De. J.Eur. Comunidades 164, 19-40.
- Agencia Europea de Medio Ambiente, 2018. Aguas Europeas. Evaluación de estado y presión sures 2018. Informe de la AEMA, Copenhague, Dinamarcahttps://doi.org/10.2800/303664. Faria, A., Morais, P., Chícharo, MA, 2006. Dinámica del ictioplancton en el Guadiana es-

Taria, A., Morais, F., Cincharo, MA, 2006. Dinamica dei lictoplancton en el Guadiana es-Tuary y zona costera adyacente, sureste de Portugal. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 70, 85–97.https://doi.org/10.1016/j.ecss.2006.05.032.

- Fernández-Delgado, C., Baldó, F., Vilas, C., García-González, D., Cuesta, JA, González-Ortegón, E., Drake, P., 2007. Efectos de la gestión de los vertidos fluviales sobre la función vivero del estuario del río Guadalquivir (SO de España). Hidrobiología 587, 125–136. https:// doi.org/10.1007/s10750-007-0691-9.
- Fockedey, N., Mees, J., 1999. Feeding of the hyperbenthic mysid Neomysis integer in the zona de máxima turbidez de los estuarios del Elba, Westerschelde y Gironde. Sistema J. Mar. 22, 207–228.https://doi.org/10.1016/S0924-7963(99)00042-1.
- Foster, SJ, Vincent, ACJ, 2004. Historia de vida y ecología de los caballitos de mar: implicaciones para conservación y manejo. J. Pescado Biol. 65, 1–61.https://doi.org/10.1111/ j.1095-8649.2004.00429.x.
- Fox, J., Weisberg, S., 2011.Un compañero de R para la regresión aplicada. segunda ed. Sabio, túrobles de arena, ca.
- França, S., Costa, MJ, Cabral, HN, 2009. Assessing habitat specific fish assemblages in estuaries a lo largo de la costa portuguesa. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 83, 1–12.https://doi.org/ 10.1016/j.ecss.2009.03.013.
- Garel, E., Ferreira, O., 2015. Observación física y ambiental multianual de alta frecuencia. vaciones en la Ría del Guadiana. Sistema Tierra ciencia Datos 7, 299–309.https://doi.org/ 10.5194/essd-7-299-2015.
- Gasparini, S., Castel, J., Irigoien, X., 1999. Impacto de las partículas en suspensión en el huevo producción del copépodo estuarino Eurytemora affinis. Sistema J. Mar. 22, 195–205. https://doi.org/10.1016/S0924-7963(99)00041-X.
- González-Ortegón, E., Drake, P., 2012. Efectos de los aportes de agua dulce en el trófico inferior niveles de un estuario templado: ¿forzamiento físico, fisiológico o trófico? agua ciencia 74, 455–469.https://doi.org/10.1007/s00027-011-0240-5.
- González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A., Cuesta, J. a, Fernández-Delgado, C., Vilas, C., Drake, P., 2015. Efectos de la escasez de agua dulce en la macrofauna acuática de un estuario de clima mediterráneo europeo. ciencia Entorno Total. 503–504, 9.https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.020.
- González-Ortegón, E., Forja, J., Bellanco, MJ, Amaral, V., Vilas, C., Tovar-Sánchez, A., Jiménez, MP, Baldó, F., Sánchez-Leal, RF, 2018. Fuentes y distribución costera de materia orgánica disuelta en el Golfo de Cádiz. ciencia Entorno Total. 630, 1583–1595. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.293.
- González-Ortegón, E., Laiz, I., Sánchez-Quiles, D., Cobelo-García, A., Tovar-Sánchez, A., 2019. Caracterización de metales traza y fundentes desde los estuarios del Guadiana, Tinto-Odiel y Guadalquivir hasta el Golfo de Cádiz. cincia Entorno Total. 650, 2454–2466. https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.290.
- González-Quirós, R., Del Árbol, J., García-Pacheco, M. del M., Silva-García, AJ, Naranjo, JM, Morales-Nin, B., 2011. Historia de vida de la corvina Argyrosomus regius en el Golfo de Cádiz (SW Península Ibérica). Pez. Res. 109, 140–149.https://doi.org/ 10.1016/j.fishres.2011.01.031.
- Goosen, NK, Kromkamp, J., Peene, J., Van Rijswijk, P., Van Breugel, P., 1999. Bacteriana y producción de fitoplancton en la zona de máxima turbidez de tres estuarios europeos: Elba, Westerschelde y Gironde. Sistema J. Mar. 22, 151–171.https://doi.org/ 10.1016/S0924-7963(99)00038-X.
- Grange, N., Whitfield, AK, De Villiers, CJ, Allanson, BR, 2000. La respuesta de dos estuarios de la costa este de África a regímenes de flujo de río alterados. agua Conservar Mar. Freshw. Ecosistema 10, 155–177.https://doi.org/10.1002/1099-0755(200005/06)10:3b 155::AYUDA-AQC406norte3.0.CO;2-Z.
- Harris, Sa, Cyrus, DP, 2000. Comparación de ensamblajes de larvas de peces en tres grandes estuarios. sistemas de rines, KwaZulu-Natal, Sudáfrica. Mar Biol. 137, 527–541.https://doi.org/ 10.1007/s002270000356.
- Harrison, TD, Whitfield, AK, 2006. Tipología estuarina y la estructuración de la composición de peces. comunidades en Sudáfrica. Reinar. Biol. Pescado 75, 269–293.https://doi.org/10.1007/ s10641-006-0028-y.
- Hoffman, JC, Kelly, JR, Peterson, GS, Cotter, AM, 2015. Redes alimentarias a escala de paisaje de hábitat de vivero de peces a lo largo de una zona de mezcla de la costa del río. Estuar. Costas 38, 1335-1349. https://doi.org/10.1007/s12237-014-9880-8.
- Irigoien, X., Castel, J., 1997.Limitación de luz y distribución de pigmentos de clorofila en un estuario muy turbio: la Gironda (SO de Francia). Estuar. Costa. Estante de ciencia. 44, 507-517. Islam,
- MS, Tanaka, M., 2006. Variabilidad espacial en las funciones de vivero a lo largo de un clima templado Gradiente tuarino: papel de las vías tróficas detríticas versus algales. Poder. J. Pescado. agua ciencia 63, 1848–1864.https://doi.org/10.1139/f06-086.
- Corporación JASCO, 2011. Manual de software del espectrofluorómetro serie FP-8000. JASCO Spectra ManagerTM CFR para la serie FP-8000.
- Lee, KM, Lee, SY, Connolly, RM, 2012. Combinación de índices de procesos del análisis de redes sis con medidas de población estructural para indicar la respuesta de la trofodinámica del estuario al enriquecimiento orgánico de pulso. Ecol. índico 18, 652-658.https://doi.org/ 10.1016/j.ecolind.2012.01.015.
- Lobanova, A., Liersch, S., Nunes, JP, Didovets, I., Stagl, J., Huang, S., Koch, H., López, Rivas, del R, M., Maule, CF, Hattermann, F., Krysanova, V., 2018. Impactos hidrológicos del cambio climático moderado y alto en las cuencas fluviales europeas. J. Hydrol. registro Semental. 18, 15–30.https://doi.org/10.1016/j.ejrh.2018.05.003.

- Marqués, F., Angélico, MM, Costa, JL, Teodósio, MA, Presado, P., Fernandes, A., Chainho, P., Domingos, I., 2017. Aspectos ecológicos e impactos potenciales de la hidromedusa no nativa Blackfordia virginica en un estuario templado. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 197, 69–79.https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.08.015.
- Martí, CP, 2018.Investigación para el Comité PECH Pesca en Mauritania y el Unión Europea. Departamento de políticas Estructura. Cohes, Políticas, Bruselas.
- Mcardle, BH, Anderson, MJ, 2001.Ajuste de modelos multivariados a datos comunitarios: a comentario sobre el análisis de redundancia basado en la distancia. Ecol. Soc. Soy. 82, 290–297. Mills,
- CE, Sommer, F., 1995. Introducciones de invertebrados en hábitats marinos: dos especies de hydromedusae (Cnidaria) nativa del Mar Negro, Maeotias inexspectata y Blackfordia virginica, invaden la Bahía de San Francisco. Mar Biol. 122, 279–288.https://doi. org/ 10.1007/BF00348941.
- Montoya-Maya, PH, Strydom, NA, 2009. Descripción de la composición de las larvas de peces, abunbaile y distribución en nueve estuarios de la costa sur y oeste de Sudáfrica. Zool africano 44, 75–92.https://doi.org/10.3377/004.044.0108.
- Muha, TP, Chícharo, L., Morais, P., Pereira, R., Ben-Hamadou, R., Cruz, J., Chícharo, MAT, 2012. El efecto de distintas condiciones hidrológicas en la comunidad de zooplancton en un estuario bajo la influencia del clima mediterráneo. Ecohidrol. hidrobiol. 12, 327–335.https://doi.org/10.2478/v10104-012-0027-x.
- Muha, TP, Teodósio, MA, Ben-Hamadou, R., 2017. Evaluación de impacto de las comunidades no indígenas especies de medusas en la dinámica de la comunidad estuarina: un modelo de fase de medusa. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 187, 249–259.https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.10.040. Nieto, JM,
- Sarmiento, AM, Olías, M., Cánovas, CR, Riba, I., Kalman, J., Delvalls, TA, 2007. Contaminación por drenaje ácido de mina en los ríos Tinto y Odiel (Faja Pirítica Ibérica, SO de España) y biodisponibilidad de los metales transportados a la Ría de Huelva. Reinar. En t. 33, 445–455.https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.11.010.
- Pampoulie, C., Rosecchi, E., Bouchereau, JL, Crivelli, AJ, 1999. Rasgos de historia de vida de Pomatoschistus minutus en el delta del Ródano, Francia. J. Pescado Biol. 55, 892–896. https:// doi.org/10.1111/j.1095-8649.1999.tb00728.x.
- Papadimitriou, LV, Koutroulis, AG, Grillakis, MG, Tsanis, IK, 2016. Clima de gama alta impacto del cambio en la escorrentía europea y los flujos bajos: exploración de los efectos de los sesgos forzados. Hidrol. Sistema Tierra ciencia 20, 1785–1808.https://doi.org/10.5194/ hess-20-1785-2016.
- Poff, NL, Zimmerman, JKH, 2010. Respuestas ecológicas a regímenes de flujo alterados: una literatura revisión de la naturaleza para informar la ciencia y la gestión de caudales ambientales. fresco Biol. 55, 194–205.https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02272.x.
- Purcell, JE, Arai, MN, 2001. Interacciones de cnidarios pelágicos y ctenóforos con peces: una revisión. Hidrobiología 451, 27–44.https://doi.org/10.1023/A:1011883905394. Purcell, JE,
- Malej, A., BenoviC,A., 1999.Vínculos potenciales de las medusas con la eutrofización y pesquerías En Ecosistemas en el margen tierra-mar: cuenca de drenaje al mar costero. En: Malone, TC, Malej, A., Harding, LW, Smodlaka, N., Turner, RE (Eds.), 55. Unión Geofísica Estadounidense, Estudios costeros y estuarinos, págs. 241–263.
- R Core Team, 2018. R: un lenguaje y entorno para la computación estadística. R Fundación para la computación estadística, Viena, Austriahttps://www.R-project.org/. Ramos, S., Amorim, E., Elliott, M., Cabral, H., Bordalo, AA, 2012. Primeras etapas de vida de los peces
- como indicadores de la salud del ecosistema estuarino. Ecol. índico 19, 172–183.https://doi.org/ 10.1016/j.ecolind.2011.08.024.
- Ray, GC, 2006. La deuda ambiental del reino costero. agua Conservar Mar. Freshw. ecosistema 16, 1-4.https://doi.org/10.1002/aqc.764.
- Robinson, KL, Ruzicka, JJ, Decker, MB, Brodeur, RD, Hernandez, FJ, Quiñones, J., Acha, EM, Uye, SI, Mianzan, H., Graham, WM, 2014. Medusas, peces forrajeros y los principalesfijerez Oceanografía 27, 104–115.https://doi.org/10.5670/ oceanog.2014.90.
- Rolls, RJ, Bond, NR, 2017. Environmental and Ecological Effects of Flow Alteration in Surface Ecosistemas hídricos, Agua para el medio ambiente: de la política y la ciencia a la implementación y la gestión. Elsevier inc.https://doi.org/10.1016/ B978-0-12-803907-6.00004-8.
- Roy, PS, Williams, RJ, Jones, AR, Yassini, I., Gibbs, PJ, Coates, B., West, RJ, Scanes, PR, Hudson, JP, Nichol, S., 2001. Estructura y función de los estuarios del sureste de Australia. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 53, 351–384.https://doi.org/10.1006/ecss.2001.0796. Ruiz,
- F., González-Regalado, ML, Borrego, J., Morales, JA, Pendón, JG, Muñoz, JM, 1998. Secuencia estratigráfica, concentraciones elementales y contaminación por metales pesados en sedimentos holocenos de la ría de Tinto-Odiel, suroeste de España. Reinar. Geol. 34, 270– 278.https://doi.org/10.1007/s002540050278.
- Ruiz, J., Polo, MJ, Díez- Minguito, M., Navarro, G., Morris, EP, Huertas, E., Caballero, I., Contreras, E., Losada, MA, 2015. La ría del Guadalquivir: foco de conflictos ambientales y humanos. Gestión y Gobernanza Ambiental. Biblioteca de investigación costera, págs. 199–232.https://doi.org/10.1007/978-3-319-06305-8.
- Ruiz, J., Rincón, MM, Castilla, D., Ramos, F., del Hoyo, JJG, 2017a. Biológico y ecovulnerabilidades económicas de los TAC fijos en pequeños pelágicos: un análisis de la anchoa europea (Engraulis encrasicolus) en el golfo de Cádiz. Política de marzo 78, 171–180. https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.01.022.
- Ruiz, J., Macías, D., Navarro, G., 2017b. Forzamientos naturales en un territorio transformado sobre-Umbrales de brotes de productividad primaria en el estuario del Guadalquivir. continuación Estante Res. 148, 199-207.https://doi.org/10.1016/j.csr.2017.09.002.
- Saintilan, N., 2004. Relaciones entre geomorfología estuarina, extensión de humedales y desembarques de pescado en los estuarios de Nueva Gales del Sur. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 61, 591– 601. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2004.07.002.
- Sánchez-Lamadrid, A., Jiménez, T., Ruiz, J., Gutiérrez, G., Muñoz, J., Saavedra, M., Juárez, A., Romero, M., Pérez, A., 2002.Bahía de Cádiz, protección de los recursos naturales pesqueros y aplicaciones para instalaciones acuícolas. Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.
- Schinegger, R., Palt, M., Segurado, P., Schmutz, S., 2016. Desenredando los efectos de múltiples estresores humanos y sus impactos en los conjuntos de peces en las aguas corrientes europeas. ciencia Entorno Total. 573, 1079–1088.https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.143.

- Soetaert, K., Middelburg, JJ, Heip, C., Meire, P., Van Damme, S., Maris, T., 2006. A largo plazo cambio en los nutrientes inorgánicos disueltos en el estuario heterótrofo de Escalda (Bélgica, Países Bajos). Limnol. Oceanogr. 51, 409–423.https://doi.org/10.4319/ lo.2006.51.1\_part\_2.0409.
- Statham, PJ, 2012. Nutrientes en los estuarios: una descripción general y los impactos potenciales del clima cambio de pareja. ciencia Entorno Total. 434, 213–227.https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2011.09.088.
- Strydom, NA, Whitfield, AK, Wooldridge, TH, 2003. The role of estuarine type in char-Caracterización de ensamblajes de peces en etapa temprana en estuarios templados cálidos, Sudáfrica. Zool africano 38, 29–43.https://doi.org/10.1080/15627020.2003.11657192. Taglialatela, S.,
- Ruiz, J., Prieto, L., Navarro, G., 2014. Forzamiento estacional de la imagen analizada Composición de la comunidad de mesozooplancton a lo largo del gradiente de salinidad del estuario del Guadalquivir. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 149, 244–254.https://doi.org/10.1016/j. ecss.2014.08.021.

Underwood, GJC, 2001.microfitobentos. Encic. Ciencias del océano.. vol. 3, págs. 1770–1777
Vanney, JR, 1970.L'hydrologie du bas Guadalquivir. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. España.

- Vargas, JM, García-Lafuente, J., Delgado, J., Criado, F., 2003. Estacional y viento inducido Variabilidad de los patrones de Temperatura Superficial del Mar en el Golfo de Cádiz. Sistema J. Mar. 38, 205–219.https://doi.org/10.1016/S0924-7963(02)00240-3.
- Vasconcelos, RP, Reis-Santos, P., Fonseca, V., Ruano, M., Tanner, S., Costa, MJ, Cabral, HN, 2009. Condición de juveniles en viveros estuarinos a lo largo de la costa portuguesa. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 82, 128–138.https://doi.org/10.1016/j. ecss.2009.01.002.
- Vilas, C., Drake, P., Fockedey, N., 2008. Preferencias de alimentación de los mísidos estuarinos Neomysis entero y Rhopalophthalmus tartessicus en un estuario templado (estuario del Guadalquivir, suroeste de España). Estuar. Costa. Estante de ciencia. 77, 345–356.https://doi.org/10.1016/j. ecss.2007.09.025.
- Wanders, N., Wada, Y., Van Lanen, HAJ, 2015. Sequías hidrológicas globales en el siglo XXI. siglo bajo un régimen hidrológico cambiante. Sistema Tierra Din. 6, 1–15.https://doi. org/10.5194/esd-6-1-2015.
- Warry, FY, Reich, P., Cook, PLM, Mac Nally, R., Thomson, JR, Woodland, RJ, 2016. Nilas cargas de nitrógeno influyen en la organización trófica de los conjuntos de peces estuarinos. Función Ecol. 30, 1723–1733.https://doi.org/10.1111/1365-2435.12647.

- Whitfield, AK, 1994. Abundancia de larvas y peces marinos juveniles O+ en la parte inferior tramos de 3 estuarios del sur de África con diferentes aportes de agua dulce. Mar. Ecol. prog. Ser. 105, 257–268.https://doi.org/10.3354/meps105257.
- Whitfield, Alaska, 1999.Conjuntos de ictiofauna en estuarios: un estudio de caso de Sudáfrica. Rev. Fish Biol. Pez. 9, 151–186.
- Whitfield, AK, Harrison, TD, 2003. Flujo del río y abundancia de peces en una región sudafricana. tuario J. Pescado Biol. 62, 1467–1472.https://doi.org/10.1046/j.1095-8649.2003.00125.x.

Whitfield, A., Wooldridge, T., 1994.Cambios en el suministro de agua dulce al sur de África esturios: algunas consideraciones teóricas y prácticas. Chang. Flujos Estuarios Implícitos. de Sci. a Gerente 41–50.

- Whitfield, AK, Elliott, M., Basset, A., Blaber, SJM, West, RJ, 2012. Paradigms in estuarine ecología: una revisión del diagrama de Remane con un modelo revisado sugerido para los estuarios. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 97, 78-90.https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.11.026. Wolanski, E.,
- Chícharo, L., Chícharo, MA, Morais, P., 2006. An ecohydrology model of the Estuario del Guadiana (Sur de Portugal). Estuar. Costa. Estante de ciencia. 70, 132–143.https://doi. org/ 10.1016/j.ecss.2006.05.029.
- Wu, H., Chen, J., Xu, J., Zeng, G., Sang, L., Liu, Q., Yin, Z., Dai, J., Yin, D., Liang, J., Ye, S., 2019. Efectos de la construcción de represas en la biodiversidad: una revisión. J. Limpio. Pinchar. 221, 480-489. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.001.
- Xoplaki, E., González-Rouco, JF, Luterbacher, J., Wanner, H., 2004. Wet season Mediterra-Variabilidad de la precipitación neta: influencia de dinámicas y tendencias a gran escala. Clima Din. 23, 63–78.https://doi.org/10.1007/s00382-004-0422-0.
- Zarzuelo, C., Díez- Minguito, M., Ortega-Sánchez, M., López-Ruiz, A., Losada, MT, 2015. Respuesta hidrodinámica a intervenciones humanas planificadas en una bahía muy alterada: el ejemplo de la Bahía de Cádiz (España). Estuar. Costa. Estante de ciencia. 167, 75–85. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.07.010.
- Zarzuelo, C., López-Ruiz, A., Díez-Minguito, M., Ortega-Sánchez, M., 2017. Tidal y hidrodinámica submareal y energética en un estuario restringido. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 185, 55–68.https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.11.020.
- Zuur, AF, Ieno, EN, Walker, NJ, Saveliev, AA, Smith, GM, 2009.Modelos de efectos mixtos y Extensiones en Ecología con R. Springer, Nueva York, EE. UU.
- Zuur, AF, Saliev, AA, Ieno, EN, 2015.Una guía para principiantes de aditivos mixtos generalizados Modelos con R. Highland Statistics Ltd, Newburgh, Reino Unido.

Contents lists available at ScienceDirect







journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv

# Environmental factors affecting the nursery function for fish in the main estuaries of the Gulf of Cadiz (south-west Iberian Peninsula)



J.M. Miró<sup>a,\*</sup>, C. Megina<sup>b</sup>, I. Donázar-Aramendía<sup>a</sup>, M.J. Reyes-Martínez<sup>c</sup>, J.E. Sánchez-Moyano<sup>d</sup>, J.C. García-Gómez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain

<sup>b</sup> Biodiversidad y Ecología Acuática, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain

Instituto Universitario de Investigación Marina (INMAR), University of Cádiz, Puerto Real, Cádiz, Spain

<sup>d</sup> Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain

#### HIGHLIGHTS

#### GRAPHICAL ABSTRACT

- Different freshwater inputs strongly change environmental properties of estuaries.
- Estuaries with salinity gradient have higher densities of early life stages of fish.
- Low freshwater input limits the function of estuaries as nursery ground.
- Organic matter in Guadalquivir supports the highest densities of aquatic macrofauna.
- Recurrent jellyfish blooms alter pelagic community and functioning of estuaries.

#### ARTICLE INFO

Article history: Received 24 February 2020 Received in revised form 30 April 2020 Accepted 19 May 2020 Available online 27 May 2020

Editor: Daniel Wunderlin

Keywords: Estuary Freshwater input Salinity gradient Organic matter Nursery function Early life stages of fish



#### ABSTRACT

Hydrological, geomorphological, physicochemical and biological factors influence the nursery function of estuaries. Our study compared the environmental conditions and the assemblages of early life stages of fish in the main four estuaries of the Gulf of Cadiz (Cadiz Bay, Guadalquivir, Odiel-Tinto and Guadiana). Samples were taken within each estuary and on their adjacent coast, during the dry-warm seasons of 2016, 2017 and 2018. Results showed that rivers with smaller basins had a very low freshwater input and their estuaries, Odiel-Tinto and Cadiz Bay, were essentially sea extensions into the land, containing similar physicochemical conditions to nearshore zones, as well as similar assemblages and densities of early life stages of fish. Open water masses of these estuaries do not have important nursery functions. In contrast, inner zones of estuaries with bigger basins and higher freshwater discharges, Guadalquivir and Guadiana, have different environmental characteristics and a long transition zone with a well-defined salinity gradient. Their assemblages and densities of early life stages of fish were different between them and with other estuaries. The Guadalquivir estuary held the highest abundance of larval and early juvenile fish, as well as macrozooplankton biomass. The most abundant fish species in all zones of every estuary was the anchovy Engraulis encrasicolus; the Guadalquivir inner zone had the highest density. High concentration of suspended organic matter, provided by freshwater input and correlated with total suspended solid, suspended inorganic matter and turbidity, was the physicochemical characteristic more typical of the Guadalquivir. This characteristic, in addition to the salinity gradient, could explain the highest densities of macrozooplankton found in this estuary, and consequently, of early fish stages. Recurrent jellyfish blooms were

\* Corresponding author. *E-mail address:* jmmiro@us.es (J.M. Miró).

https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139614 0048-9697/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved. observed in Cadiz Bay and the inner zone of Guadiana, affecting their nursery functions. Odiel-Tinto showed altered physicochemical and biological characteristics, which may need further specific research. © 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

#### 1. Introduction

More than 60% of the Earth's population are living in coastal areas (Ray, 2006) and rapid urban and agriculture development (Lee et al., 2012; Wu et al., 2019) are affecting environmental conditions of rivers, wetlands, floodplains and estuaries by flow alteration and high sediment, nutrient or pollutant inputs (González-Ortegón et al., 2015; González-Ortegón and Drake, 2012; Rolls and Bond, 2017). Additionally, global climate change is imposing complementary modifications; recent studies, based on 30 years of historical data, have found a significant decrease in precipitations in south-central European and Mediterranean river basins (Xoplaki et al., 2004). This, together with anthropogenic water abstraction for diverse uses, has resulted in an increase in the number of days with low flow (Lobanova et al., 2018; Papadimitriou et al., 2016), especially during the summer (Wanders et al., 2015). These modifications have been reported to decrease the ecological status of affected ecosystems (Poff and Zimmerman, 2010), with fish being a taxonomic group of most concern (Schinegger et al., 2016). EU member states have legislated to manage and protect all running waters under the Marine Strategy Framework Directive (MSFD, European Commission, 2008), but the River Basin Management Plans from 2018 indicated that 60% of European water bodies failed to achieve good ecological status, as they are affected by a complex set of stressors (European Environment Agency, 2018).

Of the different aquatic ecosystems impacted, estuaries are particularly important because they play an essential role in the nursery function of many species, especially for marine fishes (Strydom et al., 2003). These ecosystems generally provide high food availability and good predator refuge for early life stages of these fishes (Boesch and Eugene, 1984; Elliot and Hemingway, 2002). However, human activity can modify this function, disturbing the hydrological regime and the characteristics of the transitional zone between coastal and riverine waters (Fernández-Delgado et al., 2007; Whitfield and Wooldridge, 1994; Whitfield et al., 2012). These modifications, in their turn, affect essential biological characteristics such as the base of food webs (in situ primary production and detrital organic matter) and how matter and energy transfer first to zooplankton and then to early life stages of fishes (Donázar-Aramendía et al., 2019; Warry et al., 2016). For instance, excess nutrient inputs can cause eutrophication with toxic algae blooms (Wolanski et al., 2006) or jellyfish proliferation (Purcell et al., 1999); sediment inputs can increase turbidity and, consequently, limit photosynthetic activity and primary productivity pushing the food webs to a more heterotrophic status (Ruiz et al., 2017b; Soetaert et al., 2006).

No two estuaries have the same biotic and abiotic characteristics, since the quantity and quality of their habitats are often diverse (Vasconcelos et al., 2009). Geomorphological variables such as river and delta basin areas, barrier sands, estuary length, inlet width, mean depth or intertidal flat area also contribute to their diverse estuary functioning (Amezcua et al., 2019; Saintilan, 2004). As stated by Whitfield (1999), if fish consistently respond to the environment, the assemblages inhabiting similar types of estuaries in a particular region would be expected to reflect this similarity; hence, studies comparing assemblages of early stages of fish and environmental conditions between different estuaries of the same region are essential tools for understanding what factors influence their successful recruitment and for learning how to manage these factors sustainably, potentially improving ecosystem services (Harrison and Whitfield, 2006). Also, this kind of study shows which estuaries are more productive for the different species, which estuaries can supply more recruits to adult stocks and, consequently, which areas should be protected as a supporter ground for proper ecosystem function and fishery management in the region. However, most studies focus on adult fish, not in early life stages. Estuarine research on early fish stages that compare the assemblages and environmental conditions of two or more estuaries, using the same sampling methods, effort, periods and climatic regions, is still limited (but see Montoya-Maya and Strydom, 2009; Ramos et al., 2012; Strydom et al., 2003 for examples). Moreover, this kind of studies in temperate estuaries is scarce, with a few examples in South Africa (Grange et al., 2000; Harris and Cyrus, 2000; Whitfield, 1994) but none in Europe. Nearshore areas of estuaries can also be important rearing grounds (Able et al., 2013; Araújo et al., 2018), and some authors (Beck et al., 2001) proposed that a study of nursery function should also include a comparison with other surrounding habitats.

The Gulf of Cadiz (GoC) includes several permanently open estuaries with different freshwater inflow regimes and geomorphology types (González-Ortegón et al., 2018, 2019) and, most likely, different environmental (salinity gradient, turbidity, organic matter, etc.) and biological (prey availability, chlorophyll concentration, etc.) characteristics (Drake et al., 2002; Drake and Arias, 1991; Faria et al., 2006). The proximity of these estuaries within this region and, hence, the similar influence of some external factors (relative geographical position, climate, larval supply coming from the same stock, connectivity, global water body circulation within the North Atlantic, etc.) enable an informative comparison of specific variables that govern the use of estuaries by early life stages of fishes.

The main goals of this study are i) to assess the potential function of these estuaries as nursery areas by comparing their early life stages of fish assemblages with their adjacent coastal zones, ii) to compare the structure and composition of early life stages of fish assemblages in estuaries with different hydrogeomorphological and environmental characteristics and iii) to identify which variables affect assemblage distributions and quantify their influence in the nursery success of each estuary by comparing their early life fish relative abundances while controlling for methodology and time period. The working hypotheses were: i) estuaries with similar characteristics would have similar early life stage assemblages of fish, but key environmental variables would generate differences in these assemblages; ii) inner estuarine zones would have higher relative abundance than their adjacent coastal zones.

#### 2. Material and methods

#### 2.1. Study area

The study focused on a particular temperate North Atlantic region at the entrance of the Mediterranean Sea, the Gulf of Cadiz (South-west of the Iberian Peninsula), which exhibits some typical Atlantic and Mediterranean climate characteristics, and where the fishery has an important economic and employment role (Marti, 2018). Specifically, it was carried out in the four main, permanently open estuaries: Guadiana, Odiel-Tinto, Guadalquivir and Cadiz Bay (Fig. 1) and their nearshore zones.

Guadiana estuary  $(37^{\circ}13'33''N - 7^{\circ}24'51''W)$  is a rock-bounded system approximately 80 km in length. It is a mesotidal well-mixed estuary with an amplitude range of 2 m, and its maximum depth varies between 5 and 17 m. It is oriented north–south and is the connection of Guadiana River (810 km long and 67,129 km<sup>2</sup> basin area) with the Atlantic Ocean (Garel and Ferreira, 2015). The input of freshwater to the estuary is



Fig. 1. Study area in the Gulf of Cadiz with sampling stations (blue: inner estuarine stations; red: nearshore stations). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

controlled by Alqueva Dam, whose annual average discharge between 2016 and 2018 was 13.5 m<sup>3</sup>/s (Pulo do Lobo station, 60 km from river mouth–Portuguese Environment Agency–http://snirh.pt), but it oscillates across seasons by the rainfalls (Chícharo et al., 2001; Faria et al., 2006).

Odiel-Tinto estuary (37°12′30″N - 6°56′31″W) is a salt-marshes system of 14,900 ha, whose main water channels are 25 km long in total. It is a mesotidal well-mixed estuary with an amplitude range of 2 m (Ruiz et al., 1998), and its channel depth oscillates between 3 and 15 m. It is formed by the Odiel (128 km) and Tinto (83 km) rivers (4761 km<sup>2</sup> total basin area), whose mean water flows were approximately 4.1 m<sup>3</sup>/s (Calañas station, 50 km from river mouth) and 2.8 m<sup>3</sup>/s (Candón station + Villarrasa station, 40 km from river mouth), respectively during 2016–2018 (Agencia de Medio Ambiente y Agua de Andalucía, http://www.agenciamedioambienteyagua.es).

Guadalquivir estuary (36°51′27″N - 6°21′12″W) is a well-mixed mesotidal system with 110 km long channel and 3 m amplitude range (Díez-Minguito et al., 2012). The main channel is navigable and has an average depth of 7.1 m (Ruiz et al., 2015). Guadalquivir River (680 km long and 57,527 km<sup>2</sup> basin area) is connected to the estuary by Alcalá del Río Dam, which controls the water river flow with a mean discharge of 39.7 m<sup>3</sup>/s (Alcalá del Río station, 110 km from the river mouth) during 2016–2018 (SAIH Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, http://www.chguadalquivir.es/saih/DatosHistoricos.aspx).

Cadiz Bay (36°30′03″N-6°12′33″W) is a low-inflow, dynamically short and tidally driven estuary, with an amplitude range of 3 m, that can be divided into two basins: the inner and outer bays (Zarzuelo

et al., 2015). The outer bay (7000 ha) is affected by waves, tidal currents and low freshwater discharges of Guadalete River (166 km long and 5960 km<sup>2</sup> basin area), with a mean water flow of approximately 4.1 m<sup>3</sup>/s (Arcos Dam station + Guadalcaucín Dam station, 58 km from the river mouth) during 2016–2018 (SAIH Hidrosur, http://www. redhidrosurmedioambiente.es/saih/). Sandy bottoms (90%) and rocky shores and cliffs (10%) characterise this area, which has a mean depth of 15 m (Sánchez-Lamadrid et al., 2002). The inner bay (5000 ha) is a semi-enclosed coastal lagoon with shallow waters of 3 m average depth and an artificial channel that is 8 m deep. This zone is characterised by muddy bottoms, large intertidal flats, a dense tidal channel network and by the dominance of seagrasses and seaweeds meadows (mainly Zostera noltii, Z. marina, Cymodocea nodosa and Caulerpa prolifera; Brun et al., 2015).

Following the geological classification of estuary types by Roy et al. (2001), Cadiz Bay is considered as type I, while Odiel-Tinto, Guadalquivir and Guadiana as type II. In relation with the water bodies, Guadalquivir and Guadiana estuaries are characteristic for their longitudinal salinity gradient (Chícharo et al., 2001; Vanney, 1970), in contrast with Odiel-Tinto and Cadiz Bay, which are essentially marine (Cánovas et al., 2007; Zarzuelo et al., 2017) during the dry-warm season.

#### 2.2. Field sampling

Sampling was carried out during the dry-warm season (June–July) of 2016, 2017 and 2018. Samples were taken from 20 stations with

3–5 replicates of each one: 5 stations per estuary, 3 in the inner zone of estuaries and 2 in the adjacent nearshore of the river mouth (Fig. 1). In the estuaries with salinity gradient (Guadiana and Guadalquivir), stations were spread along the salinity range (between 25 and 5 PSU); in completely marine estuaries (Odiel-Tinto and Cadiz Bay), stations were spatially distributed, covering most of the area.

Samples were always collected in the flood tide with a plankton net of 1 m diameter and 1 mm mesh size equipped with a flow-meter General Oceanics 2030R. Oblique tows of 12 min  $(294 \pm 77 \text{ m}^3; \text{ mean} \pm \text{SD})$  were done with a boat at a speed of 2–2.5 knots. Samples were fixed in 70% ethanol and the early fish stages were sorted from the rest of macrozooplankton organisms. Fishes were identified and quantified whenever possible, to species level, and macrozooplankton biomass was calculated in fresh weight.

Three replicated physicochemical profiles of the whole water column were recorded in every station with a multiprobe (depth, temperature, salinity, turbidity, dissolved oxygen concentration (DO), oxygen saturation (OS), pH and chlorophyll concentration (Chla); Eureka<sup>TM</sup> Manta2). Water samples were taken at mid-depth with a Niskin bottle to measure chlorophyll (to calibrate the fluorimeter of the multiprobe) and total suspended solids (TSS) concentration. To measure total suspended solids (TSS), water was filtered through 0.7  $\mu$ m pore precombusted (4 h, 500 °C) filters (Whatman GF/F); thereafter filters were dried (24 h, 60 °C) and weighted. Suspended organic (SOM) and inorganic matter (SIM) were obtained as weight loss by ignition (500 °C, 4 h). Chlorophyll filters (Whatman GF/F) were kept frozen (-20 °C) until fluorometric analysis by FP-8000 series Spectrofluorometer Software Manual (JASCO Corporation, 2011).

#### 2.3. Data analysis

Fish abundances were standardised by filtered volume and expressed as number of individuals/1000 m<sup>3</sup>. Density data were organized in a species/sample abundance matrix, and a Bray–Curtis similarity matrix was calculated on fourth-root-transformed data with the addition of a dummy variable (value = 1) (Clarke et al., 2006), as a distance measure among samples (Bray and Curtis, 1957).

The differences in the multivariate structure of the early life stages of fish assemblages were analysed in a distance-based permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) (Anderson, 2001; Mcardle and Anderson, 2001). The experimental design included 3 crossed fixed factors: location (with 4 levels, "Guadiana, Odiel-Tinto, Guadalquivir and Cadiz Bay" [GN/OT/GQ/CB]), zone (with 2 levels, "Inner estuary and Nearshore") and year (with 3 levels, "2016, 2017 and 2018"), as well as 1 random factor, "Station", nested within "Location", "Zone" and "Year". The sampling units were the 3-5 replicate tows randomly selected at each "Station". Significant interactions, if detected, were further explored in separate analyses, within the levels of the interacting factors, i.e. the significant interactions between "Location" and "Zone" were further analysed separately by GN/OT/GQ/CB estuaries and inner estuary/nearshore zones. When appropriate, significant terms in the separated models were analysed individually using pair-wise comparison with the PERMANOVA test.

The distances between samples of every location were represented by principal coordinates analysis (PCO). SIMPER (Clarke, 1993) was used to identify the percentage contribution that each taxon made to the measures of similarity and dissimilarity among the different levels of the crossed fixed factors of location and zone. Multivariate analyses were performed using the software PRIMER v6.1.11 and PERMANOVA+ v1.0.1 statistical package (Clarke and Gorley, 2006).

We examined significant differences in total abundance (ind./1000  $m^3$ ) using PERMANOVA tests on Euclidean distance matrices, in an approach similar to parametric ANOVA (Anderson, 2001), using the same design as for assemblage structure. When appropriate, significant terms in the full model were analysed individually using pair-wise comparison with the PERMANOVA test.

To obtain a single value for physicochemical variables recorded with the multiprobe, to use them as covariates, a generalised additive mixed model was fitted in every station, using the replicated individual profiles as random and obtaining the common smoother (Zuur et al., 2015). This allows an appropriate single mean value to represent the complete water column. Results of all environmental variables, together with macrozooplankton and jellyfish abundance, were plotted with boxplot grouped by location and zone using the package "ggplot2" of R 3.5.2 software (R Core Team, 2018).

To identify which factors were the most important in characterising differences between the assemblages of each location and zone, a distance-based redundancy analysis (dbRDA) was carried out. A matrix was constructed using stations as columns and mean values of the environmental variables as rows. Hydrogeomorphological variables such as river length, estuary length, river basin area, mean bottom depth and daily annual mean of freshwater input (see data in study area section) were also included. Variables that were highly correlated ( $r \ge 0.7$ ) were excluded (turbidity, TSS, SIM, OS, river and estuary length) from the analysis. Multicollinearity of the selected variables was further analysed with a variance inflation factor (VIF) test using the "vif" function from the "car" package (Fox and Weisberg, 2011) in R software. All variables from the selected best model had a VIF < 10 (Zuur et al., 2009). Selected variables were normalised and a similarity matrix based on the Euclidian distance was calculated. A similarity matrix based on Bray Curtis distance with the fourth-root-transformed mean value of every station in each location and zone during each year was constructed for early life stages of fish assemblage. Both matrices and the relationship analysis were performed using the software PRIMER v6.1.11.

#### 3. Results

#### 3.1. Assemblage analysis

In total, 20839 fish individuals in early life stages belonging to 34 species, 20 genera, 19 families and 8 orders were caught both in estuarine and in nearshore zones at the 20 stations during the summer season of 2016, 2017 and 2018 (Table 1). Among the locations, a total of 23 species were collected in Guadalquivir, 21 in Guadiana, 19 in Odiel-Tinto and 16 in Cadiz Bay.

The assemblage structure varied among random stations within the same zone and also varied interactively between locations and zones and between locations and years; that is, the differences between inner estuary and nearshore zones were not the same in all locations, and the differences among years were also different in distinct locations (Table 2).

PERMANOVA analysis, separating nearshore and inner estuary levels of factor zone (Table 3), did not reveal differences between the nearshore zones of all locations but did show significant differences among inner estuaries. Pair-wise comparison showed that the two inner estuaries with a well-developed salinity gradient, GQ and GN, were different between them and the rest of estuaries, while the two estuaries with marine environment, OT and CB, were not different between them. Additionally, differences among years were significant both in inner estuaries and in their near coastal zones, without a clear common pattern.

PERMANOVA analysis, separating every location (Table 4), detected differences among nearshore and inner estuaries in GQ and GN but not in CB and OT. The PCO plots for each estuary clearly show these differences among the two types of estuaries (Fig. 2). Year was significantly different in GN, OT and CB but not in GQ. Post hoc pairwise analysis of the factor year did not show any pattern in common for the three estuaries in their inner zones.

SIMPER analysis of location and zones combined showed that the anchovy *Engraulis encrasicolus* was the species most consistent in all cases (Table 5). Additionally, in CB, the inner estuarine zone was also represented by *Diplodus annularis* and *Hippocampus hippocampus*,

Spatial distribution and total mean densities (ind./1000 m<sup>3</sup>) of fish early life stages in Cadiz Bay, Guadalquivir, Odiel-Tinto and Guadiana inner estuary and adjacent nearshore zones during the dry-warm season of 2016, 2017 and 2018.

Order	Family	Genera	Species	Cadiz Bay		Guadalq	uivir	Odiel-Tinto		Guadiana	
				Nearshore	Inner Estuary	Nearshore	Inner Estuary	Nearshore	Inner Estuary	Nearshore	Inner Estuary
Perciformes	Ammodytidae		Ammodytidae sp.	0	0	0.10	0	0	0	0	0
Anguilliformes	Anguillidae	Anguilla	Anguilla anguilla	0	0	0	0.47	0	0	0	0
Perciformes	Gobiidae	Aphia	Aphia minuta	0	0	2.47	0.06	0	0.06	0	0
Perciformes	Scianidae	Argyrosomus	Argyrosomus regius	0	0	0.85	13.16	0	0.07	0	0
Atheriniformes	Atherinidae	Atherina	Atherina sp.	0	0.10	0	0	0	0.06	0	0
Beloniformes	Belonidae	Belone	Belone belone	0	0.11	0	0	0	0	0	0
Perciformes	Blenniidae		Blenniidae sp.	0.15	0	0.49	0	2.91	0.86	1.26	0
Perciformes	Callionymidae		Callionymus sp.	0	0	0	0	1.74	0.65	0.46	0
Clupeiformes	Clupeidae		Clupeidae sp.	0	0	0	0.06	0	0	0.29	0.14
Perciformes	Moronidae	Dicentrarchus	Dicentrarchus punctatus	0	0.10	0	3.46	0	0	0	0
Pleuronectiformes	Soleidae	Dicologlossa	Dicologlossa cuneata	0	0	0.49	0	1.79	0	0.19	0
Perciformes	Sparidae	Diplodus	Diplodus annularis	3.32	5.57	1.69	0.29	6.94	1.04	5.38	0.08
Perciformes	Sparidae	Diplodus	Diplodus sp.	0	0.11	0	0	0	0	0.47	0
Clupeiformes	Engraulidae	Engraulis	Engraulis encrasicolus	24.52	25.25	48.57	761.31	39.67	10.63	21.41	162.09
Batrachoidiformes	Batrachoididae	Halobatrachus	Halobatrachus didactylus	0.41	0.73	0	0.09	0	0	0	0
Syngnathiformes	Syngnathidae	Hippocampus	Hippocampus hippocampus	0	0.95	0.12	0	0.12	0.91	0	1.66
Perciformes	Labridae		Labridae sp.	0	0	0.24	0	0.10	0.27	0	0.23
Perciformes	Blenniidae	Lipophrys	Lipophrys pholis	0.71	0.31	0.23	0	0	0	0.10	0
Perciformes	Mugilidae	Chelon	Chelon auratus	0	0	0	0.12	0	0	0	0
Perciformes	Mugilidae	Chelon	Chelon ramada	0	0	0	0.07	0	0	0	0
Perciformes	Sparidae	Pagrus	Pagrus pagrus	0	0	0	0	0	0	0.49	0
Perciformes	Haemulidae	Pomadasys	Pomadasys incisus	0	0	1.01	0	1.46	0	0.93	0
Perciformes	Gobiidae	Pomatoschistus	Pomatoschistus sp.	0	0.95	0	409.42	0.23	0.73	0.19	89.64
Pleuronectiformes	Soleidae	Solea	Solea senegalensis	0	0.22	0.12	0.12	0.72	0.92	0.38	0.14
Pleuronectiformes	Soleidae		Soleidae sp.	0	0	1.47	0	0.38	0.53	0.12	0.25
Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus	Syngnathus acus	0	0.45	0	0	0.25	0.20	0.10	4.07
Syngnathiformes	Syngnathidae	Syngnathus	Syngnathus typhle	0	0.55	0	0.35	0	0.06	0	13.74
Perciformes	Carangidae	Trachurus	Trachurus trachurus	0	0	0.38	0	2.02	0.15	0.12	0
Perciformes	Scianidae	Umbrina	Umbrina cirrosa	0.21	0	0.38	0.09	0	0	0	0
Unknown			Unknown sp1	0	0	0	0	0	0	0.12	0
Unknown			Unknown sp2	0	0	0	0	0	0	1.11	0
Unknown			Unknown sp3	0	0	0	0	0.13	0	0	0
Unknown			Unknown sp4	0	0.20	0	0	0.11	0.07	0	0
Unknown			Unknown sp5	0	0	0	0	0	0	0.12	0

#### Table 2

PERMANOVA results of the Bray-Curtis similarity matrix based of the fourth root transformed community data.

Source	df	MS	Pseudo-F	P (perm)	Unique perms
Location	3	13,199	4.64	>0.001	9915
Zone	1	27,036	9.74	>0.001	9943
Year	2	13,866	4.99	>0.004	9945
Location × Zone	3	14,056	4.94	>0.001	9923
Location × Year	6	5091.2	1.78	0.011	9898
Zone  imes Year	2	3886.4	1.40	0.166	9919
Location $\times$ Zone $\times$ Year	6	2429	0.85	0.697	9880
Station(Zone × Location × Year)	36	2863.4	4.71	>0.001	9771
Res	205	607.4			
Total	264				

while the nearshore zone was dominated only by *E. encrasicolus* with more than a 95% of similarity contribution. In Odiel-Tinto estuary, other than *E. encrasicolus*, *D. annularis* and *Blenniidae* sp1 also contributed to the nearshore zone similarity, and *H. hippocampus*, *Blenniidae* sp1 and *Solea senegalensis* to the similarity of the inner estuarine zone. Similar to OT, in the nearshore zones of both the GQ and GN estuaries, *E. encrasicolus* and *D. annularis* were the species that most contributed to their similarity. In the inner zones of estuaries with well-developed salinity gradient, the contribution of anchovies decreased (45.5% in GQ and 54.1% in GN), sharing the habitats with the goby *Pomatoschistus* sp., which had a 40.9% in GQ and 24.2% in GN. Additionally, other species were characteristic of the GQ estuarine zone, such as *Argyrosomus regius*, and of GN, such as *Syngnathus typhle* and *S. acus*.

Total abundance of early fish life stages varied significantly between locations and zones, with higher values in the inner estuarine zones with a longitudinal salinity gradient, GQ and GN (Fig. 3). In addition, the inner estuary of GQ was the zone with highest density—up to 5

#### Table 3

PERMANOVA results of the Bray-Curtis similarity matrix based of the fourth root transformed community data for separate zone levels thereafter significant interaction Location × Zone.

Source	Inner estuary							Nearshore			
	df	MS	Pseudo-F	P(perm)	perms	df	MS	Pseudo-F	P(perm)	perms	
Location	3	28,619	11.37	>0.001	9913	3	3533.9	1.02	0.435	9941	
Year	2	5287.1	2.14	0.032	9934	2	11,420	3.42	0.005	9938	
Location × Year	6	3858.8	1.53	0.050	9907	6	3657.7	1.06	0.409	9912	
Station(Location $\times$ Year)	24	2558.1	4.35	>0.001	9788	12	3473.9	5.46	>0.001	9846	
Res	121	587.4				84	636.2				
Total	156					107					

PERMANOVA results of the Bray-Curtis similarity matrix based of the fourth root transformed community data for separate location levels thereafter significant interaction Location × Zone.

Source	BC		GQ		OT			GN				
	df	Pseudo-F	P(perm)									
Zone	1	1.46	0.217	1	12.45	>0.001	1	2.49	0.058	1	5.17	0.011
Year	2	2.90	0.014	2	0.82	0.592	2	4.06	0.004	2	3.29	0.012
Zone  imes Year	2	0.88	0.561	2	0.90	0.540	2	1.12	0.372	2	1.23	0.295
Station(Zone $\times$ Year)	9	2.43	>0.001	9	10.15	>0.001	9	2.90	>0.001	9	5.90	>0.001
Res	31			60			60			54		
Total	45			74			74			68		



Fig. 2. Ordination diagrams of Principal Coordinates Analysis (PCO) on early life fish stages of fish assemblage for each location (Cadiz Bay, Guadalquivir, Odiel-Tinto and Guadiana). Samples coded by zones.

times more than GN (t = 2.40; p = 0.03) and 25 times more than CB (t = 2.88; p = 0.01) and OT (t = 3.27; p < 0.01). No significant differences were found along years, and between nearshore zones.

#### 3.2. Environmental analysis

Boxplot of all variables were presented by location and zone for the complete study period (Fig. 4), in addition to their mean and range values in the appendix (Table A.1). Salinity clearly showed the different structure of the studied estuaries, with lower values and a wide range of variation in the inner zones of those estuaries with well-developed salinity gradient, like GQ and GN. The nearshores of all estuaries and inner zones of OT and CB showed a salinity of the typical marine environment. Related to this, the two estuaries with a well-developed salinity gradient showed higher turbidity, which was also directly correlated

with TSS, SOM and SIM. The highest values were found in GQ inner estuary, followed by the inner zone of GN. In both estuaries, turbidity increased gradually in upstream stations. In the rest of the zones, the water was clearer. As expected, inner zones showed higher temperatures in every estuary, while nearshore zones presented a gradient with lower temperature in GN and gradually increasing towards the more inner part of the GoC. Generally, the estuaries presented higher values of DO and OS in their nearshore than in their inner estuarine zones, with a more conspicuous difference in GQ. With regard to chlorophyll concentration, CB showed similar values in the internal and external bay, and OT and GN showed clearly higher values in their inner estuarine zones, while this pattern was inverted in GQ. With respect to macrozooplankton biomass, the estuarine zones of GQ and GN showed high densities, being higher in GQ than in GN. Similar taxonomic groups were found in both estuaries, mainly isopods, decapods

Results of SIMPER analysis on the abundance of all larval and juvenile fish species from every zone (Inner Estuary and Nearshore) of the four studied locations (Cadiz Bay, Guadalquivir, Odiel-Tinto and Guadiana).

Nearshore				Inner estuary					
Species	Av. abund	Contrib. %	Cum. %	Species	Av. abund	Contrib. %	Cum. %		
Cadiz Bay									
Average similarity: 33.18			Average similarity: 33.79						
Engradits enclusicolus	1,10	55.50	55.50	Diplodus annularis	0.60	13.37	92.05		
Guadalquivir				mppocumpus mppocumpus	0.51	5.25	33.30		
Average similarity: 28.69				Average similarity: 65.12					
Engraulis encrasicolus	1.81	91.73	91.73	Engraulis encrasicolus	4.31	45.45	45.45		
Diplodus annularis	0.33	2.82	94.55	Pomatoschistus sp.	3.70	40.88	86.32		
Aphia minuta	0.28	1.44	95.98	Argyrosomus regius	1.35	10.42	96.74		
Odiel Tinto									
Average similarity: 46.98			Average similarity: 40.44						
Engraulis encrasicolus	2.18	83.04	83.04	Engraulis encrasicolus	1.49	89.52	89.52		
Diplodus annularis	0.80	8.49	91.54	Hippocampus hippocampus	0.28	3.07	92.58		
Blenniidae sp1	11111111111111111111111111111111111111		Blenniidae sp1	0.26	1.78	94.36			
				Solea senegalensis	0.23	1.52	95.88		
Guadiana									
Average similarity: 27.72				Average similarity: 45.49					
Engraulis encrasicolus	1.52	68.10	68.10	Engraulis encrasicolus	2.65	54.12	54.12		
Diplodus annularis	0.83	20.54	88.64	Pomatoschistus sp.	1.89	24.21	78.33		
Blenniidae sp1	0.34	6.28	94.91	Syngnatus thyple	1.18	14.50	92.83		
<i>Unknown</i> 2 0.23 1.09 96.01		Syngnatus acus	3.62	96.45					

and mysids, with this last order being the most abundant. Jellyfish were found in the GN and CB estuaries. GN had the highest densities, with *Blackfordia virginica* as the principal species along with ctenophores of the genus *Bolinopsis*. Also, large individuals of the jellyfish *Catostylus tagi* were found in high densities (we are not providing an estimation of these densities because it cannot be properly estimated with a plankton net). Although there were not important amounts of jellyfish in 2016 (just *C. tagi* in polyhaline station), in 2017 and 2018, there were blooms of the exotic *B. virginica* invading the polyhaline and mesohaline waters (24–7 PSU) of the inner estuary, with mean densities of 1918 ± 621 and 2346 ± 717 ind./100 m<sup>3</sup> (mean ± SE), respectively, and a maximum density of 5290 ind./100 m<sup>3</sup>. Otherwise, the CB estuary contained high densities of the ctenophores *Bolinopsis sp.*, although this was just in the inner bay of 2017 (71 ± 13 ind./100 m<sup>3</sup>) and both zones in 2018 (inner bay: 3 ± 1 ind./100 m<sup>3</sup>; outer bay: 32 ± 20 ind./100 m<sup>3</sup>). The



**Fig. 3.** Total abundance (mean  $\pm$  SE) of early life stages of fish per location and zone during the all studied period (2016–2018). Asterisks indicate significant differences between inner estuary and nearshore zones of every location. Different letters indicate significant differences among locations within each zone.

same species of ctenophores was also caught in GQ nearshore samples but with low total biovolume.

The structure of fish larval assemblages was related to the selected environmental variables (Fig. 5). The ordination analysis obtained a correlation of 42.8%, and the first two dbRDA axes accounted for 28.2% of the total variation. Salinity, which was inversely related with freshwater input, basin area (directly correlated with estuary length and river length), macrozooplankton and SOM (directly correlated with turbidity, TSS and SOM) separate the inner GN and GQ assemblages from the rest of zones in the first axis. Along axis two, variables such as jellyfish, temperature and Chla grouped assemblages of both CB zones and several stations of GN inner estuary; inversely related to these variables, pH, DO (directly correlated with OS) and bottom depth associated the assemblages of the rest of nearshore zones.

#### 4. Discussion

Assemblages of early fish stages showed clear differences among locations and zones across the Gulf of Cadiz. This variation is significantly related to some hydrogeomorphological, physicochemical and biological variables, especially salinity gradient generate by freshwater input, temperature, bottom depth, suspended organic matter, chlorophyll-a, macrozooplankton and jellyfish. Nevertheless, other variables may also influence the assemblage variations such as some intrinsic characteristics of each system or some effects derived from anthropic pressures. However, the differences observed were not as initially hypothesised. During the marked dry season characterising this region, rivers with smaller basins, showed a very low freshwater input and their estuaries, OT and CB, were essentially sea extensions into the land, with similar physicochemical conditions to nearshore zones, as well as similar assemblages of early life stages of fish. In contrast, GQ and GN estuaries were distinct between them and the rest of the zones. As expected, the regional climatic and environmental conditions impose similar characteristics for all external zones and we highly influenced by the general conditions in the GoC. The main environmental variability among coastal areas was the temperature gradient, increasing as it enters the GoC (Vargas et al., 2003). Some differences were



**Fig. 4.** Boxplot of all variables (TSS: total suspended solid; SOM: suspended organic matter; SIM: suspended inorganic matter; DO: dissolved oxygen; OS: oxygen saturation) at each location (CB: Cadiz Bay; GQ: Guadalquivir; OT: Odiel-Tinto; GN: Guadaiana) and zone (inner estuary: blue; nearshore: red) during the study period (dry-warm seasons of 2016, 2017 and 2018).(For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)



**Fig. 5.** Ordination of sampling stations along the first two axes of the distance-based redundancy analysis (dbRDA) relating all species with environmental variables (blue arrows) during 2016, 2017 and 2018. Chla: chlorophyll-a; SOM: suspended organic matter; DO: dissolved oxygen; CB: Cadiz Bay; GQ: Guadalquivir; OT: Odiel-Tinto; CN: Guadiana.(For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

also observed in DO and OS, with lower values in CB, probably associated to its particular embayment morphology, which potentially reduced water renovation. The lower mean bottom depth of its inner bay allowed an increased temperature as well. Still, these differences did not appear to limit the biological community and did not generate significant differences in the distribution of early life stages of fish, the structure of their assemblages and their total densities. This homogenous condition in nearshore zones helps to discern more accurately which environmental variables (biotic and abiotic) of the inner zones estuaries cause differences in the assemblages. The main captured species in all nearshore zones and inner estuaries without a salinity gradient (OT and CB) was Engraulis encrasicolus, followed by individuals of families Sparidae (Diplodus annularis) and Blenniidae. A similar species composition was found by Baldó et al. (2006) in a study of ichthyoplankton in offshore and coastal waters of the Gulf of Cadiz; E. encrasicolus was the most abundant species during the same season, although they found higher abundances in GQ and OT adjacent coastal zones than in GN (a trend also observed in this study but without statistical significance). All these zones showed similar marine environmental conditions, characterised by high and homogeneous salinity, clear waters and low macrozooplankton biomass. Only the OT inner estuary seems to behave in a different manner, showing the lowest average density and pH. However, this is an essentially marine estuary with comparatively high chlorophyll concentration, which, in its non-turbid waters, would tend to increase pH during the day by means of a more intense photosynthetic activity. This estuary is strongly affected by long-term metal mining activity which discharges an acid drainage into the estuary and imposes a heavy contamination of metals (Nieto et al., 2007). Also, bottom depth seems to influence its assemblages, as other authors have found for demersal fish composition (Araújo et al., 2002): stations close to the estuary inlet were the deepest of the study, due to the navigation channel for vessels to the inner port.

Conversely, larval and early juvenile fish assemblages in GN and GQ inner estuaries were significantly different from each other and all other estuarine and nearshore zones. These estuaries, which drain the two largest basins in the region, maintain continuous freshwater input even in the dry season, which maintains a well-developed salinity gradient. Salinity has been shown to strongly influence biological communities, especially the fish assemblages (Amezcua et al., 2019; Araújo et al., 2018; Barletta et al., 2004) and the nursery function of estuaries (França et al., 2009; Whitfield and Harrison, 2003). One of the more abundant species, and the only characteristic species of these estuaries with reduced salinity, was the goby *Pomatoschistus* sp. It is a benthic resident estuarine species (Dolbeth et al., 2007; Pampoulie et al., 1999). Previous studies in GQ and GN have reported the high contribution of the goby to their assemblage structures (Drake et al., 2002; Faria et al., 2006), but it also inhabits coastal areas and lagoons, and it has been recorded in intertidal channels of the CB saltmarshes (Drake and Arias, 1991). With a comparative purpose, this research focused on a habitat well represented in all studied estuaries—the open water masses (from the bottom to the surface), which includes the larger water bodies, main channels and seagrass meadows (Brun et al., 2015).

Although both estuaries presented a similar transitional salinity zone, some distinctive features arose between them, showing differences to their densities and assemblages of early life stages of fish. For example, species such as Argyrosomus regius and Dicentrarchus punctatus, which are important for the fishery sector in the region (Catalán et al., 2006; González-Quirós et al., 2011), are characteristics of GQ inner zone. In GN, species of Syngnathidae were more representative, where the tidal saltmarshes and seagrass meadows (Cunha et al., 2013) could provide favourable habitats for these species (Foster and Vincent, 2004). Even more illustrative is the case of the anchovy E. encrasicolus. This species was the most abundant in the region during the studied period and was dominant in all zones. It is a marine migrant species that is very important for the fisheries of the region (Ruiz et al., 2017a), and its recruitment period is during the warm-dry season (Baldó et al., 2006; Drake et al., 2007). Its importance as a dominant and abundant species has been previously reported in the Guadiana estuary (Faria et al., 2006), Cadiz Bay (Drake and Arias, 1991), Guadalquivir estuary (Drake et al., 2007) and in coastal water in the Gulf of Cadiz (Baldó et al., 2006). Our comparative approach, using the same methodology, sampling gears and study period during three consecutive warmdry seasons, supports the importance of this species in the whole region and all estuaries, showing the Guadalquivir estuary as its main nursery area with a notable highest density.

De Carvalho-Souza et al. (2018) showed that environmental conditions such as moderate turbidity levels (<100 NTU), stable freshwater discharges (30–40 m<sup>3</sup>/s), mesohaline waters, high food availability of mysids (e.g. Mesopodopsis slabberi and Rhopalophthalmus tartessicus) and warm temperature, were the most significant to explain the abundance of E. encrasicolus in the Guadalquivir estuary. However, the Guadiana inner estuary also presented similar environmental characteristics but exhibited a notably lower macrozooplankton biomass than Guadalquivir with an average abundance four times lower. A similar pattern has been found for mesozooplankton, with different studies estimating a much higher copepods density in GQ (~30,000 ind/m<sup>3</sup>; Taglialatela et al., 2014) than in GN (~7000 ind/m<sup>3</sup>; Chícharo et al., 2006) during the dry-warm season. The main physicochemical differences between these two estuaries were higher concentration of TSS and the associated values of SIM, SOM and turbidity in GQ, as well as a higher input of freshwater. Freshwater input not only affects salinity, but is also a main source of nutrients, sediment and organic matter, which influence the biological community and the nursery function of estuaries (González-Ortegón and Drake, 2012). The contribution of sediment by the drainage is higher in Guadalquivir due to the geomorphology of the basin and its high soil erosion rate because of traditional agriculture land use (Carmona, 2015). For the heterotrophic portion of the estuarine food web, a higher load of sediment has been described to dilute higher quality food resources (e.g. cellular phytoplankton) and may constitute a difficulty for mesozooplankton and hyperbenthos (mainly copepods and mysids) (Fockedey and Mees, 1999; Gasparini et al., 1999). Still, the associated higher concentration of suspended organic matter (detritus) can also provide food to zooplankton [directly

(Islam and Tanaka, 2006; Vilas et al., 2008) or through microbial food web (Goosen et al., 1999)], which, in its turn, support early life stages of fishes. Baldó and Drake (2002) showed that copepods and mysids were the two greatest principal preys, respectively, of the post-larval stage of *E. encrasicolus* in the Guadalquivir estuary; the same prey but in the opposite order was found for the juvenile stage. Donázar-Aramendía et al. (2019), in their comparison between the food webs structure of GQ and GN using stable isotopes, found that allochthonous organic matter in the form of detritus can play an essential role in the food webs of the GQ, compensating for the limited phytoplankton production due to higher turbidity, thus maintaining a high biomass of copepods and mysids. These authors also found evidence of higher diversity of basal resources in GQ food webs, whose positive relationship with fish production had been previously suggested (Hoffman et al., 2015).

On the other hand, high turbidity levels in the Guadalquivir estuary has been reported to limit light availability for phytoplankton, reducing the photic depth of the water column and constraining its primary production (Ruiz et al., 2017b). However, the chlorophyll concentration measured in this study was not particularly low, having similar or even higher values than other clearer zones. OS and pH levels, in contrast, were the lowest in inner GQ (except for anomalous pH in internal OT), indicating low photosynthetic activity in the water column. A previous study proposed that Chla in GO estuary could be supported by upstream water reservoirs or irrigation channels from adjacent agriculture fields, in addition to autochthonous production when environmental conditions of turbidity and temperature were favourable for photosynthesis (González-Ortegón and Drake, 2012). However, recent studies of phytoplankton assemblages in the Guadalquivir estuary reveal that diatoms of the genera Navicula and Nitzschia are some of the most abundant cells in its waters (Cañavate et al., 2019); they have been documented as the most common epipelic microphytobenthos (MPB) of the biraphid diatoms (Underwood, 2001). The resuspension of MPB due to flood tide and wind action is typical in highly turbid estuaries (Brito et al., 2012; Irigoien and Castel, 1997; Statham, 2012), where its chlorophyll contribution to water column has been reported to represent an important proportion when compared to the contribution of real phytoplankton (Cadée and Hegeman, 1974; De Jonge and Van Beusekom, 1992). Due to high turbidity levels in GO, photosynthesis is limited by phytoplankton in the water column, but not in the riversides where a dense mat of MPB developed (personal observation), the water depth is lower and the ebb tide exposes intertidal mudflats to sunlight. Up to now, there has not been a precise estimation of the contribution of the MPB to the primary production of the system and the chlorophyll concentration in the water column, but the evidence presented here supports that this would be particularly important in the GQ estuary.

Gelatinous zooplankton is a final important factor for assemblages of early stages of fish in the Gulf of Cadiz estuaries and the potential nursery function that they can play. The Guadiana estuary contained high densities of jellyfish, which decreased the larval and juvenile fish densities and also increased the density variations among years and stations (Personal observation; Chicharo et al., 2009; Muha et al., 2017). A similar effect was found for the macrozooplankton biomass. In the years when blooms of *Blackfordia virginica* were observed in polyhaline and mesohaline waters (2017 and 2018), oligohaline stations (<6 PSU), where the medusas were absent, contained higher concentrations of macrozooplankton and early stages of fish in comparison with the whole inner estuarine zone during 2016. These results show that the jellyfish bloom in the lower part of the estuary works like a barrier (~30 km) for the zooplankton assemblages, which moved and concentrated upstream. The lower densities of this species recorded previously (>100 ind./100m<sup>3</sup> and a maximum density of 3700 ind./100m<sup>3</sup>; Chícharo et al., 2009) may indicate an intensification of this invasion. According to Muha et al. (2017), before construction of Alqueva Dam, this species was not present in the GN estuary, but after the dam's construction, low river discharges provided one of the main factors for its expansion in this ecosystem. Indeed, Guadiana estuary received a mean annual freshwater input three times lower than Guadalquivir estuary despite having a greater river basin area. Ecohydrological studies in the GN estuary demand higher discharges from Alqueva Dam during the dry-warm season to yield a higher plankton productivity and biomass and control jellyfish proliferation (Muha et al., 2012; Wolanski et al., 2006). Currently, this jellyfish has not been reported in the GQ estuary despite being a species that inhabits brackish waters (Marqués et al., 2017; Mills and Sommer, 1995), the proximity to GN and the long history of this invasion (it was reported for the first time in 2001; Muha et al., 2012), which could have facilitated its colonisation. The higher freshwater discharges and muddy bottoms could hinder the settlement of the polypoid phase, which needs a hard substrate. Nevertheless, B. virginica is still a potential risk for the GQ estuary and its nursery function. In contrast, the ctenophore Bolinopsis sp. was found in more locations of the GoC, in addition to inner zone of GN. CB estuary showed high densities in both zones, and it was also present in GQ nearshore zone with low biovolume. However, it has been observed with important abundances in both zones of GO during other periods (personal observation; Diz et al., 2015). Jellyfish are key elements in plankton assemblages when demographic blooms occur with a significant impact by predation and competition with zooplanktivorous consumers such as fish larvae (Boero, 2013; Purcell and Arai, 2001; Robinson et al., 2014). The case of GN is of particular concern, as this is one of the most productive estuaries in the region, with a large transitional zone and well-developed salinity gradient, which is recurrently blocked by jellyfish blooms during the main recruitment period in the region. This must necessarily affect the nursery function and the fishery industry and can be partially responsible for the quantitative differences found between the GN and GQ nursery grounds.

#### 5. Conclusion

Estuaries have the capability to work as a nursery ground, but not all of them succeed because it depends on the characteristics that their habitats provide, which are strongly affected by anthropogenic alterations and the preferences of fish. The four main estuaries of the Gulf of Cadiz are impacted by human activity, as are most estuaries around the world; significantly, damming and water abstraction may have deep effects on environmental conditions, the assemblages of zooplankton and early life stages of fish, and the use that the latter do of estuaries as nursery ground. Estuaries whose rivers discharge enough freshwater to preserve a well-developed horizontal salinity gradient (i.e. the Guadalguivir and Guadiana estuaries) maintain different and denser assemblages in their inner zones. Open water masses of estuaries with scarce river flow maintain essentially marine environmental conditions (i.e. the Odiel-Tinto and Cadiz Bay estuaries) similar to the nearshore zones, and cannot be considered to have an important nursery function. Additionally, the occurrence of jellyfish blooms are also enhanced by water scarcity and could affect the biological community by interfering with the nursery function of estuaries and the fishery industry, as is the case in the Guadiana estuary. Otherwise, high levels of suspended sediment and turbidity limit pelagic primary production, which may be partially compensated by other sources such as microphytobenthos. Still, suspended organic matter associated with this sediment feeds the base of the food web through the heterotrophic pathway, which could maintain a high productivity of ecosystems, as in Guadalquivir estuary. This estuary presented the densest amount of early fish stages and macrozooplankton in the GoC, with the anchovy Engraulis encrasicolus being the most abundant species during the period studied, which provides the most important recruitment stock for the fishery in the region. As a practical conclusion to manage nursery grounds in the GoC, the present fishery production in the region may be supported by a productive equilibrium depending on riverine inputs of sediment into Guadalquivir estuary. The high and quasi-permanent turbidity in this estuary is a present concern, and its reduction is a commonly claimed objective.

Any modification in this sense, even with the objective to improve its ecological status, should be done with caution and be closely monitored. On the other hand, the other potentially highly productive estuary in the region, Guadiana, is currently impoverished due to recurrent blooms of jellyfish, associated with scarce freshwater discharges into the estuary. An improvement of discharge management, as previously claimed by several authors, is possible and would notably improve the nursery function, ecological status and fishery production in the region.

Supplementary data to this article can be found online at https://doi. org/10.1016/j.scitotenv.2020.139614.

#### **CRediT authorship contribution statement**

J.M. Miró: Conceptualization, Methodology, Software, Validation, Formal analysis, Investigation, Data curation, Writing - original draft. C. Megina: Conceptualization, Methodology, Software, Formal analysis, Investigation, Writing - original draft, Project administration. I. Donázar-Aramendía: Methodology, Investigation, Resources, Writing - review & editing. M.J. Reyes-Martínez: Methodology, Investigation, Writing - review & editing. J.E. Sánchez-Moyano: Formal analysis. J.C. García-Gómez: Conceptualization, Supervision, Funding acquisition, Writing - review & editing.

#### **Declaration of competing interest**

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Acknowledgements

We thank Autoridad Portuaria de Sevilla (APS) and Acuario de Sevilla for financial and logistical support. This work was partially supported by the V Plan Propio Universidad de Sevilla via two predoctoral grants (I. Donázar-Aramendía, J.M. Miró). We thank to Agencia de Medio Ambiente y Agua de Andalucía, Confederación Hidrográfica del Guadalquivir and Portuguese Environment Agency for river discharges data support. We thank all the members of the LBM who participate in field surveys and in samples processing.

#### References

- Able, K.W., Wuenschel, M.J., Grothues, T.M., Vasslides, J.M., Rowe, P.M., 2013. Do surf zones in New Jersey provide "nursery" habitat for southern fishes? Environ. Biol. Fish 96, 661–675. https://doi.org/10.1007/s10641-012-0056-8.
- Amezcua, F., Ramirez, M., Flores-Verdugo, F., 2019. Classification and comparison of five estuaries in the southeast Gulf of California based on environmental variables and fish assemblages. Bull. Mar. Sci. 95, 139–159. https://doi.org/10.5343/bms.2018.0018.
- Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. Austral Ecol 26, 32–46.
- Araújo, F.G., Azevedo, M.C.C., Silva, M.A., Pessanha, A.L.M., Gomes, I.D., Gomes da Cruz-Filho, A., 2002. Environmental influences on the demersal fish assemblages in the Sepetiba Bay, Brazil. Estuar. Res. Fed. 25, 441–450.
- Araújo, F.G., Rodrigues, F.L., Teixeira-Neves, T.P., Vieira, J.P., Azevedo, M.C.C., Guedes, A.P.P., Garcia, A.M., Pessanha, A.L.M., 2018. Regional patterns in species richness and taxonomic diversity of the nearshore fish community in the Brazilian coast. Estuar. Coast. Shelf Sci. 208, 9–22. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.04.027.
- Baldó, F., Drake, P., 2002. A multivariate approach to the feeding habits of small fishes in the Guadalquivir Estuary. J. Fish Biol. 61, 21–32. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb01758.x.
- Baldó, F., García-Isarch, E., Jiménez, M.P., Romero, Z., Sánchez-Lamadrid, A., Catalán, I.A., 2006. Spatial and temporal distribution of the early life stages of three commercial fish species in the northeastern shelf of the Gulf of Cádiz. Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 53, 1391–1401. https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.04.004.
- Barletta, M., Barletta-Bergan, A., Saint-Paul, U., Hubold, G., 2004. The role of salinity in structuring the fish assemblages in a tropical estuary. J. Fish Biol., 45–72 https://doi. org/10.1111/j.1095-8649.2004.00582.x.
- Beck, M.W., Heck, K.L., Able, K.W., Childers, D.L., Eggleston, D.B., Gillanders, B.M., Halpern, B., Hays, C.G., Hoshino, K., Minello, T.J., Orth, R.J., Sheridan, P.F., Weinstein, M.P., 2001. The identification, conservation, and management of estuarine and marine nurseries for fish and invertebrates. Bioscience 51, 633–641. https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0633:TICAMO]2.0.CO;2.

- Boero, F., 2013. Review of jellyfish blooms in the Mediterranean and Black Sea. Studies and Reviews. 92. General Fisheries Commission for the Mediterranean, Rome, FAO, p. 53.
- Boesch, D.F., Eugene, R.T., 1984. Dependence of fishery species on salt marshes: the role of food and refuge. Estuaries 7, 460–468.
- Bray, J.R, Curtis, J.T., 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. Ecol. Monogr. 27 (4), 325–349. https://doi.org/10.2307/1942268.
- Brito, A.C., Fernandes, T.F., Newton, A., Facca, C., Tett, P., 2012. Does microphytobenthos resuspension influence phytoplankton in shallow systems? A comparison through a Fourier series analysis. Estuar. Coast. Shelf Sci. 110, 77–84. https://doi.org/10.1016/j. ecss.2012.03.028.
- Brun, F., Vergara, J., Pérez-Lloréns, J.L., Ramírez, C., Morris, E., Peralta, G., Hernández, I., 2015. Diversidad de angiospermas marinas en la bahía de Cádiz: redescubriendo a Zostera marina. Chron. naturae 56, 45–56.
- Cadée, G.C., Hegeman, J., 1974. Primary production of phytoplankton in the Dutch Wadden Sea. Netherlands J. Sea Res. 8, 240–259. https://doi.org/10.1017/ CB09781107415324.004.
- Cañavate, J.-P., van Bergeijk, S., Giráldez, I., González-Ortegón, E., Vílas, C., 2019. Fatty acids to quantify phytoplankton functional groups and their spatiotemporal dynamics in a highly turbid estuary. Estuar. Coasts https://doi.org/10.1007/s12237-019-00629-8.
- Cánovas, C.R., Olías, M., Nieto, J.M., Sarmiento, A.M., Cerón, J.C., 2007. Hydrogeochemical characteristics of the Tinto and Odiel Rivers (SW Spain). Factors controlling metal contents. Sci. Total Environ. 373, 363–382. https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2006.11.022.
- Carmona, I., 2015. Agricultura de conservación en cultivos extensivos del valle del Guadalquivir: caracterización de sistemas a escala de parcela comercial y análisis de estrategias de mejora. Univ. Córdoba Doctoral t 154.
- Catalán, I.A., Rubín, J.P., Navarro, G., Prieto, L., 2006. Larval fish distribution in two different hydrographic situations in the Gulf of Cádiz. Deep. Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 53, 1377–1390. https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.04.010.
- Chicharo, L., Chicharo, M.A., Esteves, E., Andrade, J.P., Morais, P., 2001. Effects of alterations in freshwater supply on the abundance and distribution of Engraulis encrasicolus in the Guadiana estuary and adjacent coastal areas of south Portugal. Ecohydrol. Hydrobiol. 1 (3), 341–345.
- Chícharo, L., Chícharo, M.A., Ben-Hamadou, R., 2006. Use of a hydrotechnical infrastructure (Alqueva Dam) to regulate planktonic assemblages in the Guadiana estuary: basis for sustainable water and ecosystem services management. Estuar. Coast. Shelf Sci. 70, 3–18. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2006.05.039.
- Chícharo, M.A., Leitão, T., Range, P., Gutierrez, C., Morales, J., Morais, P., Chícharo, L., 2009. Alien species in the guadiana estuary (SE-Portugal/SW-Spain): Blackfordia virginica (Cnidaria, Hydrozoa) and Palaemon macrodactylus (Crustacea, Decapoda): potential impacts and mitigation measures. Aquat. Invasions 4, 501–506. https://doi.org/ 10.3391/ai.2009.4.3.11.
- Clarke, K.R., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. Aust. J. Ecol. 18, 117–143. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N., 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, UK.
- Clarke, K.R., Somerfield, P.J., Chapman, M.G., 2006. On resemblance measures for ecological studies, including taxonomic dissimilarities and a zero-adjusted Bray-Curtis coefficient for denuded assemblages. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 330, 55–80. https://doi.org/ 10.1016/j.jembe.2005.12.017.
- Cunha, A.H., Assis, J.F., Serrão, E.A., 2013. Seagrasses in Portugal: a most endangered marine habitat. Aquat. Bot. 104, 193–203. https://doi.org/10.1016/j. aquabot.2014.02.007.
- De Carvalho-Souza, G.F., González-Ortegón, E., Baldó, F., Vilas, C., Drake, P., Llope, M., 2018. Natural and anthropogenic effects on the early life stages of European anchovy in one of its essential fish habitats, the Guadalquivir estuary. Mar. Ecol. Prog. Ser. 617–618, 67–79. https://doi.org/10.3354/meps12562.
- De Jonge, V.N., Van Beusekom, J.E.E., 1992. Contribution of resuspended microphytobenthos to total phytoplankton in the EMS estuary and its possible role for grazers. Netherlands J. Sea Res. 30, 91–105. https://doi.org/10.1016/0077-7579 (92)90049-K.
- Díez-Minguito, M., Baquerizo, A., Ortega-Sánchez, M., Navarro, G., Losada, M.A., 2012. Tide transformation in the Guadalquivir estuary (SW Spain) and process-based zonation. J. Geophys. Res. Ocean. 117, 1–14. https://doi.org/10.1029/2011JC007344.
- Diz, F., González-Ortegón, E., Vilas, C., 2015. Primera caracterización del plancton gelatinoso del estuario del río Guadalquivir (SW España). Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui. VII 513–518.
- Dolbeth, M., Martinho, F., Leitão, R., Cabral, H., Pardal, M.A., 2007. Strategies of Pomatoschistus minutus and Pomatoschistus microps to cope with environmental instability. Estuar. Coast. Shelf Sci. 74, 263–273. https://doi.org/10.1016/j. ecss.2007.04.016.
- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2019. Human pressures on two estuaries of the Iberian Peninsula are reflected in food web structure. Sci. Rep. 9, 1–10. https://doi.org/10.1038/s41598-019-47793-2.
- Drake, P., Arias, A.M., 1991. Composition and seasonal fluctuations of the ichthyoplankton community in a shallow tidal channel of Cadiz Bay (S.W. Spain). J. Fish Biol. 39, 245–263. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1991.tb04360.x.
- Drake, P., Arias, A.M., Baldó, F., Cuesta, J.A., 2002. Spatial and temporal variation of the nekton and hyperbenthos from a temperate European estuary with regulated freshwater inflow. Estuaries 25, 451–468. https://doi.org/10.1007/BF02695987.
- Drake, P., Borlán, A., González-Ortegón, E., Baldó, F., Vilas, C., Fernández-Delgado, C., 2007. Spatio-temporal distribution of early life stages of the European anchovy Engraulis encrasicolus L. within a European temperate estuary with regulated freshwater

inflow: effects of environmental variables. J. Fish Biol. 70, 1689–1709. https://doi.org/ 10.1111/j.1095-8649.2007.01433.x.

Elliot, M., Hemingway, K., 2002. Fish in Estuaries. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK https://doi.org/10.1002/9780470995228.

- European Commission, 2008. Directive 2008/56/EC of the European Parliament and of the Council of 17 June 2008 establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy (Marine Strategy Framework Directive). Of. J. Eur. Communities 164, 19–40.
- European Environment Agency, 2018. European Waters. Assessment of Status and Pressures 2018. EEA Report, Copenhagen, Denmark https://doi.org/10.2800/303664.
- Faria, A., Morais, P., Chícharo, M.A., 2006. Ichthyoplankton dynamics in the Guadiana estuary and adjacent coastal area, South-East Portugal. Estuar. Coast. Shelf Sci. 70, 85–97. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2006.05.032.
- Fernández-Delgado, C., Baldó, F., Vilas, C., García-González, D., Cuesta, J.A., González-Ortegón, E., Drake, P., 2007. Effects of the river discharge management on the nursery function of the Guadalquivir river estuary (SW Spain). Hydrobiologia 587, 125–136. https://doi.org/10.1007/s10750-007-0691-9.
- Fockedey, N., Mees, J., 1999. Feeding of the hyperbenthic mysid Neomysis integer in the maximum turbidity zone of the Elbe, Westerschelde and Gironde estuaries. J. Mar. Syst. 22, 207–228. https://doi.org/10.1016/S0924-7963(99)00042-1.
- Foster, S.J., Vincent, A.C.J., 2004. Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management. J. Fish Biol. 65, 1–61. https://doi.org/10.1111/ j.1095-8649.2004.00429.x.
- Fox, J., Weisberg, S., 2011. An R Companion to Applied Regression. second ed. Sage, Thousand Oaks, CA.
- França, S., Costa, M.J., Cabral, H.N., 2009. Assessing habitat specific fish assemblages in estuaries along the Portuguese coast. Estuar. Coast. Shelf Sci. 83, 1–12. https://doi.org/ 10.1016/j.ecss.2009.03.013.
- Garel, E., Ferreira, O., 2015. Multi-year high-frequency physical and environmental observations at the Guadiana Estuary. Earth Syst. Sci. Data 7, 299–309. https://doi.org/ 10.5194/essd-7-299-2015.
- Gasparini, S., Castel, J., Irigoien, X., 1999. Impact of suspended particulate matter on egg production of the estuarine copepod, Eurytemora affinis. J. Mar. Syst. 22, 195–205. https://doi.org/10.1016/S0924-7963(99)00041-X.
- González-Ortegón, E., Drake, P., 2012. Effects of freshwater inputs on the lower trophic levels of a temperate estuary: physical, physiological or trophic forcing? Aquat. Sci. 74, 455–469. https://doi.org/10.1007/s00027-011-0240-5.
- González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A., Cuesta, J. a, Fernández-Delgado, C., Vilas, C., Drake, P., 2015. Freshwater scarcity effects on the aquatic macrofauna of a European Mediterranean-climate estuary. Sci. Total Environ. 503–504, 9. https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.020.
- González-Ortegón, E., Forja, J., Bellanco, M.J., Amaral, V., Vilas, C., Tovar-Sánchez, A., Jiménez, M.P., Baldó, F., Sánchez-Leal, R.F., 2018. Sources and coastal distribution of dissolved organic matter in the Gulf of Cadiz. Sci. Total Environ. 630, 1583–1595. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.293.
- González-Ortegón, E., Laiz, I., Sánchez-Quiles, D., Cobelo-García, A., Tovar-Sánchez, A., 2019. Trace metal characterization and fluxes from the Guadiana, Tinto-Odiel and Guadalquivir estuaries to the Gulf of Cadiz. Sci. Total Environ. 650, 2454–2466. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.290.
- González-Quirós, R., Del Árbol, J., García-Pacheco, M. del M., Silva-García, A.J., Naranjo, J.M., Morales-Nin, B., 2011. Life-history of the meagre Argyrosomus regius in the Gulf of Cádiz (SW Iberian Peninsula). Fish. Res. 109, 140–149. https://doi.org/ 10.1016/j.fishres.2011.01.031.
- Goosen, N.K., Kromkamp, J., Peene, J., Van Rijswijk, P., Van Breugel, P., 1999. Bacterial and phytoplankton production in the maximum turbidity zone of three European estuaries: the Elbe, Westerschelde and Gironde. J. Mar. Syst. 22, 151–171. https://doi.org/ 10.1016/S0924-7963(99)00038-X.
- Grange, N., Whitfield, A.K., De Villiers, C.J., Allanson, B.R., 2000. The response of two South African east coast estuaries to altered river flow regimes. Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst 10, 155–177. https://doi.org/10.1002/1099-0755(200005/06)10: 3<155::AID-AQC406>3.0.CO;2-Z.
- Harris, S.a., Cyrus, D.P., 2000. Comparison of larval fish assemblages in three large estuarine systems, KwaZulu-Natal, South Africa. Mar. Biol. 137, 527–541. https://doi.org/ 10.1007/s002270000356.
- Harrison, T.D., Whitfield, A.K., 2006. Estuarine typology and the structuring of fish communities in South Africa. Environ. Biol. Fish 75, 269–293. https://doi.org/10.1007/ s10641-006-0028-y.
- Hoffman, J.C., Kelly, J.R., Peterson, G.S., Cotter, A.M., 2015. Landscape-scale food webs of fish nursery habitat along a river-coast mixing zone. Estuar. Coasts 38, 1335–1349. https://doi.org/10.1007/s12237-014-9880-8.
- Irigoien, X., Castel, J., 1997. Light limitation and distribution of chlorophyll pigments in a highly turbid estuary: the Gironde (SW France). Estuar. Coast. Shelf Sci. 44, 507–517.
- Islam, M.S., Tanaka, M., 2006. Spatial variability in nursery functions along a temperate estuarine gradient: role of detrital versus algal trophic pathways. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 63, 1848–1864. https://doi.org/10.1139/f06-086.
- JASCO Corporation, 2011. FP-8000 series Spectrofluorometer Software Manual. JASCO Spectra ManagerTM CFR for FP-8000 series.
- Lee, K.M., Lee, S.Y., Connolly, R.M., 2012. Combining process indices from network analysis with structural population measures to indicate response of estuarine trophodynamics to pulse organic enrichment. Ecol. Indic. 18, 652–658. https://doi. org/10.1016/j.ecolind.2012.01.015.
- Lobanova, A., Liersch, S., Nunes, J.P., Didovets, I., Stagl, J., Huang, S., Koch, H., López, Rivas, del R, M., Maule, C.F., Hattermann, F., Krysanova, V., 2018. Hydrological impacts of moderate and high-end climate change across European river basins. J. Hydrol. Reg. Stud. 18, 15–30. https://doi.org/10.1016/j.ejrh.2018.05.003.

- Marqués, F., Angélico, M.M., Costa, J.L., Teodósio, M.A., Presado, P., Fernandes, A., Chainho, P., Domingos, I., 2017. Ecological aspects and potential impacts of the non-native hydromedusa Blackfordia virginica in a temperate estuary. Estuar. Coast. Shelf Sci. 197, 69–79. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.08.015.
- Marti, C.P., 2018. Research for PECH Committee Fisheries in Mauritania and the European Union. Policy Dep. Struct. Cohes, Policies, Brussels.
- Mcardle, B.H., Anderson, M.J., 2001. Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. Ecol. Soc. Am. 82, 290–297.
- Mills, C.E., Sommer, F., 1995. Invertebrate introductions in marine habitats: two species of hydromedusae (Cnidaria) native to the Black Sea, Maeotias inexspectata and Blackfordia virginica, invade San Francisco Bay. Mar. Biol. 122, 279–288. https://doi. org/10.1007/BF00348941.
- Montoya-Maya, P.H., Strydom, N.A., 2009. Description of larval fish composition, abundance and distribution in nine south and west coast estuaries of South Africa. African Zool 44, 75–92. https://doi.org/10.3377/004.044.0108.
- Muha, T.P., Chícharo, L., Morais, P., Pereira, R., Ben-Hamadou, R., Cruz, J., Chícharo, M.A.T., 2012. The effect of distinct hydrologic conditions on the zooplankton community in an estuary under Mediterranean climate influence. Ecohydrol. Hydrobiol. 12, 327–335. https://doi.org/10.2478/v10104-012-0027-x.
- Muha, T.P., Teodósio, M.A., Ben-Hamadou, R., 2017. Impact assessment of non-indigenous jellyfish species on the estuarine community dynamic: a model of medusa phase. Estuar. Coast. Shelf Sci. 187, 249–259. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.10.040.
- Nieto, J.M., Sarmiento, A.M., Olías, M., Canovas, C.R., Riba, I., Kalman, J., Delvalls, T.A., 2007. Acid mine drainage pollution in the Tinto and Odiel rivers (Iberian Pyrite Belt, SW Spain) and bioavailability of the transported metals to the Huelva Estuary. Environ. Int. 33, 445–455. https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.11.010.
- Pampoulie, C., Rosecchi, E., Bouchereau, J.L., Crivelli, A.J., 1999. Life history traits of Pomatoschistus minutus in the Rhone Delta, France. J. Fish Biol. 55, 892–896. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1999.tb00728.x.
- Papadimitriou, L.V., Koutroulis, A.G., Grillakis, M.G., Tsanis, I.K., 2016. High-end climate change impact on European runoff and low flows - exploring the effects of forcing biases. Hydrol. Earth Syst. Sci. 20, 1785–1808. https://doi.org/10.5194/hess-20-1785-2016.
- Poff, N.L., Zimmerman, J.K.H., 2010. Ecological responses to altered flow regimes: a literature review to inform the science and management of environmental flows. Freshw. Biol. 55, 194–205. https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02272.x.
- Purcell, J.E., Arai, M.N., 2001. Interactions of pelagic cnidarians and ctenophores with fish: a review. Hydrobiologia 451, 27–44. https://doi.org/10.1023/A:1011883905394.
- Purcell, J.E., Malej, A., Benović, A., 1999. Potential links of jellyfish to eutrophication and fisheries. In Ecosystems at the land-sea margin: drainage basin to coastal sea. In: Malone, T.C., Malej, A., Harding, L.W., Smodlaka, N., Turner, R.E. (Eds.), 55. American Geophysical Union, Coastal and Estuarine Studies, pp. 241–263.
- R Core Team, 2018. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical computing, Vienna, Austria https://www.R-project.org/.
- Ramos, S., Amorim, E., Elliott, M., Cabral, H., Bordalo, A.A., 2012. Early life stages of fishes as indicators of estuarine ecosystem health. Ecol. Indic. 19, 172–183. https://doi.org/ 10.1016/j.ecolind.2011.08.024.
- Ray, G.C., 2006. The coastal realm's environmental debt. Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst. 16, 1–4. https://doi.org/10.1002/aqc.764.
- Robinson, K.L., Ruzicka, J.J., Decker, M.B., Brodeur, R.D., Hernandez, F.J., Quiñones, J., Acha, E.M., Uye, S.I., Mianzan, H., Graham, W.M., 2014. Jellyfish, forage fish, and the world's major fisheries. Oceanography 27, 104–115. https://doi.org/10.5670/ oceanog.2014.90.
- Rolls, R.J., Bond, N.R., 2017. Environmental and Ecological Effects of Flow Alteration in Surface Water Ecosystems, Water for the Environment: From Policy and Science to Implementation and Management. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803907-6.00004-8.
- Roy, P.S., Williams, R.J., Jones, A.R., Yassini, I., Gibbs, P.J., Coates, B., West, R.J., Scanes, P.R., Hudson, J.P., Nichol, S., 2001. Structure and function of south-east Australian estuaries. Estuar. Coast. Shelf Sci. 53, 351–384. https://doi.org/10.1006/ecss.2001.0796.
- Ruiz, F., González-Regalado, M.L., Borrego, J., Morales, J.A., Pendón, J.G., Muñoz, J.M., 1998. Stratigraphic sequence, elemental concentrations and heavy metal pollution in Holocene sediments from the Tinto-Odiel Estuary, southwestern Spain. Environ. Geol. 34, 270–278. https://doi.org/10.1007/s002540050278.
- Ruiz, J., Polo, M.J., Díez-Minguito, M., Navarro, G., Morris, E.P., Huertas, E., Caballero, I., Contreras, E., Losada, M.A., 2015. The Guadalquivir Estuary: a hot spot for environmental and human conflicts. Environmental Management and Governance. Coastal Research Library, pp. 199–232. https://doi.org/10.1007/978-3-319-06305-8.
- Ruiz, J., Rincón, M.M., Castilla, D., Ramos, F., del Hoyo, J.J.G., 2017a. Biological and economic vulnerabilities of fixed TACs in small pelagics: an analysis of the European anchovy (Engraulis encrasicolus) in the Gulf of Cádiz. Mar. Policy 78, 171–180. https:// doi.org/10.1016/j.marpol.2017.01.022.
- Ruiz, J., Macías, D., Navarro, G., 2017b. Natural forcings on a transformed territory overshoot thresholds of primary productivity in the Guadalquivir estuary. Cont. Shelf Res. 148, 199–207. https://doi.org/10.1016/j.csr.2017.09.002.
- Saintilan, N., 2004. Relationships between estuarine geomorphology, wetland extent and fish landings in New South Wales estuaries. Estuar. Coast. Shelf Sci. 61, 591–601. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2004.07.002.
- Sánchez-Lamadrid, A., Jiménez, T., Ruiz, J., Gutiérrez, G., Muñoz, J., Saavedra, M., Juárez, A., Romero, M., Pérez, A., 2002. Bahía de Cádiz, protección de los recursos naturales pesqueros y aplicaciones para instalaciones acuícolas. Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.
- Schinegger, R., Palt, M., Segurado, P., Schmutz, S., 2016. Untangling the effects of multiple human stressors and their impacts on fish assemblages in European running waters. Sci. Total Environ. 573, 1079–1088. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.143.

- Soetaert, K., Middelburg, J.J., Heip, C., Meire, P., Van Damme, S., Maris, T., 2006. Long-term change in dissolved inorganic nutrients in the heterotrophic Scheldt estuary (Belgium, The Netherlands). Limnol. Oceanogr. 51, 409–423. https://doi.org/ 10.4319/lo.2006.51.1\_part\_2.0409.
- Statham, P.J., 2012. Nutrients in estuaries an overview and the potential impacts of climate change. Sci. Total Environ. 434, 213–227. https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2011.09.088.
- Strydom, N.A., Whitfield, A.K., Wooldridge, T.H., 2003. The role of estuarine type in characterizing early stage fish assemblages in warm temperate estuaries, South Africa. African Zool 38, 29–43. https://doi.org/10.1080/15627020.2003.11657192.
- Taglialatela, S., Ruiz, J., Prieto, L., Navarro, G., 2014. Seasonal forcing of image-analysed mesozooplankton community composition along the salinity gradient of the Guadalquivir estuary. Estuar. Coast. Shelf Sci. 149, 244–254. https://doi.org/10.1016/j. ecss.2014.08.021.

Underwood, G.J.C., 2001. Microphytobenthos. Encycl. Ocean Sci.. vol. 3, pp. 1770–1777 Vanney, J.R., 1970. L'hydrologie du bas Guadalquivir. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. Spain.

- Vargas, J.M., García-Lafuente, J., Delgado, J., Criado, F., 2003. Seasonal and wind-induced variability of Sea Surface Temperature patterns in the Gulf of Cádiz. J. Mar. Syst. 38, 205–219. https://doi.org/10.1016/S0924-7963(02)00240-3.
- Vasconcelos, R.P., Reis-Santos, P., Fonseca, V., Ruano, M., Tanner, S., Costa, M.J., Cabral, H.N., 2009. Juvenile fish condition in estuarine nurseries along the Portuguese coast. Estuar. Coast. Shelf Sci. 82, 128–138. https://doi.org/10.1016/j. ecss.2009.01.002.
- Vilas, C., Drake, P., Fockedey, N., 2008. Feeding preferences of estuarine mysids Neomysis integer and Rhopalophthalmus tartessicus in a temperate estuary (Guadalquivir Estuary, SW Spain). Estuar. Coast. Shelf Sci. 77, 345–356. https://doi.org/10.1016/j. ecss.2007.09.025.
- Wanders, N., Wada, Y., Van Lanen, H.A.J., 2015. Global hydrological droughts in the 21st century under a changing hydrological regime. Earth Syst. Dyn. 6, 1–15. https://doi. org/10.5194/esd-6-1-2015.
- Warry, F.Y., Reich, P., Cook, P.L.M., Mac Nally, R., Thomson, J.R., Woodland, R.J., 2016. Nitrogen loads influence trophic organization of estuarine fish assemblages. Funct. Ecol. 30, 1723–1733. https://doi.org/10.1111/1365-2435.12647.

- Whitfield, A.K., 1994. Abundance of larval and O+ juvenile marine fishes in the lower reaches of 3 southern African estuaries with differing freshwater inputs. Mar. Ecol. Prog. Ser. 105, 257–268. https://doi.org/10.3354/meps105257.
- Whitfield, A.K., 1999. Ichthyofaunal assemblages in estuaries: a South African case study. Rev. Fish Biol. Fish. 9, 151–186.
- Whitfield, A.K., Harrison, T.D., 2003. River flow and fish abundance in a South African estuary. J. Fish Biol. 62, 1467–1472. https://doi.org/10.1046/j.1095-8649.2003.00125.x.
- Whitfield, A., Wooldridge, T., 1994. Changes in freshwater supplies to southern African estuaries: some theoretical and practical considerations. Chang. Fluxes Estuaries Implic. from Sci. to Manag. 41–50.
- Whitfield, A.K., Elliott, M., Basset, A., Blaber, S.J.M., West, R.J., 2012. Paradigms in estuarine ecology - a review of the Remane diagram with a suggested revised model for estuaries. Estuar. Coast. Shelf Sci. 97, 78–90. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.11.026.
- Wolanski, E., Chícharo, L., Chícharo, M.A., Morais, P., 2006. An ecohydrology model of the Guadiana Estuary (South Portugal). Estuar. Coast. Shelf Sci. 70, 132–143. https://doi. org/10.1016/j.ecss.2006.05.029.
- Wu, H., Chen, J., Xu, J., Zeng, G., Sang, L., Liu, Q., Yin, Z., Dai, J., Yin, D., Liang, J., Ye, S., 2019. Effects of dam construction on biodiversity: a review. J. Clean. Prod. 221, 480–489. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.001.
- Xoplaki, E., González-Rouco, J.F., Luterbacher, J., Wanner, H., 2004. Wet season Mediterranean precipitation variability: influence of large-scale dynamics and trends. Clim. Dyn. 23, 63–78. https://doi.org/10.1007/s00382-004-0422-0.
- Zarzuelo, C., Díez-Minguito, M., Ortega-Sánchez, M., López-Ruiz, A., Losada, M.T., 2015. Hydrodynamics response to planned human interventions in a highly altered embayment: the example of the Bay of Cádiz (Spain). Estuar. Coast. Shelf Sci. 167, 75–85. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.07.010.
- Zarzuelo, C., López-Ruiz, A., Díez-Minguito, M., Ortega-Sánchez, M., 2017. Tidal and subtidal hydrodynamics and energetics in a constricted estuary. Estuar. Coast. Shelf Sci. 185, 55–68. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.11.020.
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A., Smith, G.M., 2009. Mixed Effects Models and Extensions in Ecology With R. Springer, New York, USA.
- Zuur, A.F., Saliev, A.A., Ieno, E.N., 2015. A Beginner's Guide to Generalised Additive Mixed Models With R. Highland Statistics Ltd, Newburgh, UK.

Contents lists available at ScienceDirect





### Marine Pollution Bulletin

journal homepage: www.elsevier.com/locate/marpolbul

## Environmental consequences of dredged-material disposal in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain



I. Donázar-Aramendía<sup>a,\*</sup>, J.E. Sánchez-Moyano<sup>b</sup>, I. García-Asencio<sup>b</sup>, J.M. Miró<sup>a</sup>, C. Megina<sup>c</sup>, J.C. García-Gómez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area., Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain

<sup>b</sup> Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain

<sup>c</sup> Biodiversidad y Ecología Acuática, Seville Aquarium R+D+I Biological Research Area, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain

#### ARTICLE INFO

Keywords: Disposal Toxicity Trace metals Biomagnification Bioaccumulation Guadalquivir

#### ABSTRACT

In this study we assessed the effects of the recurrent disposal of dredged material from the Guadalquivir estuary (south-western Spain) in a marine disposal area. We analysed shifts in sediment characteristics as well as bioaccumulation and biomagnification of heavy metals through the benthic food web. Results showed that the significant increase in concentration of some heavy metals observed in the marine disposal area after the latest disposal event could be attributed to the deposition of river-dredged sediments. This increase could also explain the decreased amphipod survival in the ecotoxicology analysis. Heavy metal concentrations in organisms indicated some bioaccumulation in deposit feeders and predators but with no clear patterns nor biomagnification through the food web. Hence, combining studies that monitor shifts in sediment characteristics and their possible consequences for the food web seems to be an interesting approach that should be assessed further in this type of studies.

#### 1. Introduction

Dredging activities are especially undertaken in navigable estuaries to maintain security in navigation (OSPAR, 2008; Bates et al., 2015). Subsequent direct disposal of the dredged material in open waters is still a priority management option (Harvey et al., 1998; Katsiaras et al., 2015). These activities can modify the physicochemical, biochemical and biological properties of the ecosystem (Bolam, 2012; Guerra et al., 2009). Therefore, dredging and disposal are serious environmental concerns in coastal management (Marmin et al., 2016; Moog et al., 2015; Van Dolah et al., 1984).

The rapid development of urban and industrial areas on rivers and coasts in the past century has posed serious environmental contaminants into estuaries (Bárcena et al., 2017). Most contaminants accumulate in the sediments, which act as a repository and a resource of pollutants for the water column (Souza et al., 2015). Heavy metals represent substances of special interest due to their durability in the system (Nicolau et al., 2006). Thus, heavy metal pollution has become a major issue in estuarine environments (Buruaem et al., 2012) due to their potential toxicity and tendency to bioaccumulate (Bárcena et al., 2017). Slight changes in the water and sediment conditions, such as those that occur in dredging and disposal operations, may modify the mobility and bioavailability of metals (Cesar et al., 2014; Guerra et al., 2009; Katsiaras et al., 2015; Wilber et al., 2007). As a consequence, those released contaminants can concentrate and be biomagnified in marine organisms in the food chain (Roberts and Forrest, 1999). Dumping of dredged material may also cause increases in water column turbidity, change organic matter and change the sediment structure, which are some of the main impacts to the benthic environment (Cesar et al., 2014; OSPAR, 2008). Therefore, monitoring is highly necessary in dredging and dumping activities, especially when the option chosen is the deposition of dredged material in a marine site (Bocchetti et al., 2008).

In this study we assess the effect of the recurrent disposal of dredged material from the Guadalquivir estuary (south-western Spain) in a marine disposal area. This estuary, through a 90 km long navigation channel, is the entrance to Seville harbour, the only inland harbour on the Iberian Peninsula. Every few years it is necessary to perform maintenance dredging works to ensure navigability (Díez-Minguito, 2012). Part of the sediment dredged along the channel is disposed in an

\* Corresponding author.

E-mail address: idonazar@us.es (I. Donázar-Aramendía).

https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111736

Received 29 July 2019; Received in revised form 28 August 2020; Accepted 30 September 2020 Available online 16 October 2020

0025-326X/ © 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

authorised marine disposal area established in 2010. Sediment in the estuary has been receiving historic metal contamination for centuries, and in April 1998 a toxic mining spill was accidentally discharged into the estuary (Tornero et al., 2014). Although there are systematic contamination controls carried out in these operations, there is a potential impact in the marine disposal area. The recurrence of a potential anthropogenic disturbance in time is also an important factor too (Glasby and Underwood, 1996; Villnäs et al., 2013). Every event of sediment disposal after dredging operations can be considered a short-term or 'pulse' disturbance (Glasby and Underwood, 1996). The repetition of these events could generate a series of short-term responses in the sediment characteristics, followed by a recovery (to some extent) and convergence to a previous state, a permanent change or a combination of these two processes (Underwood, 1994).

The divergent results obtained in disposal impact studies have made it necessary to evaluate environmental effects case by case (Bolam et al., 2006; Bolam and Rees, 2003; Donázar-Aramendía et al., 2018a; Harvey et al., 1998; Katsiaras et al., 2015; OSPAR, 2008; Simonini et al., 2005). Moreover, bioaccumulation and ecotoxicology assessments for different species is one of the procedures of increasing importance in monitoring programmes of sediment disposal (Marmin et al., 2014). The effects of bioaccumulation of heavy metals through the food web have been little studied. In this context, the aim of this study was (i) to assess the effect of the dredged material disposal on the physical and chemical characteristics of the sediment and water column, (ii) to determine the variation of heavy-metal concentrations and (iii) to analyse their toxicity and bioaccumulation within the food web. We hypothesise that the discharge of estuarine sediment constitutes a pulse disturbance having a short-term effect on the characteristics of the sediment, and the recurrence of this pulse effect will lead to a permanent change. Also, the remobilisation of contaminants would have increased the metal contamination and toxicity, and these metals would have accumulated in the food web.

#### 2. Methods

#### 2.1. Study area

This historic marine disposal area is described by Donázar-Aramendía et al. (2018a). Briefly, the disposal area is situated five miles offshore in an open water area off the river mouth of the Guadalquivir estuary, south-western Spain (Fig. 1). The disposal area has a rectangular shape with a surface area of 662,571 m<sup>2</sup>. The bottom is 20 m in depth with sediments composed principally of fine sand and mud (Usero et al., 2008). The seafloor is influenced by terrigenous inputs of the Guadalquivir River and the hydrodynamic conditions of the Gulf of Cádiz, with predominantly west-to-east currents (Sainz and Ruiz, 2006). These features give the surrounding areas similar sedimentary characteristics and biological communities (Fa et al., 2003; Gonzalez and Dias, 2004). This disposal area has been receiving dredged material from harbours and the Guadalquivir estuary in four events (2010: 338,652 m<sup>3</sup>; 2011: 353,488 m<sup>3</sup>; 2013: 354,795 m<sup>3</sup>; and present study in August 2015: 314,275 m<sup>3</sup>), (data from Autoridad Portuaria de Sevilla).

#### 2.2. Sampling design

In total, three sampling surveys were carried out: once before disposal (July 2015 to test the previous effects of the recurrent disposals), and twice more afterwards (October 2015, and August 2016, to analyse the effects of this latest perturbation on the system). Three sampling areas were established in the same environment: one within the marine disposal area (DA) and two controls located approximately three miles from the affected area ( $C_1$  and  $C_2$ ) (Fig. 1). Controls were located at the same depth in a similar area with equal hydrological and geomorphic characteristics (Sainz and Ruiz, 2006). Distances between controls and the disposal area were selected to avoid any possible impacts, indeed

previous studies have demonstrated that there are not influence from the disposal operation in the control areas (Donázar-Aramendía et al., 2018a) (Fig. 1).

At each control and disposal area, three samples were taken randomly for sediment analysis with a van Veen grab  $(0.15 \text{ m}^2 \text{ total sampling area})$ . Grain size distribution was measured as percentages of 100 g of dry sediment graded through a sieve net (5 mm, 2 mm, 1 mm, 0.5 mm, 0.250 mm, 0.125 mm, 0.063 mm). Particulate organic matter (POM) was determined by calculating the weight difference between the dry sediment sample of three replicates (at 60 °C until dried weight stabilisation) and after combustion (500 °C for 4 h). Apparent redox potential was measured by a pH meter (WTW pH 1970i) with SenTix ORP electrode. Water turbidity was analysed with a multiparametric probe through all the water column (Eureka Manta 2).

For the heavy metal and trace element concentration analysis (As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sr, V, Zn), another three samples per area were taken from the uppermost 2 cm of the surface. In the laboratory, sediment samples were air-dried, crushed and sieved though a 2 mm sieve and then ground to < 60  $\mu$ m. These samples were digested with aqua regia (1:3 conc. HNO<sub>3</sub>/HCl) in a microwave digester. Quantification of elements in the extracts was achieved using a VARIAN ICP 720-ES (simultaneous ICP-OES with axially viewed plasma). The accuracy of the analytical methods was assessed through a reference soil sample from the Wageningen Evaluating Programs for Analytical Laboratories for soils, International Soil-analytical Exchange (WEPAL; ISE).

The pollution load index (PLI) was calculated as an estimate of the overall sediment contamination and permits a comparison of pollution between sites at different times (Angulo, 1996; Ghosh et al., 2018). This index is widely used to assess the pollution in soil and dust (Zhang et al., 2018 and citations therein). It was firstly proposed by Tomlinson et al. (1980) by calculating the concentration factor, defined as the ratio of the actual content of a given heavy metal with respect to the background value. The PLI for a set of n polluting metals is defined as the geometric mean of the concentration factor values for the n metals. This index was calculated through the concentrations of As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn. Regional background values were established by Carretero et al. (2011) for Doñana National Park to the silty clayey sediment of the Holocene geological record:

#### $P_{Li=\sqrt[n]{C_{F1}\times C_{F2}\times C_{F3}\times....\times C_{Fn}}}$

The index of geoaccumulation (Igeo) proposed by Müller (1979) has been used as a relative measure of metal pollution in sediments for As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn. This index is calculated by the ratio of log<sub>2</sub>(heavy-metal concentration) in sediment to 1.5 times background metal concentration: Igeo =  $\log_2(Cn/1.5 \times Bn)$ , where Cn is the concentration of the element n, and Bn is the background concentration data of that element. Background levels were those of Carretero et al. (2011). Following Müller (1979), the index values were divided into seven groups: unpolluted (Igeo  $\leq 0$ ); very low polluted ( $0 \leq Igeo \leq 1$ ); low polluted ( $1 \leq Igeo \leq 2$ ); moderately polluted ( $2 \leq Igeo \leq 3$ ); heavily polluted ( $3 \leq Igeo \leq 4$ ); very heavily polluted ( $4 \leq Igeo \leq 5$ ) and extremely polluted (Igeo > 5).

For toxicity analysis, a ten-day static sediment toxicity test was conducted with the amphipod *Ampelisca brevicornis* (Costa, 1853), (Riba et al., 2003; Rodríguez-Romero et al., 2016). Toxicity tests with amphipods has been demonstrated as a useful tool for sediment quality assessment (Riba et al., 2003) and is frequently corresponded with benthic ecological response (Long et al., 2001). *A. brevicornis* has been widely used in the Atlantic coast for pollution sediment assessment (Riba et al., 2004) and the standard ten-day bioassays can be used for dredged material characterisation (Casado-Martinez et al., 2007). Indeed, Spanish legislation 'RDL 79/2019, 22 de febrero' adopts the Interministerial Commission on Marine Strategies in dredged material management and urges the use of this amphipod bioassay for sediment assessment in some cases (Rodríguez-Romero et al., 2016). Amphipod



Fig. 1. Location of the disposal and control areas.

test were conducted according to Rodríguez-Romero et al. (2013 and citations therein). Briefly: Test organisms were collected from a clean intertidal zone by sieving the sediments through a 0.5 mm mesh. The amphipods were transported to the laboratory and placed in a 20 L tank with filtered sea water and native sediment and acclimated for 7 days. In this stage, organisms were gradually acclimated with constant aeration (1 °C/day) to the test temperature (22 °C), with natural photoperiod. Tests were conducted in 2 L tanks containing 200 mL of sediment previously sieved through a 1 mm mesh, and 800 mL of overlying water. After the sediment was deposited, aeration was provided, and after 24 h, 20 individuals were added per replicate. The tests included five replicates per area plus five additional replicates for control with clean sediment from the zone of origin of the amphipods. After 10 days the full tank was sieved and the survivors counted. Some authors consider that when the percentage survival is less than 70% and the survival in the control is over 90% the sediment is considered toxic (Casado-Martinez et al., 2007).

For the analysis of carbon and nitrogen isotopes and heavy metals from the biota, fauna was collected in three surveys with a van Veen grab ( $0.05 \text{ m}^2$ ) and an epibenthic sledge ( $46 \times 25 \text{ cm}$ , 2.5 mm net mesh size). The number of samples was enough to obtain a representative number of species of the benthic community (Donázar-Aramendía et al., 2018a). All samples were sieved through a 0.5 mm mesh sieve and organisms were sorted by species, transferred to the laboratory in refrigerated containers and kept alive for 24 h to evacuate their gut content. In order to determine the isotopic composition of sediment organic matter (SOM), sediment was taken from the upper 2 cm of the van Veen grab sample. In the laboratory, species identification was confirmed and fauna were rinsed in distilled water.

Organisms were dried at 60  $^{\circ}$ C for at least 48 h and ground to a powder. For the heavy-metal analysis, individuals of the same species were separated and 0.3 g of each dried sample was processed using the same procedure as used for the sediment.

Muscle tissue samples of fish and molluscs were dissected. A pool of

several organisms was used when the individuals had low biomass values (< 0.3 mg dry weight). Sediment samples were acidified with 0.1 M HCl to remove carbonates, and were then oven-dried at 60 °C. Subsamples of powdered materials were weighed to the nearest 0.3 mg and placed into tin capsules for  $\delta$  <sup>13</sup>C and  $\delta$  <sup>15</sup>N determinations. All samples were combusted at 1020 °C using a continuous-flow isotope ratio mass spectrometry system by means of a Flash HT Plus elemental analyser coupled to a Delta-V Advantage isotope ratio mass spectrometer via a CONFLO IV interface (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany).

#### 2.3. Data analysis

To assess graphically the effect of the disposal on water turbidity, a generalised additive mixed model (GAMM) was fitted using three random replicates per area and date. Predictions of the model were represented graphically with the Ocean Data View (ODV) software (Schlitzer, 2019) to observe the temporal variations.

To examine the effects of the disposal in the study area, a permutational univariate analysis of variance (PERMANOVA) (Anderson, 2001) was performed, based on Euclidean similarity matrixes of each sedimentary variable using 9999 permutations. When the total number of possible permutations to obtain the *p*-values were low (< 150) we used the estimate obtained by Monte Carlo sampling (Anderson and Robinson, 2003). The experimental design included two crossed fixed factors: 'Impact vs Control' with two levels (the potentially impacted area and control areas); and 'Time' with two levels (before and after the latest disposal event). The design also included two random factors: 'Area' nested within 'Impact vs Control', with three levels (DA, C1, C2); and the sampling dates 'Dates' nested within 'Time', with three levels (Jul 15, Oct 15 and Aug 16). For trace metal concentration a PERMA-NOVA multivariate analysis of variance was also performed based on the Euclidean distance matrix of the concentrations of selected trace metals according to Tornero and Hanke (2016) in dredged material disposal assessment: As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn. This multivariate analysis was followed by a univariate analysis of each metal, with the same experimental design and methodology.

According to a Before After Control Impact (BACI) design, if the disposal has an impact, the disposal area will change over time from 'before' to 'after' with a different pattern when compared to control areas (C1 and C2). This difference can be detected as a significant 'Impact vs Control'  $\times$  'Time' interaction (Guerra et al., 2009). Also, the control areas should not show differences between them. In this sense, it is important to notice that the factor 'Area' is nested within 'Impact vs Control' and, given the asymmetric design of this study, this terms only estimate the variance between the two control areas (Anderson et al., 2008). As reported by Donázar-Aramendía et al. (2018a), when the saturated model (with all explained terms included in the model) generated negative estimates of some components of variation (this indicates that the model in turn is a poor one, according to Anderson et al., 2008), model selection was performed by excluding the affected terms, one by one, beginning with those of higher order (interactions), and provided that their *p*-values were higher than 0.25 (Anderson et al., 2008). Following this process with all the analyses performed here (both the multivariate and the univariate PERMANOVA), the factor 'Area' and its interactions with 'Dates' and with 'Time' were excluded from all models; hence, there were no differences between the control areas in any case. Significant interactions, if detected, were explored further in separate analyses, within the levels of the interacting factors; i.e., the significant interactions between 'Impact vs Control' and 'Dates' were further analysed separately by disposal area and control areas.

To test temporal and spatial variation of heavy-metal concentration in the three areas over all sampling dates, a principal component analysis (PCA) was also applied. All the analyses were carried out in IBM SPSS for Windows and PRIMER v 6.0 software (Clarke and Gorley, 2006). To assess the bioaccumulation of trace metals in organisms, the bioaccumulation factor (BF) was calculated based on Negri et al. (2006). It was calculated by the ratio between the metal concentration in the organisms and that in the sediments. Organisms were grouped in trophic groups because it was not possible to find same species across all areas and dates. Bioaccumulation was considered when bioaccumulation factor were greater than 1 (Trevizani et al., 2016).

To test biomagnification of trace metals over the food web, linear regression models were used to examine the relationship between metal concentrations and trophic position of species. To estimate consumer trophic position in the disposal area and in the controls, we applied a novel Bayesian approach using the package 'tRophicPosition' in R (Quezada-Romegialli et al., 2018). This combines Markov Chain Monte Carlo Simulation with stable isotope data. This approach includes the variability of the baseline isotope values and the trophic discrimination factor, which is an advantage with respect to the classic approaches to estimate trophic position (Hetherington et al., 2018). We used isotope values of the sediment as baseline trophic position of consumers in the disposal area and in a combination of the two control areas since they did not show differences between them and numbers of species found were low. This package implements a Bayesian model:

$$\delta^{15}N_{consumer} = \delta^{15}N_{baseline} + \text{TDF}(\text{TP} - \lambda)$$

where  $\lambda$  is the baseline trophic level and TDF is the trophic discrimination factor from Post (2002). Posterior modes of trophic position were extracted and linear models calculated to test the relationship between trophic position and metal concentrations of the studied species. Metal concentrations were log-transformed.

#### 3. Results

Water turbidity assessments did not show any temporal or spatial pattern (Fig. 2.).

Sediment analysis values showed that the disposal area had lower percentage of fines (the fraction smaller than 0.063 mm) than the control areas at all the sampling dates (Fig. 3). Univariate PERMANOVA analysis showed significantly (p < 0.01) higher POM and percentage of fines in controls than in the disposal area (Table 1). Also, there was no difference in these parameters between the two control areas despite the distance between them. In addition, there were no significant interactions between the factors 'Impact vs Control' and 'Time'.

On the other hand, the control areas showed generally higher heavy-metal concentrations than did the disposal area (Fig. 3). Control areas showed similar heavy-metal concentrations across all sampling dates (Fig. 3). In contrast, in October 2015, the disposal area showed an increase in heavy-metal concentration, which remained at the same level in August 2016 (Fig. 3). Only Hg showed no clear spatial or temporal patterns.

Heavy-metal concentration did not show significant differences between the two control areas at any sampling date. Moreover, As, Cd, and Hg concentrations did not show significant differences between the disposal and control areas. Multivariate PERMANOVA results of trace metal concentrations, as well as univariate analysis for PLI, Cr, Cu, Ni, Pb, and Zn showed a significant 'Impact vs Control'  $\times$  'Time' interaction (Table S1). Concentrations of these metals increased in October 2015, one month after the prompt disposal of 2015, while in the control areas they remained at the same preoperational levels (Fig. 3). In August 2016, most metal concentrations were at the same levels as in October 2015 in the disposal area (Fig. 3). PERMANOVA analysis of separated samples of the interacting factors showed significant differences before and after the prompt disposal in the disposal area and no differences in the controls for the multivariate analysis, PLI, Cr, Pb and Zn. Although concentrations of Cu and Ni showed significant differences before and after the prompt disposal both in disposal and control areas, the tendencies were different.



Fig. 2. Patterns of variation of water turbidity NTU (Nephelometric Turbidity Units) in the three areas (DA: Disposal area, C1: Control1, C2: Control 2) across the sampling dates.

 $\rm I_{geo}$  for all the metals analysed showed at all the sampled points and periods an unpolluted and very low polluted sediment ( $\rm I_{geo}<0$  and  $\rm I_{geo}<1$ ). PCA analysis, based on all sediment parameters, is plotted in Fig. 4. Although both control areas were several miles apart, they presented very similar environmental characteristics and were different from the disposal area. However, after the disposal of the dredged material in summer 2015 there was a homogenisation between the disposal area and the two control areas. PC1 axis accounted for 62.0% of the variation in the data; most variability from this axis could be attributed to heavy-metal concentrations according to eigenvector values. PC2 explained 11.9% of the variation, which was based mainly on grain size characteristics and Hg concentration.

#### 3.1. Ecotoxicological analysis

Survival percentages of the ecotoxicological analysis were expressed with respect to the percentage of survival of the controls (100%). Results showed different percentages of survival in the different areas across all periods (Fig. 5). Before disposal, there was lower sediment toxicity in the disposal area than in the two control areas. After the disposal, toxicity in the disposal area increased and reached the levels of the control areas, which presented lower toxicity than before the disposal. In the final survey, a year after the disposal operations, survival was similar in the three areas and reached more than 80%.

#### 3.2. Metal concentrations in organisms

Since a certain biomass of organisms is necessary to analyse metal concentration, only the most abundant were taken for this purpose: the polychaetes *Sternaspis scutata* (Ranzani, 1817), *Nephtys hombergii* (Savigny in Lamarck, 1818) and *Glycera tesselata* (Grube, 1863), the echinoderms *Oestergrenia digitata* (Montagu, 1815) and *Amphiura chiajei* (Forbes, 1843), the tanaid *Apseudopsis latreillii* (Milne Edwards, 1828), the decapods *Diogenes pugilator* (P. Roux, 1829), *Upogebia tipica* (Nardo, 1869) and *Goneplax rhomboides* (Linnaeus, 1758), the mollusc *Turritella turbona* (Monterosato, 1877) and a fish species of the family Gobidae.



Fig. 3. Patterns of variation of some variables of the sediment in the three areas (DA: Disposal area, C1: Control1, C2: Control 2) across the sampling dates. Vertical bars represent ± standard error.

Organisms were classified according to these trophic groups: predator and deposit feeders.

Bioaccumulation of As, Cd, Cu, Hg, Sr and Zn was detected, and concentration levels and bioaccumulation are shown in Table 2. Concentration of As in organisms ranged from 3.86 to  $63.19 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . The lowest metal concentration was found in predators in control areas in August 2016 (3.86 mg·kg<sup>-1</sup>) and the highest in deposit feeders in July 2015 in the three areas (42.75 mg·kg<sup>-1</sup> in DA to  $63.19 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  in C2).

Generally, predators showed lower values than deposit feeders. Bioaccumulation of As was observed in deposit feeders in all areas at all dates sampled except in October 2015 in the disposal area. In predators, bioaccumulation was observed only in October 2015, both in control and in disposal areas.

The concentration of Cd ranged from 0.05 to  $1.39 \text{ mg·kg}^{-1}$ . The lowest values were observed in predators in C1 at the three sampling dates and the highest in deposit feeders in the control areas in July

Univariate PERMANOVA results in the studied areas based on the Euclidian distanced matrix of the sediment variables. \*p estimation obtained by Monte Carlo sampling.

	df	MS	Pseudo-F	р	Unique perms
Dadam					
Impact vs control	1	2 7202	2 00F - 03	0.0572	0845
Time	1	2.7393 4 94E + 04	2.901-03	0.9372	2043
Datas (tima)	1	$4.04E \pm 04$	122 79	0.0249	0941
Impact vs control × time	1	$1.17E \pm 0.03$	123.70 2.1EE 02	0.0001	9041
Rec	22	$2.03E \pm 00$	2.15E-03	0.9622	9835
Total	22	944.93			
Total	20				
Turbidity					
Impact vs control	1	44.754	0.18982	0.6731	9849
Time	1	185.36	0.11833	0.7894*	3
Dates (time)	1	1732.8	7.3493	0.0061	9850
Impact vs control $\times$ time	1	8.1214	3.44E - 02	0.8592	9847
Res	22	235.77			
Total	26				
Organia mattar					
Impact va control	1	62 707	14 105	0.0015	0947
Time	1	02.707	14.195 2.41E 02	0.0015	9047
Dates (time)	1	26 622	8 2004	0.9010	0945
Impact vs control × time	1	1 025 02	0.2904 4 14E 02	0.0007	0021
	22	1.03E - 02	4.14E - 03	0.9500	9031
Total	22	4.4170			
Total	20				
Percentage of fines					
Impact vs control	1	3302.8	11.27	0.0053	9844
Time	1	31.504	0.92826	0.3501*	3
Dates (time)	1	1.55E + 00	5.29E - 03	0.9464	9836
Impact vs control $\times$ time	1	41.652	0.14213	0.7183	9857
Res	22	293.05			
Total	26				



**Fig. 4.** Outcome of PCA analysis for the three areas (DA: Disposal area, C1: Control1, C2: Control 2) using the sediment variables before (B) and after (A) the prompt disposal in summer 2015.

2015. Bioaccumulation was detected in deposit feeders in the three areas in July 2015 but not in predators. In October 2015 all trophic groups showed bioaccumulation in the three areas.

Values of Cu concentration ranged from 6.89 to  $185.44 \text{ mg} \text{kg}^{-1}$ . The highest concentration levels were detected in deposit feeders in the three areas in October 2015. Predators in the disposal area also showed higher values compared to those in the controls at all sampling dates. Bioaccumulation factor were also higher in October 2015 in deposit feeders of the three areas. In the disposal area, predators showed bioaccumulation of Cu at all sampling dates similar to deposit feeders except in July 2015. In contrast, in the controls predators never showed bioaccumulation.



Fig. 5. Results of the toxicity test of the sediment of the three areas (DA: Disposal area, C1: Control1, C2: Control 2) at all sampling dates.

The highest concentrations of Hg were found in October 2015 in the three areas. In predators this concentration was higher than in deposit feeders, reaching values of  $5.04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  in the disposal area. In July 2015 these values were lower and became undetectable in August 2016. Both deposit feeders and predators showed bioaccumulation in October 2015 in all three areas.

Sr concentrations ranged from 100.71 to 1625.78  $mg kg^{-1}$ . Values were always higher in deposit feeders than in predators, except predators in the disposal area, which also showed high concentration compared to the other areas in August 2016. The highest bioaccumulations factor was found in deposit feeders in the disposal area at the three sampling dates.

A higher concentration of Zn was detected in October 2015 in all areas except in the deposit feeders of the disposal area. Bioaccumulation was always detected for Zn in all the trophic groups in the three areas except in one control area in July and August. Highest bioaccumulation factor was detected in predators in the disposal area in October 2015. In the other sampling dates bioaccumulation factor were also higher in the disposal area than in the control areas.

#### 3.3. Trophic position

Trophic position was calculated at all sampling dates since there were insufficient species found to adjust the linear models. In the disposal area, the highest trophic position was detected in *U. tipica* and *G. tesselata*. In control areas the highest levels were shown by *O. digitata*, Gobidae and *N. hombergii*.

Linear models only detected a positive significant relationship between trophic position and metal concentration for Zn in the disposal area (estimate = 3.685, std. = 1.457, t = 2.529, p = 0.0299).

#### 4. Discussion

Our results confirm that a single disposal event may constitute a pulse disturbance for some environmental variables, but it may have a longer temporal extent for some others (increases in the concentrations of some trace metals). These disturbances repeated recurrently can impose a permanent change for variables, such as sediment grain size, which have consequences for other characteristics of the sediment and for the biological community. Several studies assessing the impacts of dredged material disposal in marine environments have determined that their effects are mostly site-specific (Donázar-Aramendía et al.,

Mean values of trace metal concentration  $(mg kg^{-1})$  in sediment and organisms grouped in trophic guilds. Bold letters indicate bioaccumulation factor > 1 in organisms. Missing values indicate absence of species or insufficient biomass.

	Before			After							
	Jul 15			Oct 15			Aug 16				
	C1	C2	DA	C1	C2	DA	C1	C2	DA		
Sedimen	t										
As	12.44	11.30	9.48	14.65	14.10	11.88	14.14	14.12	11.01		
Cd	0.19	0.18	0.17	0.19	0.18	0.21	0.22	0.21	0.23		
Co	8.19	8.62	5.98	8.19	8.72	8.04	8.61	7.98	7.95		
Cr	46.57	48.14	19.51	46.87	48.09	34.52	46.15	43.40	32.94		
Cu	47.63	46.52	18.13	42.87	43.14	29.22	45.93	46.09	31.66		
Hg	0.15	0.11	0.10	0.05	0.00	0.01	0.07	0.38	0.23		
Ni	25.14	25.51	12.59	24.14	25.10	19.86	24.03	23.18	19.27		
Pb	33.17	33.36	17.74	33.71	34.03	25.73	30.81	30.11	23.25		
Sr	262.80	273.67	186.36	278.70	286.87	254.98	300.80	299.16	331.33		
V	61.90	65.92	29.02	66.75	67.72	49.70	71.68	67.70	52.69		
Zn	99.84	97.28	58.67	96.39	96.42	75.51	101.92	101.09	78.98		
Deposit	feeders										
As	43.11	63.19	42.75	19.79	21.86	9.14	18.83	17.75	13.20		
Cd	1.26	1.39	0.64	0.45	0.60	0.28	0.38	0.31	0.21		
Со	6.18	10.67	3.61	4.91	6.78	0.85	3.25	2.49	1.59		
Cr	20.20	22.15	6.70	8.49	10.50	3.20	11.82	7.50	2.93		
Cu	32.36	35.07	14.74	168.84	185.44	118.33	76.45	56.01	72.26		
Hg	0.11	0.22	0.18	0.93	1.35	0.57	0.25	0.27	0.00		
Ni	15.27	19.36	7.75	8.48	10.93	2.54	10.49	6.94	3.59		
Pb	18.25	22.43	7.66	11.56	12.24	2.19	15.33	9.53	4.43		
Sr	252.29	301.40	782.18	1128.74	1098.26	1147.94	1053.09	1084.30	1625.78		
V	22.42	24.33	8.81	12.53	15.73	4.36	13.32	10.75	5.82		
Zn	110.53	106.43	84.73	145.42	220.86	92.10	98.28	113.62	91.87		
Predator	S										
	4.94			33.62	20.32	15.49	3.87	3.86	8.90		
As	0.13			0.21	0.21	0.49	0.05	1.04	0.23		
Cd	0.40			1.20	0.78	0.99	0.16	-0.00	0.71		
Со	3.01			2.83	3.88	4.04	2.86	5.39	1.76		
Cr	6.89			25.35	29.60	70.72	10.36	29.37	108.38		
Cu	0.14			1.78	2.69	5.04	0.24	0.00	0.00		
Hg	1.66			2.43	2.07	1.88	2.19	3.71	1.59		
Ni	2.96			3.24	3.54	2.10	2.85	5.82	1.17		
Pb	326.53			297.71	280.36	616.14	458.24	727.04	1145.52		
Sr	3.82			3.57	4.74	3.40	4.26	8.99	2.79		
V	75.23			182.34	150.47	181.49	84.59	119.52	114.83		

2018a; Marmin et al., 2014; OSPAR, 2008). Moreover, there have been few studies focusing on the impact of disposal events in an ongoing disposal area which are still active (Bolam et al., 2011 and citations therein). Here we assessed both the effects of recurrent disposals in an active marine disposal area and the effects of a prompt deposition on sediment characteristics and their implications for the food web. There are various factors that may modulate the impact of disposals, such as the amount of sediment deposited and the season, water depth, hydrodynamics and the similarity of the dredged material to the native sediment (Marmin et al., 2014; Powilleit et al., 2006).

In fact, the main effects of dredged material disposal involve physicochemical disturbances in (i) the water column and (ii) the sea bed (Ceia et al., 2013).

In some studies, physicochemical effects on the water column due to dredged material disposal have been reported (Simboura et al., 2007). One of the main impacts resulting from disposal is the increase in turbidity, which can lead to changed metabolic rates of filter feeders and reduce larval recruitment and growth (Witt et al., 2004). A punctual effect (or pulse disturbance) necessarily occurs immediately after disposal, but in the first sampling time after the disposal (one month after the last disposal event), turbidity levels measured were within the range occurring naturally in this zone (it must be considered that it is within the influence area of a highly turbid estuary). An important variable to determine the potential impact of an increase in turbidity is, other than the level reached, the duration of the event (Kjelland et al., 2015). In

accordance with our results, Fredette and French (2004) reported that water-column impacts are minimal and short-term and could be comparable to natural processes (OSPAR, 2008). Hence, disturbances that affect macrofaunal communities are more related to the physicochemical characteristics of the sediment (OSPAR, 2008).

On the other hand, literature reviewed in OSPAR (2008), assessed that one of the main effects of disposal operations is changes in sediment structure, which may adversely affect organisms. This habitat alteration is due mainly to the deposition of fine-grained sediment. This agrees with more recent studies, which have found similar significant changes to finer grains (Katsiaras et al., 2015). Conversely, Simonini et al. (2005) and Smith and Rule (2001) found no influence on grain size, Cruz-Motta and Collins (2004) found that although an increase in the coarse material in a disposal area was registered just after disposal, the main matrix of fine material was maintained. Harvey et al. (1998) found similar patterns after disposal; an increase in coarser sediment with more organic content than the natural bottom sediment was detected but differences decreased with time back to the natural conditions. In contrast, Vivan et al. (2009) found a shift in grain size to more coarse sediment in the first month after disposal. Munari and Mistri (2014) also found a change in the particle sizes of sediment from siltyclayey to sandy. In Spain, legislation encourages the selection of disposal areas with similar grain size characteristics to that of the dredged material extracted (Buceta et al., 2015). A close match between grain size distribution of the dredged material and the native sediments has
been reported to be an important factor in the ecological impacts of disposal operations (Wilber et al., 2007). Our results showed that the marine disposal area bottom is characterised by fine sand at all samples and there was no variation with time, although there was a high variability in the sediment characteristics of the disposal area, which indicates a higher degree of patchiness in this area. This grain size composition is normal for open-water zones situated off the mouth of large estuaries and influenced by the terrigenous inputs of the river (Gray and Elliott, 2009). However, differences in grain size distribution and POM between the disposal area and the two control areas were found. While the two control areas had greater fines and POM content. the disposal area had more sand and lower POM. The Guadalquivir estuary is one of the principal exporters of dissolved organic matter in the Gulf of Cádiz (González-Ortegón et al., 2018); this agrees with results found in the controls, which would receive the fine fraction from the estuary and have higher concentrations than in the disposal area. Moreover, this shows that the sediments deposited in the disposal area had been dredged in the estuary from areas with some different sediment characteristics from those of the receptor area. Indeed, Donázar-Aramendía et al. (2018b) reported values of percentage of fines in the dredging area of the Guadalquivir estuary of 37.65  $\pm$  46.39, which showed the high variability in the bottom of the estuary. Given the continuous influence of Guadalquivir river discharge, the natural trend of this disposal area would be to homogenise with the surrounding environment, but the recurrence of disposal operation maintains a permanent difference. The prompt disposal in summer 2015 did not constitute any additional change in the physical characteristics of the disposal area.

Several studies have found shifts in the chemical characteristics of sediment due to variations in heavy-metal concentrations (Bolam et al., 2011; Katsiaras et al., 2015; Stronkhorst et al., 2003). The last authors found changes depending on the trace metal analysed. Others, such as Roberts and Forrest (1999), did not find significant changes, or they found little indication of an impact on the disposal area (OSPAR, 2008). The significant increase in some heavy-metal concentrations observed in an area after disposal agree with these results and could be attributed to the deposition of river-dredged sediments with a higher concentration of those metals. In fact, González-Ortegón et al. (2019) suggested a high concentration of Cu and Ni due to the influence of the intense agriculture in the Guadalquivir river basin. In the study mentioned above (Donázar-Aramendía et al., 2018b), the authors found the values of trace metals in the dredged area of the Guadalquivir: As:  $5.80 \pm 0.79 \, \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $\pm$  0.12 mg kg<sup>-1</sup>, 4.06  $\pm$  0.54 mg kg<sup>-1</sup>, 8.70  $\pm$  1.5  $0.13 \pm 0.12 \,\mathrm{mg \cdot kg^{-1}}$ Cd: Cr:  $7.81 \pm 0.70 \,\mathrm{mg \cdot kg^{-1}},$ Cu: Hg:  $8.70 \pm 1.59 \,\mathrm{mg \cdot kg^{-1}},$  $0.22 \pm 0.19 \,\mathrm{mg} \,\mathrm{kg}^{-1}$ Ni: Pb:  $16.13 \pm 1.36 \text{ mg} \text{kg}^{-1}$ , Zn:  $35.33 \pm 4.63 \text{ mg} \text{kg}^{-1}$ . These values are similar or slightly lower than those found in the disposal area, which may indicate an accumulation of these metals because of repeated disposal events over the years. Moreover, these increases remained for one year for some metals, which may be seen as a more 'press-like' disturbance.

In spite of this, concentrations of heavy metals were never higher in the disposal area than in the two control areas. The higher levels of heavy-metal concentration found in the control areas could be due to the fact that heavy metals potentially show an affinity for mud particles and are accumulated where fine-grained sediments are present (George et al., 2007). Evidence of this process can be found in a wide variety of marine systems and localities (Boldrin et al., 1989; and references therein). Metal concentrations in the continental shelf of this area are explained by the contribution of the Tinto-Odiel, Guadiana and, mainly, the Guadalquivir estuary (González-Ortegón et al., 2019).

Levels of toxic metal concentration in all samples were similar to those found by Usero et al. (2008) in the Gulf of Cádiz and by Tornero et al. (2014) in the Guadalquivir. In this sense, according to Ruiz (2001) the base levels obtained in the Gulf of Cádiz,  $I_{geo}$  for Cr, Pb and Zn, showed 'unpolluted' sediment at all sampling periods and areas, and for

Cu showed a 'very low pollution' in the two control areas.

Dauvin (2008) pointed out that the use of the amphipod toxicity test in European waters has to increase, since those tests have been more widely applied in estuarine habitats of North America or New Zealand rather than in Europe. Bioassays have showed different results when assessing the toxicity of dredging and disposal operations. For example, in Guerra et al. (2009), Stronkhorst et al. (2003), Bolam et al. (2011) and Roberts and Forrest (1999) there were no effects on amphipod survival in their toxicity tests; meanwhile in Cesar et al. (2014), bioassays suggested that the disposal of dredged material altered sediment quality and the toxicity was related to metal contamination. Organisms in disposal areas usually showed high resilience to perturbations (Bolam et al., 2011; Bolam and Rees, 2003). However, different chemical contents in disposed dredge sediments could impact the macrofaunal community, weakening their survival, reproduction and recruitment processes, due to the mobility and bioavailability of toxic heavy metals (Guerra et al., 2009; Katsiaras et al., 2015). Previous studies in the same area had found that the disposal area did not show an increase in the abundance of some species observed in control areas (Donázar-Aramendía et al., 2018a). The increase in the toxicity of the sediment after the prompt disposal in summer 2015 in the disposal area was attributed presumably to an increase in hazardous metal concentration. In preoperational samples, toxicity trials with sediment from the control areas showed a lower survival in amphipods than those with sediment from the disposal area, while after the prompt disposal the survival rates homogenised. This increase in the apparent toxicity in the disposal area was consistent with the observed increase in the concentration of some metals. In the final samples from August 2016, a universal increase in survival was observed; we do not have a clear explanation for this result, which could be related either to the condition of the experimental amphipods in their natural habitats or to some uncontrolled variable during experimentation. However, the environmental conditions and the treatments were equal for both control and disposal areas, and again there were no differences in survival between disposal and control areas, in contrast to preoperational trials.

Assessment of benthic condition is vital in monitoring programmes, since trace metals and other contaminants accumulate in marine sediment and may lead to an impact on the environment (Parnell et al., 2008). Macrofauna from benthic habitats are sensitive to sediment quality and make up a group in which different trophic strategies are present (Parnell et al., 2008; Gamito and Furtado, 2009). Several studies focusing on programmes monitoring bioaccumulation of pollutants in organisms have used few suspension feeding species such as clam cockles and mussels (Martín-Díaz et al., 2005). However, organisms which feed directly on the sediment may reflect more accurately the sediment toxicity. Macrofauna trophic structure includes different trophic levels of both prey and predator species. Moreover, since they are in an intermediate position in the food web, they may constitute a significant pathway for bioaccumulation and biomagnification of pollutants (Costa-Dias et al., 2010). Thus, contaminants can concentrate in their tissues and be transported up the food web (Parnell et al., 2008).

In this study we used a multispecies approach, with a measure of the trophic position of these species. However, a major issue when analysing metal content in organisms is that a relatively high biomass of each species is necessary, which was difficult to find in all the areas and dates. Despite of the low amount of data of trace metal concentration, mostly in predators, some conclusions may be extracted. We found bioaccumulation of some heavy metals in deposit feeders. As, Cd, Hg, Sr and Zn were identifiable in the organisms in all areas, both before and after the disposal of summer 2015. Only copper was accumulated specifically after the disposal, but in all areas. On the other hand, predators showed bioaccumulation of the same metals but without a clear pattern, sometimes only in the disposal area and in one control. Only Zn and Hg were present in all areas after the disposal. Bioaccumulation of Cu was seen only in the disposal area after the disposal of summer 2015, at high concentration compared to the

organisms in the control areas. These patterns suggest that the bioaccumulation found both in the disposal area and in the controls is due mainly to metal transportation from the main rivers into the Gulf of Cádiz (González-Ortegón et al., 2019), rather than being an effect of the prompt disposal. In other studies, bioaccumulation found after a disposal event were low and/or returned to levels at the reference site after the operations; Stronkhorst et al. (2003) found bioaccumulation of Hg and Zn in starfish at the disposal site but at not more than twice the levels of those at the reference site. Bocchetti et al. (2008) and Fredette and French (2004) used suspension feeders as bioindicators of pollutant bioavailability after a disposal event. In both studies the low bioaccumulation of trace metals found returned to preoperational levels.

To our knowledge there have been few studies analysing biomagnification in dredging or disposal events. Our results showed that there were no patterns of biomagnification through the food web. We only found a significant relationship between the log-transformed concentration of zinc and the trophic position of the species in the disposal area. Thus, this could indicate an effect in the disposal area where these pollutants are amplified in the system. However, the low number of species found in this area with enough biomass to analyse both stable isotopes and trace metals makes more exhaustive research necessary. These results agree with Dauvin (2008), who found no biomagnification of Cd, Cu, Pb or Zn at any level of an estuarine food web. Conversely, in other studies, authors have found biomagnification of Hg in the estuarine food web (Coelho et al., 2013). These authors also pointed out that the age of the organisms or the time of exposure to the contaminants are important factors in these studies. This would explain the absence of patterns, being due to the relatively short lifetime of the macrofauna (Compton et al., 2017).

The historical depositions of dredged sediment from the Guadalquivir estuary in the disposal area constitute pulse disturbances which, accumulated in time, have permanently modified the sediment characteristics (present study) and the biological communities (Donázar-Aramendía et al., 2018a). These modifications include a transformation to a coarser grain size in the disposal area compared to the reference areas. The coarser sediment has led to lower organic matter content and trace metal concentrations. The prompt disposal in summer 2015 increased significantly the concentration of some trace metals, which remained at the same level one year after the deposition. This increase in heavy metal content was reflected in the increase in toxicity of the sediment. In spite of these modifications, the same bioaccumulation patterns found in organisms in the disposal and control areas showed that the bioaccumulation seems to have an origin in the metals transported by the principal estuaries in the Gulf of Cádiz. The unique relationship between the zinc concentration and the trophic position of the organisms in the disposal area, which was absent in the controls, may indicate an impact that necessitates further research. Bioaccumulation analysis and ecotoxicology for different species are procedures with increasing importance in programmes monitoring sediment disposal (Marmin et al., 2014). Moreover, our results showed that in this type of disposal areas it is necessary space in time the disposal and to permit certain grade of recovery. Otherwise, these pulse disturbances repeated without enough recovery time may lead to permanent changes with consequences to the physicochemical characteristics of the sediments which in turn would affect all the biological community. In spite of this the perturbation generates by the disposal over the year is localized and seems not to have consequences to the environment around it. As suggested by Donázar-Aramendía et al. (2018a, 2018b), the site-specific characteristics of these impacts make it necessary to continue investigating this topic, incorporating new approaches. For example, understanding food webs would allow better knowledge of bioaccumulation and biomagnification (Pasquaud et al., 2007).

#### CRediT authorship contribution statement

The authors contributed equally in designing the study. I.D., J.E.S., I.G, C.M. and J.M. performed the research. I.D., C.M. and J.C. analysed the data. I.D. and J.E.S.M. wrote the first manuscript and all authors contributed substantially to revisions.

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111736.

#### Declaration of competing interest

The authors declare no competing financial and/or non financial interests.

#### Acknowledgments

We thank the Autoridad Portuaria de Sevilla (APS) and the Acuario de Sevilla for financial and logistical support. This work was partially supported by the V Plan Propio Universidad de Sevilla via two predoctoral grants (I. Donázar-Aramendía, J.M. Miró). Isotopic analyses were carried out at the Laboratorio de Isótopos Estables of the Estación Biológica de Doñana (LIE-EBD, Spain; www.ebd.csic.es/lie/index. html). We thank Dr. Craig Layman for his invaluable help with stable isotope interpretation

#### References

- Anderson, M.J., 2001. Permutation tests for univariate or multivariate analysis of variance and regression. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 58, 626–639. https://doi.org/10.1139/ f01-004.
- Anderson, M.J., Robinson, J., 2003. Generalized discriminant analysis based on distances. Aust. New Zeal. J. Stat. 45, 301–318.
- Anderson, M., Gorley, R.N., Clarke, K., 2008. PERMANOVA+ for Primer: Guide to Software and Statistical Methods. Primer-E, Plymouth.
- Angulo, E., 1996. The Tomlinson pollution load index applied to heavy metal, "musselwatch" data: a useful index to assess coastal pollution. Sci. Total Environ. 187, 19–56. https://doi.org/10.1016/0048-9697(96)05128-5.
- Bárcena, J.F., Claramunt, I., García-Alba, J., Pérez, M.L., García, A., 2017. A method to assess the evolution and recovery of heavy metal pollution in estuarine sediments: past history, present situation and future perspectives. Mar. Pollut. Bull. 124, 421–434. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.07.070.
- Bates, M.E., Fox-Lent, C., Seymour, L., Wender, B.a., Linkov, I., 2015. Life cycle assessment for dredged sediment placement strategies. Sci. Total Environ. 511, 309–318. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.003.
- Bocchetti, R., Fattorini, D., Pisanelli, B., Macchia, S., Oliviero, L., Pilato, F., Pellegrini, D., Regoli, F., 2008. Contaminant accumulation and biomarker responses in caged mussels, Mytilus galloprovincialis, to evaluate bioavailability and toxicological effects of remobilized chemicals during dredging and disposal operations in harbour areas. Aquat. Toxicol. 89, 257–266. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.07.011.
- Bolam, S.G., 2012. Impacts of dredged material disposal on macrobenthic invertebrate communities: a comparison of structural and functional (secondary production) changes at disposal sites around England and Wales. Mar. Pollut. Bull. 64, 2199–2210. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.07.050.
- Bolam, S.G., Rees, H.L., 2003. Minimizing impacts of maintenance dredged material disposal in the coastal environment: a habitat approach. Environ. Manag. 32, 171–188. https://doi.org/10.1007/s00267-003-2998-2.
- Bolam, S.G., Rees, H.L., Somerfield, P., Smith, R., Clarke, K.R., Warwick, R.M., Atkins, M., Garnacho, E., 2006. Ecological consequences of dredged material disposal in the marine environment: a holistic assessment of activities around the England and Wales coastline. Mar. Pollut. Bull. 52, 415–426. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005. 09.028.
- Bolam, S.G., Barry, J., Bolam, T., Mason, C., Rumney, H.S., Thain, J.E., Law, R.J., 2011. Impacts of maintenance dredged material disposal on macrobenthic structure and secondary productivity. Mar. Pollut. Bull. 62, 2230–2245. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2011.04.012.
- Boldrin, A., Jurac'ić, M., Menegazzo Vitturi, L., Rabitti, S., Rampazzo, G., 1989. Geochemical considerations on trace element distributions in suspended matter and sediments at the river-sea interface, Adige River mouth, northern Adriatic sea. Appl. Geochem. 4, 409–421. https://doi.org/10.1016/0883-2927(89)90016-4.
- Buceta, J.L., Lloret, A., Antequera, M., Obispo, R., Sierra, J., Martínez-Gil, M., 2015. Nuevo marco para la caracterización y clasificación del material dragado en España. RIBAGUA - Rev. Iberoam. del Agua 2, 105–115. https://doi.org/10.1016/j.riba.2015. 11.001.
- Buruaem, L.M., Hortellani, M.A., Sarkis, J.E., Costa-Lotufo, L.V., Abessa, D.M.S., 2012. Contamination of port zone sediments by metals from large marine ecosystems of Brazil. Mar. Pollut. Bull. 64, 479–488. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.01. 017.

- Carretero, M.I., Pozo, M., Ruiz, F., Rodríguez Vidal, J., Cáceres, L.M., Abad, M., Muñoz, J.M., Gómez, F., Campos, J.M., González-Regalado, M.L., Olías, M., 2011. Trace elements in Holocene sediments of the southern Doñana National Park (SW Spain): historical pollution and applications. Environ. Earth Sci. 64, 1215–1223. https://doi. org/10.1007/s12665-011-0936-9.
- Casado-Martinez, M.C., Forja, J.M., DelValls, T.A., 2007. Direct comparison of amphipod sensitivities to dredged sediments from Spanish ports. Chemosphere 68, 677–685. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.01.077.
- Ceia, F.R., Patrício, J., Franco, J., Pinto, R., Fernández-Boo, S., Losi, V., Marques, J.C., Neto, J.M., 2013. Assessment of estuarine macrobenthic assemblages and ecological quality status at a dredging site in a southern Europe estuary. Ocean Coast. Manag. 72, 80–92. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2011.07.009.
- Cesar, A., Lia, L.R.B., Pereira, C.D.S., Santos, A.R., Cortez, F.S., Choueri, R.B., De Orte, M.R., Rachid, B.R.F., 2014. Environmental assessment of dredged sediment in the major Latin American seaport (Santos, Sa&tild;o Paulo - Brazil): an integrated approach. Sci. Total Environ. 497–498, 679–687. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv. 2014.08.037.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N., 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. Prim. Plymouth UKhttps://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x. 192 p.
- Coelho, J.P., Mieiro, C.L., Pereira, E., Duarte, a.C., Pardal, M.a., 2013. Mercury biomagnification in a contaminated estuary food web: effects of age and trophic position using stable isotope analyses. Mar. Pollut. Bull. 69, 110–115. https://doi.org/10. 1016/j.marpolbul.2013.01.021.
- Compton, T.J., Holthuijsen, S., Mulder, M., van Arkel, M., Schaars, L.K., Koolhaas, A., Dekinga, A., ten Horn, J., Luttikhuizen, P.C., van der Meer, J., Piersma, T., van der Veer, H.W., 2017. Shifting baselines in the Ems Dollard estuary: a comparison across three decades reveals changing benthic communities. J. Sea Res. 127, 119–132. https://doi.org/10.1016/j.seares.2017.06.014.
- Costa-Dias, S., Freitas, V., Sousa, R., Antunes, C., 2010. Factors influencing epibenthic assemblages in the Minho Estuary (NW Iberian Peninsula). Mar. Pollut. Bull. 61, 240–246. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.02.020.
- Cruz-Motta, J.J., Collins, J., 2004. Impacts of dredged material disposal on a tropical softbottom benthic assemblage. Mar. Pollut. Bull. 48, 270–280. https://doi.org/10.1016/ j.marpolbul.2003.08.002.
- Dauvin, J.-C., 2008. Effects of heavy metal contamination on the macrobenthic fauna in estuaries: the case of the Seine estuary. Mar. Pollut. Bull. 57, 160–169. https://doi. org/10.1016/j.marpolbul.2007.10.012.
- Díez-Minguito, M., 2012. Tidal wave reflection from the closure dam in the Guadalquivir Estuary (Sw Spain). Coast. Eng. Proc. 1–8.
- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018a. Impact of dredged-material disposal on soft-bottom communities in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain. Mar. Environ. Res. 139, 64–78. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.05. 010.
- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018b. Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): a BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats. Mar. Environ. Res. 140, 455–467. https://doi.org/10.1016/j.marenvres. 2018.07.012.
- Fa, D., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asensio, I., García-Gómez, J., Finlayson, C., Sheader, M., 2003. A comparative study of the marine ecoregions of the southern Iberian Peninsula, as identified from different coastal habitats. Boletín del Inst. Español Oceanogr. 19, 135–147.
- Fredette, T.J., French, G.T., 2004. Understanding the physical and environmental consequences of dredged material disposal: history in New England and current perspectives. Mar. Pollut. Bull. 49, 93–102. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004. 01.014.
- Gamito, S., Furtado, R., 2009. Feeding diversity in macroinvertebrate communities: a contribution to estimate the ecological status in shallow waters. Ecol. Indic. 9, 1009–1019. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2008.11.012.
- George, D.A., Hill, P.S., Milligan, T.G., 2007. Flocculation, heavy metals (Cu, Pb, Zn) and the sand-mud transition on the Adriatic continental shelf, Italy. Cont. Shelf Res. 27, 475–488. https://doi.org/10.1016/j.csr.2005.06.013.
- Ghosh, S., Rabha, R., Chowdhury, M., Padhy, P.K., 2018. Source and chemical species characterization of PM10 and human health risk assessment of semi-urban, urban and industrial areas of West Bengal, India. Chemosphere 207, 626–636. https://doi.org/ 10.1016/j.chemosphere.2018.05.133.
- Glasby, T.M., Underwood, A.J., 1996. Sampling to differentiate between pulse and press perturbations. Environ. Monit. Assess 42, 241–252. https://doi.org/10.1007/ BF00414371.
- Gonzalez, R., Dias, J.M.A., 2004. Sediment dispersal patterns on the northern Gulf of Cadiz shelf: which areas are influenced by anthropogenic sand starvation? J. Coast. Res. SI 39, 446–449.
- González-Ortegón, E., Amaral, V., Baldó, F., Sánchez-Leal, R.F., Bellanco, M.J., Jiménez, M.P., Forja, J., Vilas, C., Tovar-Sanchez, A., 2018. Sources and coastal distribution of dissolved organic matter in the Gulf of Cadiz. Sci. Total Environ. 630, 1583–1595. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.293.
- González-Ortegón, E., Laiz, I., Sánchez-quiles, D., Cobelo-garcia, A., Tovar-sánchez, A., 2019. Trace metal characterization and fl uxes from the Guadiana, Tinto-Odiel and Guadalquivir estuaries to the Gulf of Cadiz. Sci. Total Environ. 650, 2454–2466. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.290.

Gray, Stuart J., Elliott, M., 2009. Ecology of Marine Sediments: From Science to Management.

Guerra, R., Pasteris, A., Ponti, M., 2009. Impacts of maintenance channel dredging in a northern Adriatic coastal lagoon. I: effects on sediment properties, contamination and toxicity. Estuar. Coast. Shelf Sci. 85, 134–142. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2009. 05.021.

- Harvey, M., Gauthier, D., Munro, J., 1998. Temporal changes in the composition and abundance of the macro-benthic invertebrate communities at dredged material disposal sites in the Anseh Beaufils, Baie des Chaleurs, Eastern Canada. Mar. Pollut. Bull. 36, 41–55. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(98)90031-5.
- Hetherington, E.D., Seminoff, J.A., Dutton, P.H., Robison, L.C., Popp, B.N., Kurle, C.M., 2018. Long-term trends in the foraging ecology and habitat use of an endangered species: an isotopic perspective. Oecologia 188, 1273–1285. https://doi.org/10. 1007/s00442-018-4279-z.
- Katsiaras, N., Simboura, N., Tsangaris, C., Hatzianestis, I., Pavlidou, a., Kapsimalis, V., 2015. Impacts of dredged-material disposal on the coastal soft-bottom macrofauna, Saronikos Gulf, Greece. Sci. Total Environ. 508, 320–330. https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2014.11.085.
- Kjelland, M.E., Woodley, C.M., Swannack, T.M., Smith, D.L., 2015. A review of the potential effects of suspended sediment on fishes: potential dredging-related physiological, behavioral, and transgenerational implications. Environ. Syst. Decis. 35, 334–350. https://doi.org/10.1007/s10669-015-9557-2.
- Long, E.R., Hong, C.B., Severn, C.G., 2001. Relationships between acute sediment toxicity in laboratory tests and abundance and diversity of benthic infauna in marine sediments: a review. Environ. Toxicol. Chem. 20, 46–60. https://doi.org/10.1002/etc. 5620200105.
- Marmin, S., Dauvin, J.-C., Lesueur, P., 2014. Collaborative approach for the management of harbour-dredged sediment in the Bay of Seine (France). Ocean Coast. Manag. 102, 328–339. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2014.10.012.
- Marmin, S., Lesueur, P., Dauvin, J.C., Samson, S., Tournier, P., Gallicher Lavanne, A., Dubrulle-Brunaud, C., Thouroude, C., 2016. An experimental study on dredge spoil of estuarine sediments in the bay of seine (France): a morphosedimentary assessment. Cont. Shelf Res. 116, 89–102. https://doi.org/10.1016/j.csr.2016.01.010.
- Martín-Díaz, M.L., Blasco, J., González De Canales, M., Sales, D., DelValls, T.Á., 2005. Bioaccumulation and toxicity of dissolved heavy metals from the Guadalquivir Estuary after the Aznalcóllar mining spill using Ruditapes philippinarum. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 48, 233–241. https://doi.org/10.1007/s00244-003-9202-9.
- Moog, O., Stubauer, I., Haimann, M., Habersack, H., Leitner, P., 2015. Effects of harbour excavating and dredged sediment disposal on the benthic invertebrate fauna of River Danube (Austria). Hydrobiologia. https://doi.org/10.1007/s10750-015-2476-x.
- Müller, G., 1979. Schwermetallen in den Redimen des rheins. Umschau 79, 778–783. Munari, C., Mistri, M., 2014. Spatio-temporal pattern of community development in dredged material used for habitat enhancement: a study case in a brackish lagoon. Mar. Pollut. Bull. 89, 340–347. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.09.039.
- Negri, A., Burns, K., Boyle, S., Brinkman, D., Webster, N., 2006. Contamination in sediments, bivalves and sponges of McMurdo Sound, Antarctica. Environ. Pollut. 143, 456–467. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.12.005.
- Nicolau, R., Galera-Cunha, A., Lucas, Y., 2006. Transfer of nutrients and labile metals from the continent to the sea by a small Mediterranean river. Chemosphere 63, 469–476. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.08.025.
- OSPAR, 2008. Literature Review on the Impacts of Dredged Sediment Disposal at Sea OSPAR Commission, Review Literature and Arts of the Americas.
- Parnell, Ed P., Groce, A.K., Stebbins, T.D., Dayton, P.K., 2008. Discriminating sources of PCB contamination in fish on the coastal shelf off San Diego, California (USA). Mar. Pollut. Bull. 56, 1992–2002. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.08.023.
- Pasquaud, S., Lobry, J., Elie, P., 2007. Facing the necessity of describing estuarine ecosystems: a review of food web ecology study techniques. Hydrobiologia 588, 159–172. https://doi.org/10.1007/s10750-007-0660-3.
- Post, D.M., 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methos, and assumptions. Ecology 83, 703–718. https://doi.org/10.2307/3071875.
- Powilleit, M., Kleine, J., Leuchs, H., 2006. Impacts of experimental dredged material disposal on a shallow, sublittoral macrofauna community in Mecklenburg Bay (western Baltic Sea). Mar. Pollut. Bull. 52, 386–396. https://doi.org/10.1016/j. marpolbul.2005.09.037.
- Quezada-Romegialli, C., Jackson, A.L., Hayden, B., Kahilainen, K.K., Lopes, C., Harrod, C., 2018. tRophicPosition, an r package for the Bayesian estimation of trophic position from consumer stable isotope ratios. Methods Ecol. Evol. 9, 1592–1599. https:// doi.org/10.1111/2041-210X.13009.
- Riba, I., DelValls, T.A., Forja, J.M., Gómez-Parra, A., 2003. Comparative toxicity of contaminated sediment from a mining spill using two amphipods species: Corophium volutator (Pallas, 1776) and Ampelisca brevicornis (A. Costa, 1853). Bull. Environ. Contam. Toxicol. https://doi.org/10.1007/s00128-003-8878-x.
- Riba, I., Casado-Martínez, C., Forja, J.M., Del Valls, A., 2004. Sediment quality in the Atlantic Coast of Spain. Environ. Toxicol. Chem. 23, 271–282. https://doi.org/10. 1897/03-146.
- Roberts, R.D., Forrest, B.M., 1999. Minimal impact from long-term dredge spoil disposal at a dispersive site in Tasman Bay, New Zealand. New Zeal. J. Mar. Freshw. Res. 33, 623–633. https://doi.org/10.1080/00288330.1999.9516905.
- Rodríguez-Romero, A., Khosrovyan, A., Del Valls, T.A., Obispo, R., Serrano, F., Conradi, M., Riba, I., 2013. Several benthic species can be used interchangeably in integrated sediment quality assessment. Ecotoxicol. Environ. Saf. 92, 281–288. https://doi.org/ 10.1016/j.ecoenv.2013.02.015.
- Rodríguez-Romero, A., Khosrovyan, A., DelValls, T.A., Riba, I., 2016. Dredged material characterization and management frameworks: a case study at the port Vilagarcia (NW, Spain). J. Hazard. Mater. 302, 129–136. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat. 2015.09.034.
- Ruiz, F., 2001. Trace metals in estuarine sediments from the southwestern Spanish coast. Mar. Pollut. Bull. 42, 482–490.
- Sainz, A., Ruiz, F., 2006. Influence of the very polluted inputs of the Tinto-Odiel system on the adjacent littoral sediments of southwestern Spain: a statistical approach.

Chemosphere 62, 1612–1622. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.06.045. Schlitzer, R., 2019. Ocean Data View.

- Simboura, N., Papathanassiou, E., Sakellariou, D., 2007. The use of a biotic index (Bentix) in assessing long-term effects of dumping coarse metalliferous waste on soft bottom benthic communities. Ecol. Indic. 7, 164–180. https://doi.org/10.1016/j.ecolind. 2005.11.006.
- Simonini, R., Ansaloni, I., Cavallini, F., Graziosi, F., Iotti, M., Massamba N'Siala, G., Mauri, M., Montanari, G., Preti, M., Prevedelli, D., 2005. Effects of long-term dumping of harbor-dredged material on macrozoobenthos at four disposal sites along the Emilia-Romagna coast (Northern Adriatic Sea, Italy). Mar. Pollut. Bull. 50, 1595–1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.031.
- Smith, S.D.A., Rule, M.J., 2001. The effects of dredge-spoil dumping on a shallow water soft-sediment community in the Solitary Islands Marine Park, NSW, Australia. Mar. Pollut. Bull. 42, 1040–1048. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00059-5.
- Souza, I.S. de, Araujo, G.S. de, Cruz, A.C.F., Fonseca, T.G., Camargo, J.B.D.A. de, Medeiros, G.F., Abessa, D.M. de S., 2015. Using and integrated approach to assess the sediment quality of an estuary from the semi-arid coast of Brazil. Mar. Pollut. Bull. 104, 70–82. https://doi.org/10.1017/CB09781107415324.004.
- Stronkhorst, J., Ariese, F., Van Hattum, B., Postma, J.F., De Kluijver, M., Den Besten, P.J., Bergman, M.J.N., Daan, R., Murk, A.J., Vethaak, A.D., 2003. Environmental impact and recovery at two dumping sites for dredged material in the North Sea. Environ. Pollut. 124, 17–31. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00430-X.
- Tomlinson, D.L., Wilson, J.G., Harris, C.R., Jeffrey, D.W., 1980. Problems in the assessment of heavy-metal levels in estuaries and the formation of a pollution index. Helgoländer Meeresuntersuchungen 33, 566–575. https://doi.org/10.1007/ BF02414780.
- Tornero, V., Hanke, G., 2016. Chemical contaminants entering the marine environment from sea-based sources: a review with a focus on European seas. Mar. Pollut. Bull. 112, 17–38. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.091.
- Tornero, V., Arias, A.M., Blasco, J., 2014. Trace element contamination in the Guadalquivir River Estuary ten years after the Aznalcóllar mine spill. Mar. Pollut. Bull. 86, 349–360. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.044.

- Trevizani, T.H., Figueira, R.C.L., Ribeiro, A.P., Theophilo, C.Y.S., Majer, A.P., Petti, M.A.V., Corbisier, T.N., Montone, R.C., 2016. Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms and sediments from Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. Mar. Pollut. Bull. 106, 366–371. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.02.056.
- Underwood, A.J., 1994. On Beyond BACI : Sampling Designs that Might Reliably Detect Environmental Disturbances Author (s): A. J. Underwood Published by : Ecological Society of America Stable URL: http://www.jstor.org/stable/1942110. on beyond baci : sampling designs that. Ecol. Appl. 4, 3–15. https://doi.org/10.2307/1942110.
- Usero, J., Morillo, J., El Bakouri, H., 2008. A general integrated ecotoxicological method for marine sediment quality assessment: application to sediments from littoral ecosystems on Southern Spain's Atlantic coast. Mar. Pollut. Bull. 56, 2027–2036. https:// doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.08.009.
- Van Dolah, R.F., Calder, D.R., Knott, D.M., 1984. Effects of dredging and open-water disposal on benthic macroinvertebrates in a South Carolina Estuary. Estuaries 7, 28–37. https://doi.org/10.2307/1351954.
- Villnäs, A., Norkko, J., Hietanen, S., Josefson, A.B., Lukkari, K., Norkko, A., 2013. he role of recurrent disturbances for ecosystem multifunctionality. Ecology 94, 2275–2287. https://doi.org/10.1890/12-1716.1.
- Vivan, J.M., Di Domenico, M., de Almeida, T.C.M., 2009. Effects of dredged material disposal on benthic macrofauna near Itajaí Harbour (Santa Catarina, South Brazil). Ecol. Eng. 35, 1435–1443. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.06.005.
- Wilber, D.H., Clarke, D.G., Rees, S.I., 2007. Responses of benthic macroinvertebrates to thin-layer disposal of dredged material in Mississippi Sound, USA. Mar. Pollut. Bull. 54, 42–52. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.08.042.
- Witt, J., Schroeder, A., Knust, R., Arntz, W.E., 2004. The impact of harbour sludge disposal on benthic macrofauna communities in the Weser estuary. Helgol. Mar. Res. 58, 117–128. https://doi.org/10.1007/s10152-004-0177-3.
- Zhang, Y., Li, S., Chen, Z., Wang, F., Chen, J., Wang, L., 2018. A systemic ecological risk assessment based on spatial distribution and source apportionment in the abandoned lead acid battery plant zone, China. J. Hazard. Mater. 354, 170–179. https://doi.org/ 10.1016/j.jhazmat.2018.04.054.

Science of the Total Environment xxx (xxxx) xxx



Contents lists available at ScienceDirect

### Science of the Total Environment



journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv

# Effects of maintenance dredging on the macrofauna of the water column in a turbid estuary

### J.M. Miró<sup>a,\*</sup>, C. Megina<sup>b</sup>, I. Donázar-Aramendía<sup>a</sup>, J.C. García-Gómez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain
<sup>b</sup> Biodiversidad y Ecología Acuática, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain

#### HIGHLIGHTS

#### GRAPHICAL ABSTRACT

- Organisms can suffer entrainment by the trailer suction, especially epibenthic ones.
- Dredger action homogenized most physiochemical variables in the water column.
- Metal concentration of Cr, Fe y Zn increased in the water column after dredging.
- Effects of this dredging were similar or less than other natural ones (e.g. freshets).

#### ARTICLE INFO

Article history: Received 5 July 2021 Received in revised form 7 October 2021 Accepted 24 October 2021 Available online xxxx

Editor: Daniel Wunderlin



#### ABSTRACT

Many human activities in or near aquatic habitats generate alterations in their environmental conditions, which could affect the organisms that inhabit them. Maintenance dredging of navigation channels in order to allow large ships access to inland ports is one such source of disturbance. In this study, by taking multiple approaches (immediate-, short- and medium term), we analysed the effects of a maintenance dredging operation on physiochemical variables and the early life stages of fish and other macrofauna groups present in two zones of the Guadalquivir estuary with different salinity ranges (poly- and mesohaline). Most physiochemical variables were homogenized in the water column immediately after the water mass passed by the dredger, including sediment resuspension. However, this process seemed to be transient as no significant increments in the depthaveraged levels of turbidity were observed in the short- and medium-terms. Instead, metal concentrations of Cr, Fe and Zn increased in the polyhaline station. Even so, these perturbations did not appear to be severe enough to influence the macrofauna. Still, organisms can suffer direct mechanical impacts of the trailer suction. Hyperbenthic species, like Pomatoshcistus spp. or decapods, tended to decrease slightly, while pelagic species such as Engraulis encrasicolus or mysids did not, indicating that benthic organisms are usually more susceptible to high entrainment. Nonetheless, the possible effects of this disturbance were of the same order or less than those of natural ones; therefore, organisms of the macrofauna could be well adapted to cope with them. © 2021 Published by Elsevier B.V.

#### 1. Introduction

Many human activities in or near aquatic habitats generate alterations in their environmental conditions, which could affect the organism that inhabit them (Halpern et al., 2008; Lotze et al., 2006). Capital

\* Corresponding author. *E-mail address:* jmmiro@us.es (J.M. Miró).

https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151304 0048-9697/© 2021 Published by Elsevier B.V.

Please cite this article as: J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía, et al., Effects of maintenance dredging on the macrofauna of the water column in a turbid estuary, Science of the Total Environment, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151304

Keywords: Dredging Macrofauna Plankton Hyperbenthos Water column Metals

#### J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

dredging of navigation channels in order to reclaim land and to allow ever larger ship access to inland waterways is one such source of disturbance. Adverse effects of dredging operations in coastal systems have generally included habitat degradation, increased turbidity and suspended sediment, tidal amplification, altered current dynamics, changes in salinity and water quality etc. (e.g. Torres et al., 2009; Wilber and Clarke, 2001; Winterwerp and Wang, 2013). On the other hand, periodic maintenance dredging operations are necessary to maintain the appropriate bottom depth of the navigable channels. These recurrent dredging activities may have serious repercussions on the coastal environment, although to a lesser extent than capital dredging, since they may also alter the bottom topography, resuspend sediments, release pollutants, modify the water column and lead to the removal of a stable substrate (Donázar-Aramendía et al., 2018; Jones et al., 2015; Rehitha et al., 2017). The container port industry has experienced phenomenal growth along the past decades since the era of containerization, where shipping currently moves over 80% of world's commodities (Tsolaki and Diamadopoulos, 2010; Yap and Lam, 2013). The growth of world trade will increase the number of ships and their capacities, which consequently require extensive dredging services in coastal areas to reach ports (Yap and Lam, 2013).

Coastal ecosystems are among the most ecologically and economically important worldwide (Barbier et al., 2011). In particular, estuaries are sites of important connectivity and intense gradients that make them highly productive ecosystems with an essential nursery function for many species (Elliott et al., 2019). At the same time, they are dynamic and complex systems where high variability of the physicalchemical gradients makes them one of the most stressful aquatic environments for aquatic fauna (González-Ortegón et al., 2010, 2015). The constant fluctuation of environmental characteristics such as temperature, turbidity, oxygen and salinity due to tidal dynamics and freshwater inputs results in singular communities inhabiting these ecosystems (Day et al., 2013). Therefore, alterations in these ecosystems that occur due to anthropic disturbances could be difficult to distinguish from natural changes (Elliott and Quintino, 2007). Achieving an accurate assessment of anthropic impacts is necessary to improve the management of coastal development while maintaining a balance with a 'good ecological status' of the coastal environment (Borja and Elliott, 2007).

Impacts on benthic communities as a consequence of dredging have been documented in numerous studies (e.g. Bemvenuti et al., 2005; Donázar-Aramendía et al., 2018; Ponti et al., 2009). However, organisms that inhabit the water column, such as plankton or fishes, remain largely unquantified. Although dredging often has more repercussions on benthic communities due to the relative immobility of organisms (Simonini et al., 2005), extensive literature has demonstrated that dredging can directly impact fishes (Kjelland et al., 2015; Wenger et al., 2017) and their associated habitats (Erftemeijer and Lewis, 2006; Jones et al., 2016). Many studies have analysed the different effects of increased suspended sediment on behaviour (Collin and Hart, 2015), predation (Ohata et al., 2011) and physiology (Au et al., 2004); other investigations observed the effect of released contaminants such as metals or hydrophobic organic pollutants (Haynes and Johnson, 2000); some of them researched the entrainment of fish in different life-history stages (Reine et al., 1998); and a few studies assessed the dredging sounds (Reine et al., 2014). Notwithstanding, most of these studies were carried out in the laboratory under controlled environments, whereas in situ investigations are very scarce. The methodology to assess the real impacts over the organisms that inhabit in the water column are usually difficult to apply in the field due to the continuous changes in multiple variables such as current dynamics, tidal conditions, the salinity gradient, mobility of the organisms etc.

Recent studies show that adult fish are more likely to undergo sublethal stress from dredging operations rather than lethality because of their ability to move away from or out of an area of higher impact to one of lower impact (Wenger et al., 2018). However, larvae and eggs are subject to lethal impacts more frequently due to their lower mobilities (Wenger et al., 2018), as are small individuals of macrozooplankton or hyperbenthos (Hoffmann and Dolmer, 2000). For this reason, early life stages of fishes or plankton could be more sensitive and may show more clearly the impacts of dredging in species that inhabit the water column.

Our in situ study aimed to determine different effects on small organisms that inhabit the water column, such as early life stages of fish, macrozooplankton and hyperbenthos species, during a maintenance dredging operation in different zones of an estuary with a horizontal salinity gradient, which is considered one of the most important coastal areas of the region for its nursery function (Miró et al., 2020). Two temporal aims were proposed: i) to analyse the immediate effects of a working trailer suction dredger on the physiochemical variables and macrofauna species present in the water column and ii) to analyse the accumulated short- and medium-term effects of a maintenance dredging operation on the physiochemical variables and main macrofauna species present in the water column of two zones with different salinity ranges.

#### 2. Material and methods

#### 2.1. Study area

The Guadalquivir estuary is located in the south-west of the Iberian Peninsula, a warm temperate region, and its waters flow into the Gulf of Cadiz (Atlantic Ocean). The estuary extends 110 km inland from its mouth. It is a well-mixed mesotidal system with a 3.5-m amplitude range (spring tides) in the river mouth (Díez-Minguito et al., 2012), which presents a longitudinal salinity gradient with temporal displacement by tides, discharges and seasonal variations (González-Ortegón et al., 2014). The morphology of the estuary is a single channel mostly isolated from surrounding natural areas, with a main navigable channel of 7.1 m average depth, which is dredged every one or two years to guarantee the navigation depth (Ruiz et al., 2015). In autumn 2017, a maintenance dredging operation was carried out in several zones of the estuary. The dredging work was performed by a trailer suction dredge. Our study was focused on two dredging zones (Fig. 1), one in the polyhaline water mass and the other in the mesohaline water mass. Approximately 19,600 and 20,500 m<sup>3</sup> of dredged material was extracted in each zone, respectively, and dredging was carried out for 15 days (18-11-2017 to 3-12-2017).

#### 2.2. Field sampling

To analyse the immediate effect on the whole water column, biological samples were collected against the main water current, before (in front of the bow) and after (behind the stern) the water mass would have passed the dredging vessel while it was working, at three different moments (Fig. 2). Samples of physiochemical variables were also collected. To analyse the short- and medium-term cumulative effects, biological and physiochemical samples were collected in three cruises before, five cruises during and three cruises after the dredging with four samples in every zone. In order to analyse the intra-seasonal trends in abundances of the main organisms found in the estuary, comparisons of a monthly monitoring sampling were performed in the same zones using the same periods of the two years prior to 2017. As this study was carried out during a monthly monitoring program in the same zones from 2015 to 2018, samples from similar periods (autumn) were used for comparison of the biological trends. No dredging operations were carried out in 2015, which was used as the natural trend, while a similar dredging operation was performed in 2016, which was used for comparison with the effects of 2017.

Biological samples were collected with a plankton net of 1 m diameter and 1 mm mesh size equipped with a General Oceanics 2030R flow meter. Oblique tows of 10 min (305  $\pm$  46 m<sup>3</sup>; mean  $\pm$  SD) were

J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.



Fig. 1. Study area of Guadalquivir estuary with dredging zones.

performed with a boat against the water current at a speed of 2–2.5 knots. Samples were fixed in 70% ethanol. The early fish stages and the rest of the macrofauna groups were sorted. Fishes were counted and, whenever possible, identified to the species level. The rest of the macrofauna were quantified as biomass per group (mysids, decapods and isopods) being blotted dry and wet-weighted with a balance (0.01 g).

Physiochemical profiles of the whole water column were recorded before every plankton tow with a multiprobe (depth, temperature, salinity, turbidity, dissolved oxygen concentration [DO], pH and chlorophyll-a concentration [Chla]; Eureka<sup>™</sup> Manta2).

Water samples were taken at mid-depth with a Niskin bottle to measure the concentrations of total suspended solids (TSS), inorganic nutrients (NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub>, SiO<sub>4</sub>) and metals (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe,

#### Science of the Total Environment xxx (xxxx) xxx

Ni, Pb, Zn). To measure TSS, water was filtered through 0.7 µm pore pre-combusted (4 h, 500 °C) filters (Whatman GF/F); thereafter, filters were dried (24 h, 60 °C) and weighed. Suspended organic (SOM) and inorganic matter (SIM) were obtained as weight loss by ignition (500 °C, 4 h). Concentrations of NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub> and SiO<sub>4</sub> were determined in filtered (0.7 µm) water samples, in a segmented flow autoanalyzer (Skalar, San<sup>Plus</sup>) based on classic spectrophotometric methods (Grasshoff et al., 2007). The accuracy was  $\pm 0.08 \ \mu\text{M}$  for nitrate,  $\pm$ 0.002  $\mu$ M for nitrite,  $\pm$ 0.03  $\mu$ M for ammonium,  $\pm$ 0.03  $\mu$ M for silicate and  $\pm 0.03 \ \mu\text{M}$  for phosphate. Analysis of metal concentrations in water samples was determined by ICP-OES (Varian ICP 720-ES) equipped with ultrasonic nebulizer CETAC U5000AT+ after filtration through Nylon filters (pore size  $= 0.45 \,\mu m$ ) and acidification with 2% HNO<sub>3</sub> (30%). Water samples acidified were stored one month before extraction. Calibration and Quality Control (QC) solutions were prepared from an ICP multi-element standard solution IV Certipur obtained from Merck and Spectrascan certified reference solution from LGC Standards GmbH (Wesel, Germany). The accuracy of the analytical methods was assessed through reference water sample (TR-434 Trace of metals in drinking water) from INTER 2000 Program (Trace Elements in EstuarineWater CRM 505 No. 048). The recoveries were 89.2-109.4% for all the metals. The differences in metal concentrations between analysed and certified values were generally <10%.

#### 2.3. Data analysis

To investigate the effects of the dredging operation on the different variables measured, generalized linear mixed models (GLMMs) were applied using 'Lme4' (Bates et al., 2015). Different experimental designs were run for every approach.

- In the immediate approach, models were applied to the most abundant (>2% of total) fish species and main macrofauna groups caught. The normal distribution was the best fit for biomass of macrofauna groups, and the Poisson distribution for count data of fish species with the log of filtered volume as an offset variable. If the model showed high overdispersion (>2), a negative binomial distribution was applied instead of the Poisson distribution. The experimental design included two factors: one fixed factor 'Moment' (with two levels, 'Before and After') and one random factor 'Cruise' (with three levels, '1, 2 and 3').
- 2) In the short- and medium-term approach, models were applied to the most abundant fish species and macrofauna groups, as well as all environmental variables measured for every zone (polyhaline and mesohaline) separately. The normal distribution was the most adequate for most of the response variables, except for counts of fish species abundances, for which we used a negative binomial



Fig. 2. Experimental design for analysis of the immediate effects in the water column before and after the water mass passed by the working dredger.

#### J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

distribution and the log of the filtered volume as an offset variable. The experimental design included two factors: one fixed factor 'Period' (with three levels, 'Before, During and After') and one random factor nested within Period 'Cruise' (within three levels Before, five levels During and three levels After). If the Period factor was significant, a post hoc pairwise comparison between levels was performed using the package 'emmeans' (Lenth, 2018).

Generalized additive models (GAMs) were fitted for depth profiles of physiochemical variables recorded with the multiprobe. As GLMMs uses a single value of every predictor variable for every value of the response variable, predicted values of GAMs were depth averaged to obtain a single value representative of the complete water column. The results for all variables were plotted by zone using the package 'ggplot2'. Analyses were performed using the R 3.5.2 software (R Core Team, 2018).

Additionally, daily mean discharge from Alcalá del Río Dam during the whole study period was observed to analyse the influence of freshwater input (data provided by Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, http://www.chguadalquivir.es/saih/DatosHistori-cos.aspx) on the environmental variables measured.

#### 3. Results

#### 3.1. Immediate effects

#### 3.1.1. Environmental analysis

Profiles of the different environmental variables recorded with the multiprobe are plotted in Fig. 3. A general pattern was found after dredging for chlorophyll, turbidity and salinity variables, which consisted of a homogenization of the whole water column with similar values at the surface to those at the bottom. Only dissolved oxygen

Science of the Total Environment xxx (xxxx) xxx

showed the inverse tendency, with higher values at the surface after dredging. The pH maintained homogeneous values at both moments, similar to those of temperature, except in cruise 1.

#### 3.1.2. Biological analysis

The fish species found were Engraulis encrasicolus (45.6%), Pomatoschistus spp. (44.9%), Aphia minuta (2.9%), Pomadasys incisus (2.3%), Solea senegalensis (2.2%), Sardina pilchardus (1.1%), Argyrosomus regius (0.5%), Anguilla anguilla (0.3%) and Gobius paganellus (0.2%). Among the rest of the macrofauna groups, mysids were the most abundant (77.9%; e.g. Rhopalophthalmus tartessicus, Mesopodopsis slabberi and Neomysis integer), followed by decapods (17.4%; e.g. Palaemon spp. and Crangon crangon) and isopods (4.6%; e.g. Synidotea laticauda and Lekanesphaera rugicauda).

Species showed different responses after the water mass passed by the dredger, although the variations between moments hindered the discovery of clear patterns (Fig. S.1). Only the mysids and *Solea senegalensis* showed significant differences, increasing in all cruises (Table 1). Also, the anchovy *Engraulis encrasicolus* tended to increase. In contrast, decapods, *Pomatoschistus* spp., *Aphia minuta* and *Pomadasys incisus* tended to decrease. Isopods maintained stable densities in front of and behind the dredge.

#### 3.2. Short- and medium-term effects

#### 3.2.1. Environmental analysis

The duration of the study was 81 days between the first and the last cruise, and different temporal patterns were observed in the different physiochemical variables. Statistically significant differences in the fixed effect 'Period' from GLMM on all variables are summarized in the plots by letter codes and extended in Table S.1.1. Daily mean freshwater input into the estuary (Fig. 4A) increased (discharges higher than 50



Fig. 3. Vertical profiles of the environmental variables (A: chlorophyll; B: turbidity; C: Dissolved oxygen; D: Temperature; E: pH; F: Salinity) before (solid line) and after (dashed line) the water mass passed by the working dredger during the three different cruises.

#### J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

#### Science of the Total Environment xxx (xxxx) xxx

#### Table 1

Results of the fixed effect "Moment" for GLMM on the main early fish species (count data) and macrofauna groups (biomass data) of the immediate approach. Level "Before" was used as the intercept to calculate estimates.

	Estimate	SE	z value	p value
Engraulis encrasicolus	0.395	0.205	1.924	0.054
Pomatoschistus spp.	-0.289	0.405	-0.714	0.475
Aphia minuta	-0.369	0.492	-0.75	0.453
Pomadasys incisus	-0.36	1.195	-0.302	0.763
Solea senegalensis	1.778	0.763	2.329	0.019
	Estimate	SE	t value	p value
Mysids	41.85	10.2	4.103	>0.001
Decapods	-10.17	23.27	-0.437	0.662
Isopodos	0.376	1.169	0.322	0.747



**Fig. 4.** Daily mean of freshwater inputs in the Guadalquivir estuary (A) and temporal values of physiochemical variables measured in the water column (turbidity [B], chlorophyll [C], temperature [D], dissolved oxygen [E], pH [F], salinity [G]) and biological (*Engraulis encrasicolus* [H], *Pomatoschistus spp*. [I], mysids [J], decapods [K], isopods [L]). Dashed lines point out the dredging period. Solid lines are smoother models with the loess method for polyhaline (Red) and mesohaline (Blue) zones. Grey shading indicates standard errors. Different letters indicate significant differences (p < 0.05) between levels of the Period factor (before, during and after) from GLMM in every zone (Red letters: polyhaline; Blue letters: mesohaline). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

#### J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

m<sup>3</sup>/s) at the end of the dredging period and thereafter. Turbidity did not show any change during dredging, while its values increased during the post-dredging period, being significant in the polyhaline zone (Fig. 4B). Chlorophyll concentration showed a decrease during the dredging period and a soft recovery thereafter (Fig. 4C). Water temperature decreased gradually from 22.5 °C to 12.5 °C, typical of the autumnwinter transition of temperate regions in the northern hemisphere, although this decline ceased during dredging (Fig. 4D). Dissolved oxygen showed the inverse trend during the study (Fig. 4E), although their values increased more during the dredging period despite the fact that temperature was stable during these dates. The pH increased in both zones during dredging, decreasing to pre-dredging values afterwards (Fig. 4F). Salinity was stable in both zones during the whole study (Fig. 4G), although it tended to decrease after dredging associated with the increment of freshwater input in this period.

TSS, directly correlated with SIM and SOM (Fig. 5A–C), showed the same pattern as turbidity, being the post-dredging period when higher concentrations were found in every zone. Still, the wide range of turbidity levels found in the mesohaline zone did not make this zone significantly different (Table S.1.2). Silicate and nitrite concentrations did not show differences (Fig. 5D–E). Nitrates showed a gradual increment in both zones, with significant differences in the polyhaline zone between all periods (Fig. 5F). Ammonium showed a similar trend, but without significant differences (Fig. 5G). Phosphates did not show any difference in the mesohaline zone, while values measured in the polyhaline zone were higher during dredging, with a partial recovery thereafter (Fig. 5H).

Similar trends between zones were found in the concentration of most metals analysed, although the mesohaline zone did not show significant differences between periods for any of them (Fig. 6 and Tables S.2.1 and S.2.2). As, Cd, Co, Cu and Pb did not show any clear patterns due to variations between replicates (Fig. 6A–D, H). Ni, despite not being significantly different between periods, showed a cumulative trend during the dredging period (Fig. 6G). Cr and Fe started to increase gradually during the dredging and continued in the post-dredging period (Fig. 6D, F). Zn showed the highest relative increment during dredging, with different trends after dredging for the polyhaline zone, in which it decreased slightly, and the mesohaline zone, in which it remained high but with oscillations (Fig. 6I).

#### Science of the Total Environment xxx (xxxx) xxx

#### 3.2.2. Biological analysis

A total of 16 fish species in early life stages were found with two dominant species that comprised more than 90% of the total abundance of the fish assemblage, the anchovy *Engraulis encrasicolus* (58.3%) and the goby *Pomatoschistus* spp. (32.8%). In relation to the rest of the macrozooplankton and hyperbenthos groups, similar species to those described in the immediate approach were found, with mysids showing the highest biomass (76.6%), followed by decapods (17.6%) and isopods (5.3%).

Temporal series of the densities of the most abundant fish species and the rest of the macrofauna are plotted by zone in Fig. 4. A general pattern was observed for most taxa, which showed a wider density variation before and during dredging cruises, as well as a temporal decrease along the whole study. Notwithstanding, distinct responses and significant differences were found between periods for every species (Table S.3). Anchovy and mysids showed similar patterns in both zones, with a marked decrease from the beginning of dredging, especially in polyhaline waters, that continued until the last cruise (Fig. 4H, I). Isopods, goby and decapods did not show differences between periods due to high intra-period variability, although different tendencies were observed (Fig. 4I, K, L). Isopod densities were too low in the polyhaline zone to detect any change along periods, while in the mesohaline zone, its biomass showed a notable descent during dredging in comparison with the last cruise of the period before; also, it showed a partial recovery in the second cruise after dredging, although it did not continue in the next one. Gobies and decapods showed a similar trend, but in opposite zones, with a decrease at the end of the dredging, which also continued in the period after dredging.

Interannual comparison (2015, 2016 and 2017) of *E. encrasicolus*, *Pomatoschistus* spp., and the rest of the macrofauna groups together (the main component was mysids) in every zone are plotted in Fig. 7. Anchovy (Fig. 7A) showed stable densities in the polyhaline zone during the whole period in 2015 and 2016, despite the dredging operation carried out in the latter year. Instead, 2017 presented higher anchovy abundances before dredging, but it decreased during the operation to similar levels as in previous years on the same dates. The densities of anchovies in the mesohaline zone showed a different trend, with a gradual decrease but with oscillations depending on the year. In fact, the natural inter-month variations found in 2015 where higher than those



**Fig. 5.** Boxplot of total suspended solids (A), suspended inorganic matter (B), suspended organic matter (C), SiO<sub>4</sub> (D), NO<sub>2</sub> (E), NO<sub>3</sub> (F), NH<sub>4</sub> (G) and PO4 (H) in every zone. Blue: before dredging; red: during dredging; green: after dredging. Different letters indicate significant differences (p < 0.05) between levels of the Period factor from GLMM in every zone. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

Science of the Total Environment xxx (xxxx) xxx



**Fig. 6.** Temporal series of metal concentrations (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn; A-I respectively) in the water column. Dashed lines point out the dredging period. Solid lines are smoother models with the loess method for polyhaline (Red) and mesohaline (Blue) zones. Different letters indicate significant differences (*p* < 0.05) between levels of the Period factor from GLMM in every zone (Red letters: polyhaline; Blue letters: mesohaline). Values lower than limit of detection were plotted as 0. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)



Fig. 7. Density of *Engraulis encrasicolus* (A) and *Pomatoschistus* spp. (B), and biomass (wet weight) of the rest of the macrofauna (C) during the dredging study (2017) and on similar dates in previous years (2015 and 2016) in every zone. Dashed lines point out the dredging periods: green color is for 2016 and blue for 2017. Solid lines are smoother models with loess method for every year. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

# <u>ARTICLE IN PRESS</u>

#### J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

observed in years with dredging. The trend of the rest of the macrofauna (Fig. 7C) was similar to that in anchovies in the polyhaline zone, and a gradual decrease was repeated for all years in the mesohaline zone. The goby (Fig. 7B) showed a distinct pattern in both zones in all years, except for the mesohaline zone in 2016, with a progressive increment at the beginning of the studied period that varied between dates, to finally decrease with different slopes.

#### 4. Discussion

Estuaries are ecosystems with wide environmental variations that make it difficult to detect anthropic stress from natural changes, unless the human impact is severe, leading to the 'Estuarine Quality Paradox' (Elliott and Quintino, 2007). In addition, the impossibility of establishing control replicates per zone, due to the absence of polyhaline or mesohaline waters without dredging in the same estuary, makes it necessary to interpret these results with caution. Notwithstanding, the immediate-, short- and medium-term design applied in this study, in addition to interannual comparisons, helped to discriminate different effects of a dredging operation in biological and physiochemical variables of the water column in a highly fluctuating estuary such as Guadalquivir.

Among the physiochemical variables, only DO and pH showed a clear influence of dredging, increasing their levels. These unexpected observations contrast with the general assumption that sediment resuspension releases chemical substances which react with DO, temporally reducing its concentration and acidifying the water (Jones-Lee and Lee, 2005). In this case, observing the stratification of DO in the immediate approach, it is possible that mechanical perturbation, such as by the ship's propeller and/or cavitation, in addition to the action of the trailer arm, could mix the water column with atmospheric air (Bowie et al., 1985), balance the chemical demand of DO and even increase its values. Nonetheless, the DO concentration never reached levels lower than 6 mg/L during the whole study at any depth in both zones, and the pH increased by only 0.1, which did not seem to have a relevant negative effect in well oxygenated waters with low temperatures, as reported by Jabusch et al. (2008).

On the other hand, DO depletion is also associated with persistent high turbidity levels, which reduce light penetration in the water column and limit photosynthetic activity (Desmit et al., 2005). Still, Guadalquivir estuary is considered a turbid system where the primary production in the water column is scarce and constrained to the surface layer (Ruiz et al., 2015). Hence, oxygen production by phytoplankton would be influenced little by a temporal increase in turbidity. Turbidity increase, directly correlated with TSS, has been widely studied as a common effect of dredging operations in coastal areas, which may affect marine biodiversity (Magris and Ban, 2019; Wenger et al., 2017), being able to cause lethal and sublethal impacts in 10% and 20% of fish species, respectively (Wenger et al., 2018). An analysis of surface satellite images showed increments of total suspended solids (1000 mg/L approx.) in plumes during a dredging operation in the upper zones of the same estuary (Caballero et al., 2018). These observations coincided with the immediate profiles recorded after the water mass passed by the working dredger, when the homogenization of the water column increased the turbidity levels on the surface. But surprisingly, we did not detect significant changes in the depth-averaged values of turbidity. The dredging operation must have necessarily increased the suspended sediment and, consequently, the turbidity, but the effect seems to be spatially very local and its persistence temporally short, and we could neither detect significant changes in the short- nor in the medium-term approaches. Nonetheless, turbidity, TSS, SIM and SOM concentration increased after dredging, which seems to be rather associated with higher freshwater inputs in this period. González-Ortegón et al. (2010) reported similar observations during other freshets in the same estuary (up to 700 NTU approx.), describing adverse effects on the estuarine food web at different levels. Increasing exposure to suspended sediment may causes damage to gill tissue and structure, as it is easier to clog the gills and reduce their efficiency in smaller fish and larvae (Au et al., 2004). The Guadalquivir estuary has been considered the most productive and important nursery area in the region in spite of being the most turbid (Miró et al., 2020). The high flows originated by tides and the high chronic turbidity in the Guadalquivir estuary (Losada et al., 2017) could have overshadowed the sediment resuspension effect caused by dredging in our sampling zones; consequently, we could not observe a clear increase nor any direct effect on the species found.

The dynamics of chlorophyll concentration appear to follow a seasonal pattern related to temperature reduction, provided that dredging did not significantly modify turbidity and, consequently, light penetration. However, higher values were observed in the latter cruises while temperature continued decreasing and turbidity increased. These observations could be explained by imports from upstream waters with higher primary production caused by rising freshwater inputs (González-Ortegón and Drake, 2012) and/or a higher resuspension of microphytobenthos from riversides (Díez-Minguito and de Swart, 2020; Miró et al., 2020). Also, nutrients such as nitrate and ammonium, which presented similar tendencies to those of chlorophyll, could be imported due to sewage effluents and nitrification processes from upstream waters close to urban and agricultural areas (Mendiguchía et al., 2007). Different stages of ammonium could be found depending on pH levels, with a higher un-ionized (ammonia [NH<sub>3</sub>]) proportion associated with high pH, which has been considered toxic to fishes (Brinkman et al., 2009). In our case, the changes of pH observed during the dredging could increase the NH<sub>3</sub> proportion by around 0.1-0.2% (poly- and mesohaline zones respectively), which translates to a total concentration of 0.1 µM NH<sub>3</sub> during that period. Therefore, un-ionized ammonia showed levels far below the toxic reference value of 1.16 µM NH<sub>3</sub> (Eddy, 2005). The concentration of phosphate, whose increment is usually attributed to fertilizers via river flow (Mainstone and Parr, 2002), showed changes during dredging in polyhaline waters, although the concentrations reached were lower than the levels found in the mesohaline zone. Globally, we could not clearly assign an increase in inorganic nutrients due to dredging operations.

In contrast, dredging has been primarily related to remobilized metals associated with sediment particles in the water column, which change its environmental conditions and promotes the shift of metals from the particulate in the dissolved state (Van Den Berg et al., 2001; Chen et al., 2020). This phenomenon was even more noticeable in the Guadalquivir estuary given that it received a toxic spill from the Aznalcóllar mine in 1998 (Riba et al., 2002); although 10 years afterwards, studies showed that a decline in the metal contamination in the area was evident (Tornero et al., 2011, 2014). It is known that oxidation of sulphides liberates different heavy metals because the precipitates are degraded (Caille et al., 2003). This phenomenon could be observed in our case for Cr, Fe, Ni and Zn, with a cumulative trend during dredging. However, the oxidation of Fe also causes precipitation of iron-(oxo)hydroxides (Dang et al., 2020), which could form a very strong adsorptive layer on the surface of the new dredged bottom and decrease the release of metals (Goossens and Zwolsman, 1996). On the other hand, a previous study in the Guadalquivir estuary of heavy metal concentrations in the sediment of the same zones observed an increment of As, Co and Ni after dredging operations, especially in the polyhaline site (Donázar-Aramendía et al., 2018). In our water samples, greater effects were found in the same zone, where slight differences could be due to the salinity of the water, the oxidation-reduction potential of the sediment and the pH of the sediment pore water and overlying water on site (Eggleton and Thomas, 2004; Roberts, 2012).

The concentration of dissolved metal provided could be overestimated here with regard to other studies that use filters with smaller pore size (for instance, 0.22 µm; González-Ortegón et al., 2019), due to the higher presence of colloids. Consequently, the

#### J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

precision to detect smaller variations in metal concentrations of the dissolved phase could be lower. Still, maximum values recorded in the field were lower than the minimal concentration used in controlled laboratory experiments to test for lethal effects of trace metals in the early life stages of fishes (Jezierska et al., 2009). Experiments in crustacea also show that the ranges measured usually do not cause significant effects on individuals (Fetters et al., 2016; Lavolpe et al., 2004; Martin and Holdich, 1986). Thus, the metal uptake for fish and the rest of the macrofauna present in both zones is expected to be low in this study. In addition to the effect of dredging, the daily tidal currents (Jonas and Millward, 2010), wind energies or storms (Birch and O'Hea, 2007) in estuarine systems can cause periodical remobilization of surface sediments, releasing metals naturally. The higher freshwater inputs observed after dredging, and the associated increment in TSS, could also help to maintain the increased values of some metals. On the other hand, some metals can be released and/or re-absorbed more readily than others (Maddock et al., 2007). Faster release and re-absorption could be occurring for Ni and Cr, which increased guickly only during dredging, and slower release and re-absorption for Zn and Fe, which reached higher levels after dredging. Also, fine sediments could remain longer in suspension and consequently liberate more metals after dredging (Maddock et al., 2007). The Guadalquivir estuary has shown high persistent turbidity events in wet years (González-Ortegón et al., 2010) and is considered one of the estuaries in the region with higher metal fluxes (González-Ortegón et al., 2019) due to urban and agriculture supports (Mendiguchía et al., 2007). As organisms take up and accumulate trace metals during their whole life cycle, there is the potential for toxic effects over time (Rainbow, 2007), special attention should be paid to metal release after higher bottom disturbance situations such as longer dredging periods or torrential freshets. Still, this is more likely to be a concern with longer-living estuarine organisms, such as adult resident fishes, than with short-lived ones, as most species included in this study.

Physiochemical alterations caused by dredging operations appear to be minor in comparison with the natural changes observed; however, other possible effects have been observed in planktonic organisms. The limited swimming capacity of small individuals could make it impossible for them to avoid the water mass affected by dredging. Therefore, the main and direct cause that could decrease plankton densities after the water mass passes by the working dredger is hydraulic entrainment, which leads to their death from the mechanical action of the suction arm (Reine and Clarke, 1998).

Different tendencies were found for hyperbenthic and pelagic species in the immediate approach. Hyperbenthic species, like Pomatoshcistus spp. or decapods, tended to decrease, probably due to the direct impact of physical removal of bottom sediments inhabited by hyperbenthic organisms (Hoffmann and Dolmer, 2000). In fact, a previous study showed that Pomatoschistus spp. is prone to a high entrainment by a trailer suction with estimated rates between 0.0018 and 0.009 ind./m<sup>3</sup> (Drabble, 2012a). Also, Armstrong et al. (1982) reported that sand shrimp (Crangon sp.) showed the highest rates of entrainment by dredges in Pacific northwest estuaries, with a range between 0.08 and 4.44 ind./m<sup>3</sup>, and estimated a population decrease during a dredging project of around 1.2%–6.5%. In contrast, pelagic species like E. encrasicolus, S. pilchardus, P. incisus or mysids tended to maintain stable densities, or even to increase in density in some cases. Their behaviour of inhabiting the water column could minimize the entrainment risk. Most studies report demersal organisms entrained (Barletta et al., 2016; Reine and Clarke, 1998); however, adult stages of pelagic species have been collected as well, including anchovy (0.001 ind./ m<sup>3</sup>), herring (0.01 ind./m<sup>3</sup>) and smelt (0.01 ind./m<sup>3</sup>) (Armstrong et al., 1982). In fish larvae, some authors estimated the entrainment of striped bass (Morone saxatilis), herring (Alosa spp.) and white perch (Morone americana), involving the simultaneous operation of four hydraulic dredges in the Delaware River, and concluded that less than 1% of the total larval population would be entrained by the dredges (Burton et al., 1992). In our case, the lack of a significant difference obtained for any species with this approach suggests that entrainment caused a low incident over hyperbenthic species and no effects on pelagic ones.

On the other hand, the pelagic species exhibited different trends between immediate and short-medium approaches. A high decrease in density was found just after the beginning of dredging in E. encrasicolus and mysids in the polyhaline zone, suggesting that this disturbance could affect these species. However, interannual comparisons found that their densities can fluctuate similarly without dredging (anchovy in the mesohaline zone of 2015) or long after the dredging activity (macrofauna in the polyhaline zone of 2016). Also, these organisms showed low and stable values (anchovy in the polyhaline zone of 2015-16) or decreased gradually (anchovy and macrofauna in the mesohaline zone of 2015-16) along this season, in years either with or without dredging operations. The goby showed different trends, notably, decreasing in density in the mesohaline zone of 2015, when there was no dredging operation, and even increasing in the polyhaline zone during and after dredging in 2016. These patterns make it difficult to elucidate whether these changes correspond to the natural variability and reduction typical of this period (Drake et al., 2002) or whether they are an impact of dredging. A multi-year-long monitoring study conducted in the Eastern English Channel (UK), which is dredged annually, observed a temporal and gradual reduction in several species, including Pomatoschistus spp. (Drabble, 2012b). In our case, no clear differences were found between the seasonal densities of previous years. Some of these species are present across the whole estuary section, with higher densities in the shallower banks of the Guadalquivir estuary (unpublished data). Further, most species found were marine migrants, such as E. encrasicolus, S. pilchardus, S. senegalensis etc., which locate their spawning zones offshore (Baldó et al., 2006). These behaviours could minimize the mechanical impact of dredging, which was carried out in the estuary and only in the middle channel, constraining the impact on nursery function.

In summary, the observed modifications of water physiochemical variables in comparison with natural changes such as freshets, the nonsignificant differences found in the immediate approach and the similar temporal fluctuations of density as in previous years with or without dredging suggest that this dredging operation did not cause a severe impact on the Guadalquivir estuary. Still, this does not mean that there is no effect. This ecosystem showed high natural fluctuations, which precluded a clear association of the observed variations with the dredging effects, leading to the 'Estuarine Quality Paradox' (Elliott and Quintino, 2007). Nonetheless, as the possible effects of this disturbance were of the same order or less than those of natural ones, planktonic organisms could be well adapted to cope with them. Still, polyhaline water mass showed more notorious effects than mesohaline waters. In addition, the dredging operation was undertaken during the natural decline period of recruitment, which could minimize the effects over nursery function. However, dredging activity during the main recruitment period and larval development (March to November in the case of Guadalquivir estuary [Drake et al., 2002, 2007]), could directly constrain the larval supply by contributing to higher mortality rates among larvae or lowering recruitment success (Wenger et al., 2017). The evidence found here and the changes detected make it advisable to implement systematic monitoring programs in any dredging project. The accumulated experience and the use of new approaches may allow the nature of the effect of these operations to be more clearly defined, allowing the design of specific control strategies to mitigate impacts, as well as a thorough evaluation of the effectiveness of these strategies (Wenger et al., 2018), thus promoting sustainable fishery management.

#### **CRediT** authorship contribution statement

**J.M. Miró:** Conceptualization, Methodology, Software, Validation, Formal analysis, Investigation, Data curation, Writing – original draft.

#### J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

**C. Megina:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Investigation, Writing – review & editing, Project administration. **I. Donázar-Aramendía:** Methodology, Resources, Writing – review & editing. **J.C. García-Gómez:** Supervision, Funding acquisition, Writing – review & editing.

#### **Declaration of competing interest**

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Acknowledgements

We thank Autoridad Portuaria de Sevilla and Acuario de Sevilla for financial and logistical support. This work was partially supported by the Plan Propio Universidad de Sevilla via two pre-doctoral grants (I. Donázar-Aramendía, J.M. Miró). We thank all the members of the LBM who participate in field surveys and in samples processing.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151304.

#### References

- Armstrong, D.A., Stevens, B.G., Hoeman, J., 1982. Distribution and abundance of Dungeness crab and Crangon shrimp, and dredged-related mortality of invertebrates and fish in Grays Harbor, Washington. Tech. Report. Sch. Fish. Univ. Washington, Washingt. Dep. Fish. U.S. Army Eng. Dist. Seattle.
- Au, D.W.T., Pollino, C.A., Wu, R.S.S., Shin, P.K.S., Lau, S.T.F., Tang, J.Y.M., 2004. Chronic effects of suspended solids on gill structure, osmoregulation, growth, and triiodothyronine in juvenile green grouper Epinephelus coioides. Mar. Ecol. Prog. Ser. 266, 255–264. https://doi.org/10.3354/meps266255.
- Baldó, F., García-Isarch, E., Jiménez, M.P., Romero, Z., Sánchez-Lamadrid, A., Catalán, I.A., 2006. Spatial and temporal distribution of the early life stages of three commercial fish species in the northeastern shelf of the Gulf of Cádiz. Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 53, 1391–1401. https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.04.004.
- Barbier, E.B., Hacker, S.D., Kennedy, C., Koch, E.W., Stier, A.C., Silliman, B.R., 2011. The value of estuarine and coastal ecosystem services. Ecol. Monogr. 81, 169–193. https://doi.org/10.1890/10-1510.1.
- Barletta, M., Cysneiros, F.J.A., Lima, A.R.A., 2016. Effects of dredging operations on the demersal fish fauna of a south american tropical-subtropical transition estuary. J. Fish Biol. 1–31. https://doi.org/10.1111/jfb.12999.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., Walker, S., 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. J. Stat. Softw. 67, 1–48. https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01.
- Bernvenuti, C.E., Angonesi, L.G., Gandra, M.S., 2005. Effects of dredging operations on soft bottom macrofauna in a harbor in the Patos lagoon estuarine region of southern Brazil. Braz. J. Biol. 65, 573–581. https://doi.org/10.1590/s1519-69842005000400003.
- Birch, G., O'Hea, L, 2007. The chemistry of suspended particulate material in a highly contaminated embayment of port Jackson (Australia) under quiescent, high-wind and heavy-rainfall conditions. Environ. Geol. 53, 501–516. https://doi.org/10.1007/ s00254-007-0662-5.
- Borja, A., Elliott, M., 2007. What does "good ecological potential" mean, within the european water framework Directive? Mar. Pollut. Bull. 54, 1559–1564. https://doi.org/ 10.1016/j.marpolbul.2007.09.002.
- Bowie, G.L., Mills, W.B., Porcella, D.B., Campbell, C.L., Pagenkopf, J.R., Rupp, G.L., Jhonson, K.M., Chan, P.W., Gherini, S.A., 1985. Rates, Constants, and Kinetics Formulations in Surface Water Quality Modeling. EPA/600/3-85/040 June 455 pp.
- Brinkman, S.F., Woodling, J.D., Vajda, A.M., Norris, D.O., 2009. Chronic toxicity of ammonia to early life stage rainbow trout. Trans. Am. Fish. Soc. 138, 433–440. https://doi.org/ 10.1577/t07-224.1.
- Burton, W., Weisberg, S., Jacobson, P., 1992. Rep. Submitt. to Delaware Basin Fish Wildl. Manag. Coop. Trenton, NJ. Entrainment effects of maintenance hydraulic dredging in the Delaware River Estuary on Striped Bass Ichthyoplankton.
- Caballero, I., Navarro, G., Ruiz, J., 2018. Multi-platform assessment of turbidity plumes during dredging operations in a major estuarine system. Int. J. Appl. Earth Obs. Geoinf. 68, 31–41. https://doi.org/10.1016/j.jag.2018.01.014.
- Caille, N., Tiffreau, C., Leyval, C., Morel, J.L., 2003. Solubility of metals in an anoxic sediment during prolonged aeration. Sci. Total Environ. 301, 239–250. https://doi.org/10.1016/ S0048-9697(02)00289-9.
- Chen, C., Kong, M., Wang, Y.Y., Shen, Q.S., Zhong, J.C., Fan, C.X., 2020. Dredging method effects on sediment resuspension and nutrient release across the sediment-water interface in Lake taihuChina. 27, 25861–25869. https://doi.org/10.1007/s11356-019-06192-w.

#### Science of the Total Environment xxx (xxxx) xxx

- Collin, S.P., Hart, N.S., 2015. Vision and photoentrainment in fishes: the effects of natural and anthropogenic perturbation. Integr. Zool. 10, 15–28. https://doi.org/10.1111/ 1749-4877.12093.
- Dang, D.H., Layglon, N., Ferretto, N., Omanović, D., Mullot, J.U., Lenoble, V., Mounier, S., Garnier, C., 2020. Kinetic processes of copper and lead remobilization during sediment resuspension of marine polluted sediments. Sci. Total Environ. 698. https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134120.
- Day, J.W., Hall, C.A.S., Kemp, W.M., Yanez-Arancibia, A., 2013. Estuarine ecology. Estuar. Ecol. https://doi.org/10.2307/2937399.
- Desmit, X., Vanderborght, J.P., Regnier, P., Wollast, R., 2005. Control of phytoplankton production by physical forcing in a strongly tidal, well-mixed estuary. Biogeosciences 2, 205–218. https://doi.org/10.5194/bg-2-205-2005.
- Díez-Minguito, M., de Swart, H.E., 2020. Relationships between chlorophyll-a and suspended sediment concentration in a high-nutrient load estuary: an observational and idealized modeling approach. J. Geophys. Res. Ocean. 125, no. https://doi.org/10. 1029/2019JC015188.
- Díez-Minguito, M., Baquerizo, A., Ortega-Sánchez, M., Navarro, G., Losada, M.A., 2012. Tide transformation in the Guadalquivir estuary (SW Spain) and process-based zonation. J. Geophys. Res. Ocean. 117, 1–14. https://doi.org/10.1029/2011JC007344.
- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018. Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): a BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats. Mar. Environ. Res. 140, 455–467. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012.
- Drabble, R., 2012a. Projected entrainment of fish resulting from aggregate dredging. Mar. Pollut. Bull. 64, 373–381. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.10.033.
- Drabble, R., 2012b. Monitoring of East Channel dredge areas benthic fish population and its implications. Mar. Pollut. Bull. 64, 363–372. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul. 2011.10.035.
- Drake, P., Arias, A.M., Baldó, F., Cuesta, J.A., 2002. Spatial and temporal variation of the nekton and hyperbenthos from a temperate European estuary with regulated freshwater inflow. Estuaries 25, 451–468. https://doi.org/10.1007/BF02695987.
- Drake, P., Borlán, A., González-Ortegón, E., Baldó, F., Vilas, C., Fernández-Delgado, C., 2007. Spatio-temporal distribution of early life stages of the european anchovy Engraulis encrasicolus L. Within a european temperate estuary with regulated freshwater inflow: effects of environmental variables. J. Fish Biol. 70, 1689–1709. https://doi.org/ 10.1111/j.1095-8649.2007.01433.x.
- Eddy, F.B., 2005. Ammonia in estuaries and effects on fish. J. Fish Biol. 67, 1495–1513. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2005.00930.x.
- Eggleton, J., Thomas, K.V., 2004. A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. Environ. Int. 30, 973–980. https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.03.001.
- Elliott, M., Quintino, V., 2007. The estuarine quality paradox, environmental homeostasis and the difficulty of detecting anthropogenic stress in naturally stressed areas. Mar. Pollut. Bull. 54, 640–645. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.02.003.
- Elliott, M., Day, J.W., Ramachandran, R., Wolanski, E., 2019. A synthesis: what is the future for coasts, estuaries, deltas and other transitional habitats in 2050 and beyond? In: Wolanski, E., John, W., Michael, E., Ramesh, R. (Eds.), Coasts and Estuaries. The Future. Elsevier Inc., p. 729 https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814003-1.00001-0
- Erftemeijer, P.L.A., Lewis, R.R., 2006. Environmental impacts of dredging on seagrasses: a review. Mar. Pollut. Bull. 52, 1553–1572. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006. 09.006.
- Fetters, K.J., Costello, D.M., Hammerschmidt, C.R., Burton, G.A., 2016. Toxicological effects of short-term resuspension of metal-contaminated freshwater and marine sediments. Environ. Toxicol. Chem. 35, 676–686. https://doi.org/10.1002/etc.3225.
- González-Ortegón, E., Drake, P., 2012. Effects of freshwater inputs on the lower trophic levels of a temperate estuary: physical, physiological or trophic forcing? Aquat. Sci. 74, 455–469. https://doi.org/10.1007/s00027-011-0240-5.
- González-Ortegón, E., Subida, M.D., Cuesta, J.A., Arias, A.M., Fernández-Delgado, C., Drake, P., 2010. The impact of extreme turbidity events on the nursery function of a temperate european estuary with regulated freshwater inflow. Estuar. Coast. Shelf Sci. 87, 311–324. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2010.01.013.
- González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A., Cuesta, J.A., Fernández-Delgado, C., Vilas, C., Drake, P., 2014. Freshwater scarcity effects on the aquatic macrofauna of a European Mediterranean-climate estuary. Sci. Total Environ. 9, 503–504. https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.020.
- González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A., Cuesta, J.A., Fernández-Delgado, C., Vilas, C., Drake, P., 2015. Freshwater scarcity effects on the aquatic macrofauna of a European Mediterranean-climate estuary. Sci. Total Environ. 9, 503–504. https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.020.
- González-Ortegón, E., Laiz, I., Sánchez-Quiles, D., Cobelo-Garcia, A., Tovar-Sánchez, A., 2019. Trace metal characterization and fluxes from the guadiana, tinto-odiel and Guadalquivir estuaries to the Gulf of Cadiz. Sci. Total Environ. 650, 2454–2466. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.290.
- Goossens, H., Zwolsman, J.J.C., 1996. An evaluation of the behaviour of pollutants during dredging activities. Terra Aqua 62, 20–28.
- Grasshoff, K., Kremling, K., Ehrhardt, M., 2007. Methods of Seawater Analysis. Third, Completely Revised and Extended edition. https://doi.org/10.1002/9783527613984.
- Halpern, B.S., Walbridge, S., Selkoe, K.A., Kappel, C.V., Micheli, F., D'Agrosa, C., Bruno, J.F., Casey, K.S., Ebert, C., Fox, H.E., Fujita, R., Heinemann, D., Lenihan, H.S., Madin, E.M.P., Perry, M.T., Selig, E.R., Spalding, M., Steneck, R., Watson, R., 2008. A global map of human impact on marine ecosystems. Science 319, 948–952. https://doi.org/10. 1126/science.1149345 80.
- Haynes, D., Johnson, J.E., 2000. Organochlorine, heavy metal and polyaromatic hydrocarbon pollutant concentrations in the great barrier reef (Australia) environment: a review. Mar. Pollut. Bull. 41, 267–278. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00134-X.

#### J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

- Hoffmann, E., Dolmer, P., 2000. Effect of closed areas on distribution of fish and epibenthos. ICES J. Mar. Sci. 57, 1310–1314. https://doi.org/10.1006/jmsc.2000.0921.
- Jabusch, T., Melwani, A., Ridolfi, K., Connor, M., 2008. Effects of Short-term Water Quality Impacts Due to Dredging and Disposal on Sensitive Fish Species in San Francisco Bay. San Fr. Estuary Inst. US Army Corps Eng. San Fr. Dist. Thomas.
- Jezierska, B., Ługowska, K., Witeska, M., 2009. The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). Fish Physiol. Biochem. 35, 625–640. https://doi.org/ 10.1007/s10695-008-9284-4.
- Jonas, P.J.C., Millward, G.E., 2010. Metals and nutrients in the Severn estuary and Bristol Channel: contemporary inputs and distributions. Mar. Pollut. Bull. 61, 52–67. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.12.013.
- Jones, R., Fisher, R., Stark, C., Ridd, P., 2015. Temporal patterns in seawater quality from dredging in tropical environments. PLoS One 10. https://doi.org/10.1371/journal. pone.0137112.
- Jones, R., Bessell-Browne, P., Fisher, R., Klonowski, W., Slivkoff, M., 2016. Assessing the impacts of sediments from dredging on corals. Mar. Pollut. Bull. 102, 9–29. https://doi. org/10.1016/j.marpolbul.2015.10.049.
- Jones-Lee, A., Lee, G.F., 2005. Water quality aspects of dredged sediment management. Water Encycl https://doi.org/10.1002/047147844x.wq1507.
- Kjelland, M.E., Woodley, C.M., Swannack, T.M., Smith, D.L., 2015. A review of the potential effects of suspended sediment on fishes: potential dredging-related physiological, behavioral, and transgenerational implications. Environ. Syst. Dec. 35, 334–350. https:// doi.org/10.1007/s10669-015-9557-2.
- Lavolpe, M., López Greco, L., Kesselman, D., Rodríguez, E., 2004. Differential toxicity of copper, zinc, and lead during the embryonic development of chasmagnathus granulatus (Brachyura, varunidae). Environ. Toxicol. Chem. 23, 960–967. https:// doi.org/10.1897/02-645.

Lenth, R., 2018. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means.

- Losada, M.A., Diez-Minguito, M., Reyes-Merlo, M.A., 2017. Tidal-fluvial interaction in the Guadalquivir River estuary: spatial and frequency-dependent response of currents and water levels. J. Geophys. Res. Ocean. 122, 847–865. https://doi.org/10.1002/ 2016JC012264.Received.
- Lotze, H.K., Lenihan, H.S., Bourque, B.J., Bradbury, R.H., Cooke, R.G., Kay, M.C., Kidwell, S.M., Kirby, M.X., Peterson, C.H., Jackson, J.B.C., 2006. Depletion degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas. 10.1126/science.1128035Science 80 (312), 1806–1809. https://doi.org/10.1126/science.1128035.
- Maddock, J.E.L., Carvalho, M.F., Santelli, R.E., Machado, W., 2007. Contaminant metal behaviour during re-suspension of sulphidic estuarine sediments. Water Air Soil Pollut. 181, 193–200. https://doi.org/10.1007/s11270-006-9290-z.
- Magris, R.A., Ban, N.C., 2019. A meta-analysis reveals global patterns of sediment effects on marine biodiversity. Glob. Ecol. Biogeogr. 28, 1879–1898. https://doi.org/10. 1111/geb.12990.
- Mainstone, C.P., Parr, W., 2002. Phosphorus in rivers ecology and management. Sci. Total Environ. 282–283, 25–47. https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00937-8.
- Martin, T.R., Holdich, D.M., 1986. The acute lethal toxicity of heavy metals to peracarid crustaceans (with particular reference to fresh-water asellids and gammarids). Water Res. 20, 1137–1147. https://doi.org/10.1016/0043-1354(86)90060-6.
- Mendiguchía, C., Moreno, C., García, M., 2007. Evaluation of natural and anthropogenic influences on the Guadalquivir River (Spain) by dissolved heavy metals and nutrients. Chemosphere 69, 1509–1517. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.082.
- Miró, J.M., Megina, C., Donázar-Aramendía, Í., Reyes-Martínez, M.J., Sánchez-Moyano, E., García-Gómez, J.C., 2020. Environmental factors affecting the nursery function for fish in the main estuaries of the Gulf of Cadiz (south-West Iberian Peninsula). Sci. Total Environ. 737, 139614. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139614.
- Ohata, R., Masuda, R., Ueno, M., Fukunishi, Y., Yamashita, Y., 2011. Effects of turbidity on survival of larval ayu and red sea bream exposed to predation by jack mackerel and moon jellyfish. Fish. Sci. 77, 207–215. https://doi.org/10.1007/s12562-010-0320-9.
- Ponti, M., Pasteris, A., Guerra, R., Abbiati, M., 2009. Impacts of maintenance channel dredging in a northern adriatic coastal lagoon. II: effects on macrobenthic assemblages in channels and ponds. Estuar. Coast. Shelf Sci. 85, 143–150. https://doi.org/ 10.1016/j.ecss.2009.06.027.
- Rainbow, P.S., 2007. Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. Environ. Int. 33, 576–582. https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.007.

#### Science of the Total Environment xxx (xxxx) xxx

- Rehitha, T.V., Ullas, N., Vineetha, G., Benny, P.Y., Madhu, N.V., Revichandran, C., 2017. Impact of maintenance dredging on macrobenthic community structure of a tropical estuary. Ocean Coast. Manag. 144, 71–82. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2017.04. 020.
- Reine, K., Clarke, D., 1998. Entrainment by hydraulic dredges a review of potential impacts. DOER Tech. Note Collect. 1–14.
- Reine, K.J., Dickerson, D.D., Clarke, D.G., 1998. Environmental win- dows associated with dredging operations. U.S. Army Corps Eng. Eng. Res. Dev. Center, Vicksburg, MS, Tech. Note DOER-E1, pp. 1–14.
- Reine, K.J., Clarke, D., Dickerson, C., 2014. Characterization of underwater sounds produced by hydraulic and mechanical dredging operations. J. Acoust. Soc. Am. 135, 3280–3294. https://doi.org/10.1121/1.4875712.
- Riba, I., DelValls, T.A., Forja, J.M., Gómez-Parra, A., 2002. Influence of the Aznalcóllar mining spill on the vertical distribution of heavy metals in sediments from the Guadalquivir estuary (SW Spain). Mar. Pollut. Bull. 44, 39–47. https://doi.org/10.1016/ S0025-326X(01)00171-0.
- Roberts, D.A., 2012. Causes and ecological effects of resuspended contaminated sediments (RCS) in marine environments. Environ. Int. 40, 230–243. https://doi.org/10.1016/j. envint.2011.11.013.
- Ruiz, J., Polo, M.J., Díez-Minguito, M., Navarro, G., Morris, E.P., Huertas, E., Caballero, I., Contreras, E., Losada, M.A., 2015. The Guadalquivir estuary: a hot spot for environmental and human conflicts. Environmental Management and Governance. Coastal Research Library, pp. 199–232 https://doi.org/10.1007/978-3-319-06305-8.
- Simonini, R., Ansaloni, I., Cavallini, F., Graziosi, F., Iotti, M., Massamba N'Siala, G., Mauri, M., Montanari, G., Preti, M., Prevedelli, D., 2005. Effects of long-term dumping of harbordredged material on macrozoobenthos at four disposal sites along the Emilia-Romagna coast (Northern Adriatic Sea, Italy). Mar. Pollut. Bull. 50, 1595–1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.031.
- R Core Team, 2018. A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. https://www.R-project.org/.
- Tornero, V., Arias, A.M., Blasco, J., 2011. Following the Aznalcóllar toxic spill. Environ. Res. 111, 1033–1036. https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.07.011.
- Tornero, V., Arias, A.M., Blasco, J., 2014. Trace element contamination in the Guadalquivir River estuary ten years after the Aznalcóllar mine spill. Mar. Pollut. Bull. 86, 349–360. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.044.
- Torres, R.J., Abessa, D.M.S., Santos, F.C., Maranho, L.A., Davanso, M.B., do Nascimento, M.R.L., Mozeto, A.A., 2009. Effects of dredging operations on sediment quality: Contaminant mobilization in dredged sediments from the Port of Santos, SP, Brazil. J. Soils Sediments 9, 420–432. https://doi.org/10.1007/s11368-009-0121-x.
- Tsolaki, E., Diamadopoulos, E., 2010. Technologies for ballast water treatment: a review. J. Chem. Technol. Biotechnol. 85, 19–32. https://doi.org/10.1002/jctb.2276.
- Van Den Berg, G.A., Meijers, G.G.A., Van Der Heijdt, L.M., Zwolsman, J.J.G., 2001. Dredgingrelated mobilisation of trace metals: a case study in the Netherlands. Water Res. 35, 1979–1986. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00452-8.
- Wenger, A.S., Harvey, E., Wilson, S., Rawson, C., Newman, S.J., Clarke, D., Saunders, B.J., Browne, N., Travers, M.J., Mcilwain, J.L., Erftemeijer, P.L.A., Hobbs, J.P.A., Mclean, D., Depczynski, M., Evans, R.D., 2017. A critical analysis of the direct effects of dredging on fish. Fish Fish. 1–19. https://doi.org/10.1111/faf.12218.
- Wenger, A.S., Rawson, C.A., Wilson, S., Newman, S.J., Travers, M.J., Atkinson, S., Browne, N., Clarke, D., Depczynski, M., Erftemeijer, P.L.A., Evans, R.D., Hobbs, J.P.A., McIlwain, J.L., McLean, D.L., Saunders, B.J., Harvey, E., 2018. Management strategies to minimize the dredging impacts of coastal development on fish and fisheries. Conserv. Lett. 11, 1–10. https://doi.org/10.1111/conl.12572.
- Wilber, D.H., Clarke, D.G., 2001. Biological effects of suspended sediments: a review of suspended sediment impacts on fish and shellfish with relation to dredging activities in estuaries. North Am. J. Fish. Manag. 21, 855–875. https://doi.org/10.1577/1548-8675(2001)021<0855:beossa>2.0.co;2.
- Winterwerp, J.C., Wang, Z.B., 2013. Man-induced regime shifts in small estuaries I: theory. Ocean Dyn. 63, 1279–1292. https://doi.org/10.1007/s10236-013-0662-9.
- Yap, W.Y., Lam, J.S.L., 2013. 80 million-twenty-foot-equivalent-unit container port? Sustainability issues in port and coastal development. Ocean Coast. Manag. 71, 13–25. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2012.10.011.

Ciencia del Medio Ambiente Total 806 (2022) 151304

Listas de contenidos disponibles enCienciaDirecta





### Ciencia del Medio Ambiente Total

revista Página de inicio:www.elsevier.com/localize/sci totenv

### Efectos del dragado de mantenimiento sobre la macrofauna de la columna de agua en un estuario turbio



#### JM Miroa,\*, C. Meginab, I. Donázar-Aramendíaa, JC García-Gómeza

aLaboratorio de Biología Marina, Acuario de Sevilla I+D+I Área de Investigación Biológica, Departamento de Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, España Biolóliversidad y Ecología Acuática, Acuario de Sevilla I+D+I Área de Investigaciones Biológicas, Departamento de Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Sevilla, España

#### DESTACAR

#### GRÁFICAMENTE ABSTRACTO

- Los organismos pueden sufrir arrastre por la succión del remolque, especialmente los epibentónicos.
- La acción de la draga homogeneizó la mayoría de las variables fisicoquímicas en la columna de agua.
- La concentración de metales de Cr, Fe y Zn aumentó en la columna de agua después del dragado.
- Los efectos de este dragado fueron similares o menores que otros naturales (por ejemplo, riadas).

#### información del artículo

Historial del artículo: Recibido el 5 de julio de 2021 Recibido en forma revisada el 7 de octubre de 2021 Aceptado el 24 de octubre de 2021 Disponible en línea el 29 de octubre de 2021

Montaje: Daniel Wunderlin

Palabras clave: Dragado macrofauna Plancton hiperbentos Columna de agua Rieles

#### resumen

Muchas actividades humanas en o cerca de los hábitats acuáticos generan alteraciones en sus condiciones ambientales, lo que podría afectar a los organismos que los habitan. El dragado de mantenimiento de los canales de navegación para permitir el acceso de grandes barcos a los puertos interiores es una de esas fuentes de perturbación. En este estudio analizamos desde múltiples enfoques (inmediato, corto y medio plazo) los efectos de una operación de dragado de mantenimiento sobre variables fisicoquímicas y estadios tempranos de vida de peces y otros grupos de macrofauna presentes en dos zonas de la ría del Guadalquivir. con diferentes rangos de salinidad (poli y mesohalina). La mayoría de las variables fisicoquímicas se homogeneizaron en la columna de agua inmediatamente después de que la masa de agua pasara por la draga, incluida la resuspensión de sedimentos. Sin embargo, este proceso pareció ser transitorio ya que no se observaron incrementos significativos en los niveles de turbidez promediados en profundidad a corto y mediano plazo. En cambio, las concentraciones de metales de Cr, Fe y Zn aumentaron en la estación polihalina. Aun así, estas perturbaciones no parecían ser lo sucicion del remolque. especies hiperbentónicas, comoPomatoshcistusspp. o decápodos, tendieron a disminuir ligeramente, mientras que especies pelágicas comoEngraulis encrasicoluso mysids no lo hicieron, lo que indica que los organismos bénticos suelen ser más susceptibles a un alto arrastre. No obstante, los posibles efectos de esta perturbación fueron del mismo orden o menores que los naturales; por lo tanto, los organismos de la macrofauna podrían estar bien adaptados para hacerles frente.

© 2021 Los autores. Publicado por Elsevier BV Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia CC BY-NC-ND (http:// creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

#### 1. Introducción

Muchas actividades humanas en o cerca de los hábitats acuáticos generan alteraciones en sus condiciones ambientales, lo que podría afectar a los organismos que los habitan (Halpern et al., 2008;Lotze et al., 2006). Capital

\*Autor correspondiente. Dirección de correo electrónico:jmmiro@us.es (JM Miró).

https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151304

0048-9697/© 2021 Los autores. Publicado por Elsevier BV Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

el dragado de los canales de navegación con el fin de recuperar la tierra y permitir el acceso de barcos cada vez más grandes a las vías navegables interiores es una de esas fuentes de perturbación. Los efectos adversos de las operaciones de dragado en los sistemas costeros generalmente han incluido la degradación del hábitat, el aumento de la turbidez y los sedimentos en suspensión, la amplificación de las mareas, la alteración de la dinámica de las corrientes, los cambios en la salinidad y la calidad del agua, etc. (p. ej.Torres et al., 2009; Wilber y Clarke, 2001;Winterwerp y Wang, 2013). Por otro lado, las operaciones periódicas de dragado de mantenimiento son necesarias para mantener la profundidad adecuada del fondo de los canales navegables. Estas actividades recurrentes de dragado pueden tener graves repercusiones en el medio costero, aunque en menor medida que los dragados de capital, ya que también pueden alterar la topografía del fondo, resuspender sedimentos, liberar contaminantes, modificar la columna de agua y provocar la remoción de un sustrato estable. (Donázar-Aramendía et al., 2018; Jones et al., 2015; Rehitha et al., 2017). La industria portuaria de contenedores ha experimentado un crecimiento fenomenal a lo largo de las últimas décadas desde la era de la contenedorización, donde el transporte marítimo actualmente mueve más del 80% de las mercancías del mundo (Tsolaki y Diamadopoulos, 2010;Yap y Lam, 2013). El crecimiento del comercio mundial aumentará el número de barcos y sus capacidades, que en consecuencia requerirán extensos servicios de dragado en las zonas costeras para llegar a los puertos (Yap y Lam, 2013).

Los ecosistemas costeros se encuentran entre los más importantes desde el punto de vista ecológico y económico en todo el mundo (Barbier et al., 2011). En particular, los estuarios son sitios de importante conectividad e intensos gradientes que los convierten en ecosistemas altamente productivos con una función esencial de vivero para muchas especies (Elliott et al., 2019). Al mismo tiempo, son sistemas dinámicos y complejos donde la alta variabilidad de los gradientes físicoquímicos los convierte en uno de los ambientes acuáticos más estresantes para la fauna acuática (González-Ortegón et al., 2010, 2015). La fluctuación constante de las características ambientales como la temperatura, la turbidez, el oxígeno y la salinidad debido a la dinámica de las mareas y los aportes de agua dulce da como resultado comunidades singulares que habitan estos ecosistemas (Día et al., 2013). Por lo tanto, las alteraciones en estos ecosistemas que ocurren debido a perturbaciones antrópicas podrían ser difíciles de distinguir de los cambios naturales (Elliott y Quintino, 2007). Es necesario lograr una evaluación precisa de los impactos antrópicos para mejorar la gestión del desarrollo costero mientras se mantiene un equilibrio con un "buen estado ecológico" del entorno costero (Borja y Elliott, 2007).

Los impactos sobre las comunidades bénticas como consecuencia del dragado se han documentado en numerosos estudios (p.Bemvenuti et al., 2005; Donázar-Aramendía et al., 2018;Ponti et al., 2009). Sin embargo, los organismos que habitan la columna de agua, como el plancton o los peces, siguen sin cuantificarse en gran medida. Aunque el dragado suele tener más repercusiones sobre las comunidades bentónicas debido a la relativa inmovilidad de los organismos ( Simonini et al., 2005), una extensa literatura ha demostrado que el dragado puede afectar directamente a los peces (Kjelland et al., 2015;Wenger et al., 2017) y sus hábitats asociados (Erftemeijer y Lewis, 2006; Jones et al., 2016). Muchos estudios han analizado los diferentes efectos del aumento de sedimentos en suspensión sobre el comportamiento (Colin y Hart, 2015), depredación (Ohata et al., 2011) y fisiología (Au et al., 2004); otras investigaciones observaron el efecto de los contaminantes liberados como metales o contaminantes orgánicos hidrofóbicos ( Haynes y Johnson, 2000); algunos de ellos investigaron el arrastre de peces en diferentes etapas de la historia de vida (Reina et al., 1998); y algunos estudios evaluaron los sonidos de dragado (Reina et al., 2014). No obstante, la mayoría de estos estudios se realizaron en laboratorio en ambientes controlados, mientras que las investigaciones in situ son muy escasas. Las metodologías para evaluar los impactos reales sobre los organismos que habitan en la columna de agua suelen ser difíciles de aplicar en campo debido a los continuos cambios en múltiples variables como la dinámica de las corrientes, las condiciones de las mareas, el gradiente de salinidad, la movilidad de los organismos, etc.

Estudios recientes muestran que los peces adultos tienen más probabilidades de sufrir un estrés subletal por las operaciones de dragado en lugar de la letalidad debido a su capacidad para alejarse o salir de un área de mayor impacto a una de menor impacto (Wenger et al., 2018). Sin embargo, las larvas y los huevos están sujetas a impactos letales con mayor frecuencia debido a sus menores movilidades (Wenger et al., 2018), al igual que pequeños individuos de macrozooplancton o hiperbentos (Hoffman y Dolmer, 2000). Por esta razón, las etapas tempranas de la vida de los peces o el plancton podrían ser más sensibles y mostrar más claramente los impactos del dragado en las especies que habitan la columna de agua.

Nuestro estudio in situ tuvo como objetivo determinar diferentes efectos sobre pequeños organismos que habitan la columna de agua, como etapas tempranas de vida de peces, especies de macrozooplancton e hiperbentos, durante una operación de dragado de mantenimiento en diferentes zonas de un estuario con gradiente de salinidad horizontal, el cual es considerada una de las zonas costeras más importantes de la región por su función vivero (Miró et al., 2020). Se propusieron dos objetivos temporales: i) analizar los efectos inmediatos de una draga de succión con remolque en funcionamiento sobre las variables fisicoquímicas y especies de macrofauna presentes en la columna de agua y ii) analizar los efectos acumulados a corto y mediano plazo de una operación de dragado de mantenimiento sobre las variables fisicoquímicas y principales especies de macrofauna presentes en la columna de agua y con diferentes rangos de salinidad.

#### 2. Material y métodos

#### 2.1. Área de estudio

El estuario del Guadalquivir está situado en el suroeste de la Península Ibérica, una región templada cálida, y sus aguas desembocan en el Golfo de Cádiz (Océano Atlántico). El estuario se extiende 110 km tierra adentro desde su desembocadura. Es un sistema mesomareal bien mezclado con un rango de amplitud de 3,5 m (mareas vivas) en la desembocadura del río (Díez-Minguito et al., 2012), que presenta un gradiente de salinidad longitudinal con desplazamiento temporal por mareas, caudales y variaciones estacionales (González-Ortegón et al., 2014). La morfología del estuario es de un solo cauce mayoritariamente aislado de los espacios naturales circundantes, con un cauce navegable principal de 7,1 m de calado medio, que se draga cada uno o dos años para garantizar el calado de navegación ( Ruíz et al., 2015). En otoño de 2017 se llevó a cabo un dragado de mantenimiento en varias zonas de la ría. El trabajo de dragado se realizó con una draga de succión con remolque. Nuestro estudio se centró en dos zonas de dragado (Figura 1), uno en la masa de agua polihalina y el otro en la masa de agua mesohalina. Aproximadamente 19.600 y 20.500m3de material dragado se extrajo en cada zona, respectivamente, y se realizó el dragado durante 15 días (18-11-2017 al 3-12-2017).

#### 2.2. Muestreo de campo

Para analizar el efecto inmediato sobre toda la columna de agua, se recogieron muestras biológicas contra la corriente de agua principal, antes (delante de la proa) y después (detrás de la popa) de que la masa de agua hubiera pasado el buque de dragado mientras estaba trabajando, en tres momentos diferentes (Figura 2). También se recogieron muestras de variables fisicoquímicas. Para analizar los efectos acumulativos a corto y mediano plazo, se recolectaron muestras biológicas y fisicoquímicas en tres cruceros antes, cinco cruceros durante y tres cruceros después del dragado con cuatro muestras en cada zona. Con el fin de analizar las tendencias intraestacionales en las abundancias de los principales organismos encontrados en el estuario, se realizaron comparaciones de un muestreo de monitoreo mensual en las mismas zonas utilizando los mismos períodos de los dos años anteriores a 2017. Como se realizó este estudio durante un programa de monitoreo mensual en las mismas zonas de 2015 a 2018, se utilizaron muestras de períodos similares (otoño) para comparar las tendencias biológicas. En 2015 no se realizó ningún dragado, que se utilizó como tendencia natural, mientras que en 2016 se realizó un dragado similar,

Las muestras biológicas se recolectaron con una red de plancton de 1 m de diámetro y 1 mm de malla equipada con un medidor de flujo General Oceanics 2030R. Remolques oblicuos de 10 min (305  $\pm$  46 m<sub>3</sub>; media  $\pm$  DE) fueron

JM Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.



Figura 1.Área de estudio del estuario del Guadalquivir con zonas de dragado.

realizado con un bote contra la corriente del agua a una velocidad de 2 a 2,5 nudos. Las muestras se fijaron en etanol al 70%. Se clasificaron los primeros estadios de peces y el resto de los grupos de macrofauna. Los peces se contaron y, cuando fue posible, se identificaron a nivel de especie. El resto de la macrofauna se cuantificó como biomasa por grupo (mísidos, decápodos e isópodos) y se secó y se ponderó en húmedo con una balanza (0,01 g).

Se registraron perfiles fisicoquímicos de toda la columna de agua antes de cada arrastre de plancton con una multisonda (profundidad, temperatura, salinidad, turbidez, concentración de oxígeno disuelto [OD], pH y concentración de clorofila-a [Chla]; Eureka™Manta2).

Se tomaron muestras de agua a media profundidad con una botella Niskin para medir las concentraciones de sólidos suspendidos totales (TSS), nutrientes inorgánicos (NO2, NO3, Nueva Hampshire4, PO4, SiO4) y metales (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn). Para medir TSS, el agua se filtró a través de filtros precombustidos (4 h, 500 °C) de poro de 0,7 µm (Whatman GF/F); posteriormente, los filtros se secaron (24 h, 60 °C) y se pesaron. La materia orgánica suspendida (MOS) e inorgánica (SIM) se obtuvo como pérdida de peso por ignición (500 °C, 4 h). Concentraciones de NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, Nueva Hampshire<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub>y SiO<sub>4</sub>se determinaron en muestras de agua filtrada (0.7 μm), en un autoanalizador de flujo segmentado (Skalar, Sanmás) basado en métodos espectrofotométricos clásicos (Grasshoff et al., 2007). La precisión fue de ±0,08 µM para nitrato, ±0,002 µM para nitrito, ±0,03 µM para amonio, ±0,03 µM para silicato y ±0,03 µM para fosfato. El análisis de concentraciones de metales en muestras de agua se determinó mediante ICP-OES (Varian ICP 720-ES) equipado con nebulizador ultrasónico CETAC U5000AT+ después de la filtración a través de filtros de nailon (tamaño de poro = 0,45 µm) y acidificación con 2% HNO3(30%). Las muestras de agua acidificadas se almacenaron un mes antes de la extracción. Las soluciones de calibración y control de calidad (QC) se prepararon a partir de una solución estándar de elementos múltiples ICP IV Certipur obtenida de Merck y una solución de referencia certificada Spectrascan de LGC Standards GmbH (Wesel, Alemania). La precisión de los métodos analíticos se evaluó a través de una muestra de agua de referencia (TR-434 Trazas de metales en agua potable) del Programa INTER 2000 (Trazas de Elementos en Agua Estuarina CRM 505 No. 048). Las recuperaciones fueron del 89,2 al 109,4 % para todos los metales. Las diferencias en las concentraciones de metales entre los valores analizados y certificados fueron generalmente <10%.

2.3. Análisis de los datos

Para investigar los efectos de la operación de dragado en las diferentes variables medidas, se aplicaron modelos mixtos lineales generalizados (GLMM) usando 'Lme4' (Bates et al., 2015). Se realizaron diferentes diseños experimentales para cada enfoque.

- En el enfoque inmediato, los modelos se aplicaron a las especies de peces más abundantes (>2% del total) y los principales grupos de macrofauna capturados. La distribución normal fue la que mejor se ajustó para la biomasa de los grupos de macrofauna, y la distribución de Poisson para los datos de conteo de especies de peces con el logaritmo del volumen filtrado como variable de compensación. Si el modelo mostraba una alta sobredispersión (>2), se aplicaba una distribución binomial negativa en lugar de la distribución de Poisson. El diseño experimental incluyó dos factores: un factor fijo 'Momento' (con dos niveles, 'Antes y Después') y un factor aleatorio 'Crucero' (con tres niveles, '1, 2 y 3').
- 2) En el enfoque de corto y mediano plazo, se aplicaron modelos a las especies de peces y grupos de macrofauna más abundantes, así como a todas las variables ambientales medidas para cada zona (polihalinas y mesohalinas) por separado. La distribución normal fue la más adecuada para la mayoría de las variables de respuesta, excepto para los conteos de abundancia de especies de peces, para los cuales usamos una binomial negativa.



Figura 2.Diseño experimental para el análisis de los efectos inmediatos en la columna de agua antes y después del paso de la masa de agua por la draga de trabajo.

distribución y el logaritmo del volumen filtrado como variable de compensación. El diseño experimental incluyó dos factores: un factor fijo 'Período' (con tres niveles, 'Antes, Durante y Después') y un factor aleatorio anidado dentro del Periodo 'Crucero' (dentro de tres niveles Antes, cinco niveles Durante y tres niveles Después) . Si el factor Período era significativo, se realizaba una comparación post hoc por pares entre niveles utilizando el paquete 'emmeans' (Longitud, 2018).

Se ajustaron modelos aditivos generalizados (GAM) para perfiles de profundidad de variables fisicoquímicas registradas con la sonda múltiple. Como los GLMM utilizan un valor único de cada variable predictora para cada valor de la variable de respuesta, los valores predichos de los GAM se promediaron en profundidad para obtener un valor único representativo de la columna de agua completa. Los resultados de todas las variables se trazaron por zona utilizando el paquete 'ggplot2'. Los análisis se realizaron utilizando el software R 3.5.2 (Equipo central R, 2018).

Además, se observó el caudal medio diario de la presa de Alcalá del Río durante todo el periodo de estudio para analizar la influencia de la aportación de agua dulce (datos facilitados por Confederación Hidrográfica del Guadalquivir,http://www.chguadalquivir.es/saih/DatosHistori-cos.aspx) sobre las variables ambientales medidas.

3. Resultados

#### 3.1. efectos inmediatos

#### 3.1.1. Análisis ambiental

Los perfiles de las diferentes variables ambientales registradas con la multisonda se grafican enFig. 3. Se encontró un patrón general luego del dragado para las variables clorofila, turbidez y salinidad, el cual consistió en una homogeneización de toda la columna de agua con valores similares en la superficie a los del fondo. Solo oxígeno disuelto mostró la tendencia inversa, con valores más altos en la superficie después del dragado. El pH mantuvo valores homogéneos en ambos momentos, similares a los de temperatura, excepto en el crucero 1.

#### 3.1.2. Análisis biológico

Las especies de peces encontradas fueronEngraulis encrasicolus ( 45,6%), Pomatoschistusspp. (44,9%),Aphia minuta (2,9%),incisivo pomadasys (2,3%),Solea senegalensis (2,2%),sardina pilchardus (1,1%), Argyrosomus regius (0,5%),anguila anguila (0,3%) yGobius paganellus ( 0,2%). Entre el resto de los grupos de macrofauna, los mísidos fueron los más abundantes (77,9%; ej.Rhopalophthalmus tartessicus, Mesopodopsis slabberi yNeomysis entero),seguido por los decápodos (17,4%; ej.Palemón spp. yCrangon Crangon)e isópodos (4,6%; ej. Synidotea laticauda yLekanesphaera rugicauda).

Las especies mostraron diferentes respuestas después del paso de la masa de agua por la draga, aunque las variaciones entre momentos dificultaron el descubrimiento de patrones claros (Fig. S.1). Sólo los mysids y Solea senegalensismostró diferencias significativas, aumentando en todos los cruceros (tabla 1). También la anchoaEngraulis encrasicolustendía a aumentar. En cambio, los decápodos,Pomatoschistusspp.,Aphia minutay incisivo pomadasystendió a disminuir. Los isópodos mantuvieron densidades estables delante y detrás de la draga.

#### 3.2. Efectos a corto y mediano plazo

#### 3.2.1. Análisis ambiental

La duración del estudio fue de 81 días entre el primer y el último crucero, y se observaron diferentes patrones temporales en las distintas variables fisicoquímicas. Las diferencias estadísticamente significativas en el 'Período' de efectos fijos de GLMM en todas las variables se resumen en las gráficas por códigos de letras y se amplían en la Tabla S.1.1. Aporte medio diario de agua dulce al estuario (Figura 4A) aumentado (descargas superiores a 50



Fig. 3.Perfiles verticales de las variables ambientales (A: clorofila; B: turbidez; C: Oxígeno disuelto; D: Temperatura; E: pH; F: Salinidad) antes (línea continua) y después (línea discontinua) del paso de la masa de agua por la línea de trabajo. draga durante los tres cruceros diferentes.

#### JM Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

#### tabla 1

Resultados del "Momento" de efectos fijos para GLMM sobre las principales especies de peces tempranos (datos de conteo) y grupos de macrofauna (datos de biomasa) del enfoque inmediato. El nivel "Antes" se utilizó como intercepción para calcular las estimaciones.

	Estimar	SE	valor z	pagvalor
Engraulis encrasicolus	0.395	0.205	1.924	0.054
Pomatoschistusspp.	- 0,289	0.405	- 0,714	0.475
Aphia minuta	- 0,369	0.492	- 0,75	0.453
incisivo pomadasys	- 0,36	1.195	- 0,302	0.763
Solea senegalensis	1.778	0.763	2.329	0.019
	Estimar	SE	valor t	valor p
mysids	41.85	10.2	4.103	> 0.001
Decápodos	- 10.17	23.27	- 0,437	0.662
isópodos	0.376	1.169	0.322	0.747



Figura 4.Media diaria de aportes de agua dulce en el estuario del Guadalquivir (A) y valores temporales de variables fisicoquímicas medidas en la columna de agua (turbidez [B], clorofila [C], temperatura [D], oxígeno disuelto [E], pH [F], salinidad [G]) y biológicos (Engraulis encrasicolus [H],Pomatoschistus spp. [I], mysids [J], decápodos [K], isópodos [L]). Las líneas discontinuas señalan el período de dragado. Las líneas sólidas son modelos más suaves con el método loess para zonas polihalinas (rojas) y mesohalinas (azules). El sombreado gris indica errores estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas (pag <0,05) entre los niveles del factor Período (antes, durante y después) del GLMM en cada zona (Letras rojas: polihalina; Letras azules: mesohalina).

metro3/s) al final del período de dragado y posteriormente. La turbidez no mostró ningún cambio durante el dragado, mientras que sus valores aumentaron durante el período posterior al dragado, siendo significativo en la zona polihalina (Figura 4 B). La concentración de clorofila mostró una disminución durante el período de dragado y una suave recuperación a partir de entonces (Figura 4C). La temperatura del agua disminuyó gradualmente de 22,5 °C a 12,5 °C, típica de la transición otoño-invierno de las regiones templadas del hemisferio norte, aunque esta disminución cesó durante el dragado (Figura 4D). El oxígeno disuelto mostró la tendencia inversa durante el estudio (Figura 4E), aunque sus valores aumentaron más durante el período de dragado a pesar de que la temperatura se mantuvo estable durante estas fechas. El pH aumentó en ambas zonas durante el dragado, disminuyendo posteriormente a valores previos al dragado (Figura 4F). La salinidad se mantuvo estable en ambas zonas durante todo el estudio (Figura 4 G), aunque tendió a disminuir después del dragado asociado al incremento del aporte de agua dulce en este período.

TSS, directamente correlacionado con SIM y SOM (Figura 5A–C), mostró el mismo patrón que la turbidez, siendo el período posterior al dragado cuando se encontraron mayores concentraciones en todas las zonas. Aún así, la amplia gama de niveles de turbidez encontrados en la zona mesohalina no hizo que esta zona fuera significativamente diferente (Tabla S.1.2). Las concentraciones de silicatos y nitritos no mostraron diferencias (Figura 5DELAWARE). Los nitratos mostraron un incremento gradual en ambas zonas, con diferencias significativas en la zona polihalina entre todos los periodos (Figura 5F). El amonio mostró una tendencia similar, pero sin diferencias significativas (Figura 5GRAMO). Los fosfatos no mostraron diferencia en la zona mesohalina, mientras que los valores medidos en la zona polihalina fueron mayores durante el dragado, con una recuperación parcial a partir de entonces (Figura 5h).

Se encontraron tendencias similares entre zonas en la concentración de la mayoría de los metales analizados, aunque la zona mesohalina no mostró diferencias significativas entre periodos para ninguno de ellos (Figura 6y tablas S.2.1 y S.2.2). As, Cd, Co, Cu y Pb no mostraron patrones claros debido a variaciones entre repeticiones (Figura 6A–D, H). Ni, a pesar de no ser significativamente diferente entre periodos, mostró una tendencia acumulativa durante el periodo de dragado (Figura 6GRAMO). Cr y Fe comenzaron a aumentar gradualmente durante el dragado y continuaron en el período posterior al dragado (Figura 6D, F). El Zn presentó el mayor incremento relativo durante el dragado, con diferentes tendencias después del dragado para la zona polihalina, en la que disminuyó levemente, y la zona mesohalina, en la que se mantuvo alto pero con oscilaciones (Figura 6YO).

#### 3.2.2. Análisis biológico

Se encontraron un total de 16 especies de peces en etapas tempranas de vida con dos especies dominantes que comprendían más del 90% de la abundancia total del conjunto de peces, la anchoveta.Engraulis encrasicolus (58,3%) y el gobio Pomatoschistusspp. (32,8%). En relación con el resto de los grupos de macrozooplancton e hiperbentos, se encontraron especies similares a las descritas en la aproximación inmediata, siendo los mísidos los que presentan la mayor biomasa (76,6 %), seguidos de los decápodos (17,6 %) y los isópodos (5,3 %).

Las series temporales de las densidades de las especies de peces más abundantes y del resto de la macrofauna se representan por zona enFigura 4. Se observó un patrón general para la mayoría de los taxones, que mostró una variación de densidad más amplia antes y durante los cruceros de dragado, así como una disminución temporal a lo largo de todo el estudio. No obstante, se encontraron respuestas distintas y diferencias significativas entre periodos para cada especie (Cuadro S.3). Anchoveta y mysids mostraron patrones similares en ambas zonas, con una marcada disminución desde el inicio del dragado, especialmente en aguas polihalinas, que continuó hasta el último crucero (Figura 4 H, J). Los isópodos, gobios y decápodos no mostraron diferencias entre períodos debido a la alta variabilidad intraperíodo, aunque se observaron diferentes tendencias (Figura 4yo, k, l). Las densidades de isópodos fueron demasiado bajas en la zona polihalina para detectar algún cambio a lo largo de los períodos, mientras que en la zona mesohalina, su biomasa mostró un descenso notable durante el dragado en comparación con el último crucero del período anterior; además, mostró una recuperación parcial en el segundo crucero después del dragado, aunque no continuó en el siguiente. Gobios y decápodos mostraron una tendencia similar, pero en zonas opuestas, con una disminución al final del dragado, que también continuó en el período posterior al dragado.

Comparación interanual (2015, 2016 y 2017) deE. encrasicolus, Pomatoschistus spp., y el resto de los grupos de macrofauna juntos (el componente principal fue mysids) en cada zona se grafican enFigura 7. Anchoa (Figura 7A) mostró densidades estables en la zona polihalina durante todo el período 2015 y 2016, a pesar de la operación de dragado realizada en este último año. En cambio, 2017 presentó mayores abundancias de anchoveta antes del dragado, pero disminuyó durante la operación a niveles similares a años anteriores en las mismas fechas. Las densidades de anchoveta en la zona tesohalina mostraron una tendencia diferente, con una disminución gradual pero con oscilaciones según el año. De hecho, las variaciones intermensuales naturales encontradas en 2015 fueron superiores a las



Figura 5.Diagrama de caja de sólidos suspendidos totales (A), materia inorgánica suspendida (B), materia orgánica suspendida (C), SiO4(D), NO2(ES), NO3(F), Nueva Hampshire4(G) y PO4 (H) en cada zona. Azul: antes del dragado; rojo: durante el dragado; verde: después del dragado. Letras diferentes indican diferencias significativas (pag <0,05) entre los niveles del factor Period de GLMM en cada zona.

JM Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

Ciencia del Medio Ambiente Total 806 (2022) 151304



Figura 6.Series temporales de concentraciones de metales (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn; AI respectivamente) en la columna de agua. Las líneas discontinuas señalan el período de dragado. Las líneas continuas son modelos más suaves con el método loess para zonas polihalinas (rojas) y mesohalinas (azules). Letras diferentes indican diferencias significativas (pag <0.05) entre los niveles del factor Period de GLMM en cada zona (Letras rojas: polihalina; Letras azules: mesohalina). Los valores inferiores al límite de detección se representaron como 0.



Figura 7.Densidad deEngraulis encrasicolus (A) yPomatoschistusspp. (B), y biomasa (peso húmedo) del resto de la macrofauna (C) durante el estudio de dragado (2017) y en fechas similares en años anteriores (2015 y 2016) en cada zona. Las líneas discontinuas señalan los períodos de dragado: el color verde es para 2016 y el azul para 2017. Las líneas sólidas son modelos más suaves con el método loess para cada año.

observado en años con dragado. La tendencia del resto de la macrofauna ( Figura 7C) fue similar a la de anchoveta en la zona polihalina, y se repitió una disminución gradual para todos los años en la zona mesohalina. el gobio ( Figura 7B) mostró un patrón distinto en ambas zonas en todos los años, excepto en la zona mesohalina en 2016, con un incremento progresivo al inicio del periodo de estudio que varió entre fechas, para finalmente decrecer con diferentes pendientes.

#### 4. Discusión

Los estuarios son ecosistemas con amplias variaciones ambientales que dificultan la detección del estrés antrópico de los cambios naturales, a menos que el impacto humano sea severo, lo que lleva a la 'paradoja de la calidad de los estuarios' (Elliott y Quintino, 2007). Además, la imposibilidad de establecer repeticiones de control por zona, debido a la ausencia de aguas polihalinas o mesohalinas sin dragado en el mismo estuario, obliga a interpretar estos resultados con cautela. No obstante, el diseño inmediato, corto y medio plazo aplicado en este estudio, además de las comparaciones interanuales, ayudó a discriminar diferentes efectos de una operación de dragado en variables biológicas y fisicoquímicas de la columna de agua en un estuario muy fluctuante como es el Guadalquivir. .

Entre las variables fisicoquímicas, solo el OD y el pH mostraron una clara influencia del dragado, aumentando sus niveles. Estas observaciones inesperadas contrastan con la suposición general de que la resuspensión de sedimentos libera sustancias químicas que reaccionan con el OD, reduciendo temporalmente su concentración y acidificando el agua (Jones-Lee y Lee, 2005). En este caso, observando la estratificación del OD en la aproximación inmediata, es posible que perturbaciones mecánicas, como por la hélice del barco y/o cavitación, además de la acción del brazo del remolque, puedan mezclar la columna de agua con el aire atmosférico. ( Bowie et al., 1985), equilibrar la demanda química de DO e incluso aumentar sus valores. No obstante, la concentración de OD nunca alcanzó niveles inferiores a 6 mg/L durante todo el estudio a ninguna profundidad en ambas zonas, y el pH aumentó solo 0,1, lo que no pareció tener un efecto negativo relevante en aguas bien oxigenadas y con bajas temperaturas. según lo informado por Jabusch et al. (2008).

Por otro lado, el agotamiento del OD también está asociado con niveles persistentemente altos de turbidez, que reducen la penetración de la luz en la columna de agua y limitan la actividad fotosintética (Desmit et al., 2005). Aún así, el estuario del Guadalquivir se considera un sistema turbio donde la producción primaria en la columna de agua es escasa y está constreñida a la capa superficial ( Ruíz et al., 2015). Por lo tanto, la producción de oxígeno por parte del fitoplancton estaría poco influenciada por un aumento temporal de la turbidez. El aumento de la turbidez, directamente correlacionado con los TSS, ha sido ampliamente estudiado como un efecto común de las operaciones de dragado en áreas costeras, que pueden afectar la biodiversidad marina (Magris y Ban, 2019;Wenger et al., 2017), pudiendo causar impactos letales y subletales en el 10% y 20% de las especies de peces, respectivamente (Wenger et al., 2018). Un análisis de imágenes satelitales de superficie mostró incrementos de sólidos suspendidos totales (1000 mg/L aprox.) en penachos durante una operación de dragado en las zonas altas del mismo estuario (Caballero et al., 2018). Estas observaciones coincidieron con los perfiles inmediatos registrados después del paso de la masa de agua por la draga de trabajo, cuando la homogeneización de la columna de agua incrementó los niveles de turbidez en la superficie. Pero, sorprendentemente, no detectamos cambios significativos en los valores de turbidez promediados en profundidad. La operación de dragado debió aumentar necesariamente el sedimento en suspensión y, en consecuencia, la turbidez, pero el efecto parece ser espacialmente muy local y su persistencia temporal corta, y no pudimos detectar cambios significativos en los enfoques a corto ni a medio plazo. . No obstante, la turbidez, la concentración de TSS, SIM y SOM aumentaron después del dragado, lo que parece estar más bien asociado con mayores aportes de agua dulce en este período.González-Ortegón et al. (2010) reportaron observaciones similares durante otras crecidas en el mismo estuario (hasta 700 NTU aprox.), describiendo efectos adversos en la red alimentaria del estuario a diferentes niveles. Aumento de la exposición a

el sedimento en suspensión puede dañar el tejido y la estructura de las branquias, ya que es más fácil obstruir las branquias y reducir su eficiencia en peces y larvas más pequeños (Au et al., 2004). La ría del Guadalquivir ha sido considerada la zona de vivero más productiva e importante de la región a pesar de ser la más turbia ( Miró et al., 2020). Los altos caudales originados por las mareas y la elevada turbidez crónica en la ría del Guadalquivir (Losada et al., 2017) podría haber eclipsado el efecto de resuspensión de sedimentos causado por el dragado en nuestras zonas de muestreo; en consecuencia, no pudimos observar un aumento claro ni ningún efecto directo sobre las especies encontradas.

La dinámica de la concentración de clorofila parece seguir un patrón estacional relacionado con la reducción de la temperatura, siempre que el dragado no modifique significativamente la turbidez y, en consecuencia, la penetración de la luz. Sin embargo, se observaron valores más altos en los últimos cruceros, mientras que la temperatura continuó disminuyendo y la turbidez aumentó. Estas observaciones podrían explicarse por las importaciones de aguas arriba con mayor producción primaria causada por el aumento de los aportes de agua dulce (González-Ortegón y Drake, 2012) y/o una mayor resuspensión de microfitobentos de las riberas (Díez-Minguito y de Swart, 2020; Miró et al., 2020). Asimismo, nutrientes como el nitrato y el amonio, que presentaron tendencias similares a las de la clorofila, podrían ser importados por efluentes cloacales y procesos de nitrificación de aguas arriba cercanas a zonas urbanas y agrícolas ( Mendiguchía et al., 2007). Se pueden encontrar diferentes etapas de amonio dependiendo de los niveles de pH, con un mayor no ionizado (amoníaco [NH 3]) proporción asociada con un pH alto, que se ha considerado tóxico para los peces (Brinkman et al., 2009). En nuestro caso, los cambios de pH observados durante el dragado podrían incrementar el NH3proporción en alrededor de 0,1-0,2% (zonas poli- y mesohalinas respectivamente), lo que se traduce en una concentración total de 0,1 µM NH3durante ese período. Por lo tanto, el amoníaco no ionizado mostró niveles muy por debajo del valor de referencia tóxico de 1,16 µM NH<sub>3</sub>(remolino, 2005). La concentración de fosfato, cuyo incremento suele atribuirse a los fertilizantes vía caudal fluvial ( Mainstone y Parr, 2002), mostró cambios durante el dragado en aguas polihalinas, aunque las concentraciones alcanzadas fueron inferiores a los niveles encontrados en la zona mesohalina. Globalmente, no pudimos asignar claramente un aumento en los nutrientes inorgánicos debido a las operaciones de dragado.

Por el contrario, el dragado se ha relacionado principalmente con la removilización de metales asociados con partículas de sedimentos en la columna de agua, lo que cambia sus condiciones ambientales y promueve el cambio de metales de las partículas en estado disuelto (Van Den Berg et al., 2001; Chen et al., 2020). Este fenómeno fue aún más notorio en la ría del Guadalquivir dado que recibió un vertido tóxico de la mina de Aznalcóllar en 1998 (Riba et al., 2002); aunque 10 años después, los estudios demostraron que era evidente una disminución en la contaminación por metales en la zona (Tornero et al., 2011, 2014 ). Se sabe que la oxidación de sulfuros libera diferentes metales pesados debido a que los precipitados se degradan (Caille et al., 2003). Este fenómeno se pudo observar en nuestro caso para Cr, Fe, Ni y Zn, con una tendencia acumulativa durante el dragado. Sin embargo, la oxidación de Fe también provoca la precipitación de hierro-(oxo)hidróxidos (Dang et al., 2020), que podría formar una capa de adsorción muy fuerte en la superficie del nuevo fondo dragado y disminuir la liberación de metales (Goossens y Zwolsman, 1996). Por otro lado, un estudio previo en el estuario del Guadalquivir de concentraciones de metales pesados en el sedimento de las mismas zonas observó un incremento de As, Co y Ni tras las operaciones de dragado, especialmente en el yacimiento polihalino ( Donázar-Aramendía et al., 2018). En nuestras muestras de agua, se encontraron mayores efectos en la misma zona, donde las ligeras diferencias podrían deberse a la salinidad del agua, el potencial de oxidación-reducción del sedimento y el pH del agua intersticial del sedimento y el agua suprayacente en el sitio (Eggleton y Thomas, 2004;Roberto, 2012).

La concentración de metal disuelto proporcionada podría estar sobreestimada aquí con respecto a otros estudios que utilizan filtros con tamaño de poro más pequeño (por ejemplo, 0,22 µm;González-Ortegón et al., 2019), debido a la mayor presencia de coloides. En consecuencia, el la precisión para detectar pequeñas variaciones en las concentraciones de metal de la fase disuelta podría ser menor. Aún así, los valores máximos registrados en el campo fueron más bajos que la concentración mínima utilizada en experimentos de laboratorio controlados para probar los efectos letales de los metales traza en las primeras etapas de la vida de los peces (Jezierska et al., 2009). Los experimentos en crustáceos también muestran que los rangos medidos generalmente no causan efectos significativos en los individuos (Grilletes et al., 2016;Lavolpe et al., 2004;Martín y Holdich, 1986). Por lo tanto, se espera que la absorción de metales por parte de los peces y el resto de la macrofauna presente en ambas zonas sea baja en este estudio. Además del efecto del dragado, las corrientes de marea diarias (Jonas y Millward, 2010), energías eólicas o temporales ( Abedul y O'Hea, 2007) en los sistemas estuarinos puede provocar la removilización periódica de los sedimentos superficiales, liberando metales de forma natural. Las mayores entradas de agua dulce observadas después del dragado y el incremento asociado en TSS, también podrían ayudar a mantener los valores elevados de algunos metales. Por otro lado, algunos metales pueden liberarse y/o reabsorberse más fácilmente que otros (Maddock et al., 2007). Podría estar ocurriendo una liberación y una reabsorción más rápidas para el Ni y el Cr, que aumentaron rápidamente solo durante el dragado, y una liberación y una reabsorción más lentas para el Zn y el Fe, que alcanzaron niveles más altos después del dragado. Además, los sedimentos finos podrían permanecer más tiempo en suspensión y, en consecuencia, liberar más metales después del dragado (Maddock et al., 2007). El estuario del Guadalquivir ha presentado eventos de alta turbiedad persistente en años húmedos (González-Ortegón et al., 2010) y es considerado uno de los estuarios de la región con mayores fluios de metales (González-Ortegón et al., 2019) debido a los apoyos urbanos y agrícolas (Mendiguchía et al., 2007). A medida que los organismos absorben y acumulan metales traza durante todo su ciclo de vida, existe la posibilidad de que se produzcan efectos tóxicos con el tiempo (Arcoíris, 2007), debe prestarse especial atención a la liberación de metales después de situaciones de mayor perturbación del fondo, como períodos de dragado más prolongados o crecidas torrenciales. Aún así, es más probable que esto sea una preocupación con los organismos estuarinos de vida más larga, como los peces residentes adultos, que con los de vida corta, como la mayoría de las especies incluidas en este estudio.

Las alteraciones fisicoquímicas provocadas por las operaciones de dragado parecen ser menores en comparación con los cambios naturales observados; sin embargo, se han observado otros posibles efectos en organismos planctónicos. La limitada capacidad de natación de los individuos pequeños podría imposibilitarles eludir la masa de agua afectada por el dragado. Por lo tanto, la causa principal y directa que podría disminuir las densidades de plancton después del paso de la masa de agua por la draga de trabajo es el arrastre hidráulico, que conduce a su muerte por la acción mecánica del brazo de succión (Reine y Clarke, 1998).

Se encontraron diferentes tendencias para especies hiperbentónicas y pelágicas en el enfogue inmediato, especies hiperbentónicas, como Pomatoshcistusspp. o decápodos, tendió a disminuir, probablemente debido al impacto directo de la remoción física de los sedimentos del fondo habitados por organismos hiperbentónicos (Hoffman y Dolmer, 2000). De hecho, un estudio anterior demostró quePomatoschistusspp. es propenso a un alto arrastre por la succión de un remolque con tasas estimadas entre 0.0018 y 0.009 ind./m3(Drable, 2012a). También, Amstrong et al. (mil novecientos ochenta y dos) informó que los camarones de arena (Crangónsp.) mostró las tasas más altas de arrastre por dragas en los estuarios del noroeste del Pacífico, con un rango entre 0.08 y 4.44 ind./m<sub>3</sub>, y estimó una disminución de la población durante un proyecto de dragado de alrededor del 1,2% al 6,5%. En cambio, las especies pelágicas comoE. encrasicolus, S. pilchardus, P. incisuso mysids tendieron a mantener densidades estables, o incluso a aumentar en densidad en algunos casos. Su comportamiento de habitar la columna de agua podría minimizar el riesgo de arrastre. La mayoría de los estudios reportan organismos demersales arrastrados (Barletta et al., 2016; Reine y Clarke, 1998); sin embargo, también se han recolectado estados adultos de especies pelágicas, incluida la anchoveta (0.001 ind./ m<sub>3</sub>), arenque (0,01 ind./m<sub>3</sub>) y fundido (0,01 ind./m<sub>3</sub>) (Armstrong et al., 1982). En larvas de peces, algunos autores estimaron el arrastre de la lubina rayada (Morone saxatilis), arenque (Alosaspp.) y perca blanca (Moron americana), involucrando la operación simultánea de cuatro dragas hidráulicas en el río Delaware, y concluyó que menos del 1% de la población total de larvas sería arrastrada por las dragas

(Burton et al., 1992). En nuestro caso, la falta de una diferencia significativa obtenida para cualquier especie con este enfoque sugiere que el arrastre causó una baja incidencia sobre las especies hiperbentónicas y ningún efecto sobre las pelágicas.

Por otro lado, las especies pelágicas exhibieron diferentes tendencias entre enfoques inmediatos y corto-medios. Se encontró una gran disminución en la densidad justo después del inicio del dragado en E. encrasicolusy mysids en la zona polihalina, lo que sugiere que esta perturbación podría afectar a estas especies. Sin embargo, las comparaciones interanuales encontraron que sus densidades pueden fluctuar de manera similar sin dragado (anchoveta en la zona mesohalina de 2015) o mucho tiempo después de la actividad de dragado (macrofauna en la zona polihalina de 2016). Además, estos organismos mostraron valores bajos y estables (anchoveta en la zona polihalina de 2015-16) o disminuyeron gradualmente (anchoveta y macrofauna en la zona mesohalina de 2015-16) a lo largo de esta temporada, en años con o sin operaciones de dragado. El gobio mostró diferentes tendencias, destacando la disminución de la densidad en la zona mesohalina de 2015, cuando no hubo operación de dragado, e incluso el aumento en la zona polihalina durante y después del dragado en 2016.Drake et al., 2002) o si son un impacto de dragado. Un estudio de seguimiento de varios años realizado en el Canal de la Mancha Oriental (Reino Unido), que se draga anualmente, observó una reducción temporal y gradual de varias especies, entre ellasPomatoschistusspp. ( Drabble, 2012b). En nuestro caso, no se encontraron diferencias claras entre las densidades estacionales de años anteriores. Algunas de estas especies están presentes en todo el tramo del estuario, con mayor densidad en las riberas menos profundas del estuario del Guadalquivir (datos no publicados). Además, la mayoría de las especies encontradas eran migrantes marinos, comoE. encrasicolus, S. pilchardus, S. senegalensisetc., que ubican sus zonas de desove mar adentro (Baldó et al., 2006). Estos comportamientos podrían minimizar el impacto mecánico del dragado, que se realizó en el estuario y solo en el cauce medio, limitando el impacto en la función de vivero.

En resumen, las modificaciones observadas en las variables fisicoquímicas del agua en comparación con cambios naturales como avenidas, las diferencias no significativas encontradas en el acercamiento inmediato y las fluctuaciones temporales de densidad similares a las de años anteriores con o sin dragado sugieren que esta operación de dragado no provocó un fuerte impacto en el estuario del Guadalquivir. Aún así, esto no significa que no haya ningún efecto. Este ecosistema mostró altas fluctuaciones naturales, lo que impidió una clara asociación de las variaciones observadas con los efectos del dragado, lo que llevó a la 'Paradoja de la calidad estuarina' (Elliott y Quintino, 2007). No obstante, como los posibles efectos de esta perturbación fueran del mismo orden o menores que los naturales, los organismos planctónicos podrían estar bien adaptados para hacerles frente. Aún así, la masa de agua polihalina mostró efectos más notorios que las aguas mesohalinas. Además, la operación de dragado se llevó a cabo durante el período de disminución natural del reclutamiento, lo que podría minimizar los efectos sobre la función de crianza. Sin embargo, la actividad de dragado durante el período principal de reclutamiento y desarrollo larvario (marzo a noviembre en el caso del estuario del Guadalquivir [Drake et al., 2002, 2007]), podría limitar directamente el suministro de larvas al contribuir a mayores tasas de mortalidad entre las larvas o reducir el éxito del reclutamiento (Wenger et al., 2017). La evidencia aquí encontrada y los cambios detectados aconsejan implementar programas de monitoreo sistemático en cualquier proyecto de dragado. La experiencia acumulada y el uso de nuevos enfoques pueden permitir definir con mayor claridad la naturaleza del efecto de estas operaciones, permitiendo el diseño de estrategias de control específicas para mitigar los impactos, así como una evaluación exhaustiva de la efectividad de estas estrategias (Wenger et al., 2018), promoviendo así una gestión pesquera sostenible.

#### Declaración de contribución de autoría CRediT

JM Miró:Conceptualización, Metodología, Software, Validación, Análisis formal, Investigación, Curación de datos, Redacción – borrador original. C. Megina:Conceptualización, Metodología, Análisis formal, Investigación, Redacción – revisión y edición, Administración de proyectos.I. Donázar-Aramendía:Metodología, Recursos, Redacción – revisión y edición.JC García-Gómez:Supervisión, Adquisición de fondos, Redacción: revisión y edición.

#### Declaración de competencia de intereses

Los autores declaran que no tienen intereses financieros en competencia ni relaciones personales conocidas que pudieran haber influido en el trabajo informado en este documento.

#### Agradecimientos

Agradecemos a Autoridad Portuaria de Sevilla y Acuario de Sevilla por el apoyo financiero y logístico. Este trabajo ha sido financiado parcialmente por el Plan Propio Universidad de Sevilla a través de dos becas predoctorales (I. Donázar-Aramendía, JM Miró). Agradecemos a todos los miembros de la LBM que participan en los estudios de campo y en el procesamiento de muestras.

#### Apéndice A. Datos complementarios

Los datos complementarios a este artículo se pueden encontrar en línea enhttps:// doi. org/10.1016/j.scitotenv.2021.151304.

#### Referencias

- Armstrong, DA, Stevens, BG, Hoeman, J., 1982.Distribución y abundancia de Cangrejo Dungeness y camarones Crangon, y mortalidad de invertebrados y peces relacionada con el dragado en Grays Harbor, Washington. tecnología Informe. Sch. Pez. Universidad Washington, Washington. dep. Pez. Ing. del Ejército de EE. UU. Dist. Seattle.
- Au, DWT, Pollino, CA, Wu, RSS, Shin, PKS, Lau, STF, Tang, JYM, 2004. Efecto crónico Efectos de los sólidos suspendidos en la estructura branquial, la osmorregulación, el crecimiento y la triyodotironina en el mero verde juvenil Epinephelus coioides. Mar. Ecol. prog. Ser. 266, 255–264.https://doi.org/10.3354/meps266255.
- Baldó, F., García-Isarch, E., Jiménez, MP, Romero, Z., Sánchez-Lamadrid, A., Catalán, IA, 2006. Distribución espacial y temporal de las primeras etapas de vida de tres especies de peces comerciales en la plataforma nororiental del Golfo de Cádiz. Resolución de aguas profundas. Parte II Superior. Semental. Oceanogr. 53, 1391–1401.https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.04.004.
- Barbier, EB, Hacker, SD, Kennedy, C., Koch, EW, Stier, AC, Silliman, BR, 2011. El valor de los servicios ecosistémicos estuarinos y costeros. Ecol. Monogr. 81, 169–193. https:// doi.org/10.1890/10-1510.1.
- Barletta, M., Cysneiros, FJA, Lima, ARA, 2016. Efectos de las operaciones de dragado en el de-Fauna mersal de peces de un estuario de transición tropical-subtropical sudamericano. J. Pescado Biol. 1–31.https://doi.org/10.1111/jfb.12999.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., Walker, S., 2015. Ajuste de modelos lineales de efectos mixtos utilizando Ime4. Estado J. suave 67, 1–48.https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01.
- Bernvenuti, CE, Angonesi, LG, Gandra, MS, 2005. Efectos de las operaciones de dragado en macrofauna de fondo en un puerto en la región estuarina de la laguna de Patos en el sur de Brasil. Brasil. J. Biol. 65, 573–581.https://doi.org/10.1590/s1519-69842005000400003.
- Birch, G., O'Hea, L., 2007. La química del material particulado en suspensión en un ensenada contaminada del puerto Jackson (Australia) bajo condiciones de reposo, vientos fuertes y lluvias torrenciales. Reinar. Geol. 53, 501–516.https://doi.org/ 10.1007/s00254-007-0662-5.
- Borja, A., Elliott, M., 2007. ¿Qué significa "buen potencial ecológico", dentro de la euro-¿Directiva marco sobre el agua de maní? Contaminación de marzo. Toro. 54, 1559–1564.https:// doi.org/ 10.1016/j.marpolbul.2007.09.002.
- Bowie, GL, Mills, WB, Porcella, DB, Campbell, CL, Pagenkopf, JR, Rupp, GL, Jhonson, KM, Chan, PW, Gherini, SA, 1985.Formulaciones de tasas, constantes y cinética en el modelado de la calidad del agua superficial. EPA/600/3-85/040 Junio 455 págs.
- Brinkman, SF, Woodling, JD, Vajda, AM, Norris, DO, 2009. Toxicidad crónica del amoníaco a la trucha arcoíris en etapa temprana de vida. Trans. Soy. Pez. Soc. 138, 433–440.https://doi.org/ 10.1577/t07-224.1.
- Burton, W., Weisberg, S., Jacobson, P., 1992.Rep. Presentación a la cuenca de Delaware Fish Wildl. Administrar Cooperativa. Trenton, Nueva Jersey. Efectos de arrastre del dragado hidráulico de mantenimiento en el estuario del río Delaware sobre el ictioplancton de lubina rayada.
- Caballero, I., Navarro, G., Ruiz, J., 2018. Evaluación multiplataforma de plumas de turbidez durante las operaciones de dragado en un importante sistema estuarino. En t. Aplicación J. Observación de la Tierra Geoinf. 68, 31–41.https://doi.org/10.1016/j.jag.2018.01.014.
- Caille, N., Tiffreau, C., Leyval, C., Morel, JL, 2003. Solubilidad de metales en un sedimento anóxico durante la aireación prolongada. ciencia Entorno Total. 301, 239–250.https://doi.org/ 10.1016/ S0048-9697(02)00289-9.
- Chen, C., Kong, M., Wang, YY, Shen, QS, Zhong, JC, Fan, CX, 2020. Eficacia del método de dragado efectos sobre la resuspensión de sedimentos y la liberación de nutrientes a través de la interfaz sedimento-agua en el lago taihuChina. 27, 25861–25869.https://doi.org/10.1007/s11356-019-06192-w.

- Collin, SP, Hart, NS, 2015. Visión y fotoentrenamiento en peces: los efectos de la y perturbaciones antropogénicas. Integrar Zool. 10, 15–28.https://doi.org/10.1111/ 1749-4877.12093.
- Dang, DH, Layglon, N., Ferretto, N., OmanoviC, D., Mullot, JU, Lenoble, V., Mounier, S., Garnier, C., 2020. Procesos cinéticos de removilización de cobre y plomo durante la resuspensión de sedimentos marinos contaminados. ciencia Entorno Total. 698.https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134120.
- Day, JW, Hall, CAS, Kemp, WM, Yanez-Arancibia, A., 2013. Ecología estuarina. Estuar. Ecol.https://doi.org/10.2307/2937399.
- Desmit, X., Vanderborght, JP, Regnier, P., Wollast, R., 2005. Control of phytoplankton producción por forzamiento físico en un estuario bien mezclado y fuertemente mareado. Biogeociencias 2, 205-218.https://doi.org/10.5194/bg-2-205-2005.
- Díez-Minguito, M., de Swart, HE, 2020. Relaciones entre clorofila-a y concentración de sedimentos suspendidos en un estuario de alta carga de nutrientes: un enfoque de modelado observacional e idealizado. J. Geophys. Res. Océano. 125, núm.https://doi.org/10. 1029/2019/C015188.
- Díez-Minguito, M., Baquerizo, A., Ortega-Sánchez, M., Navarro, G., Losada, MA, 2012. Marea transformación en el estuario del Guadalquivir (SO de España) y zonificación por procesos. J. Geophys. Res. Océano. 117, 1–14.https://doi.org/10.1029/2011JC007344.
- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, JE, García-Asencio, I., Miró, JM, Megina, C., García-Gómez, JC, 2018. Impactos del dragado de mantenimiento en un estuario muy tensionado (estuario del Guadalquivir): un enfoque BACI a través de hábitas oligohalinos y polihalinos. Mar. Medio Ambiente. Res. 140, 455-467.https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012. Drabble, R., 2012a. Arrastre proyectado de peces como resultado del dragado de agregados. Mar.
- contaminar Toro. 64, 373–381.https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.10.033. Drabble, R., 2012b. Monitoreo de la población de peres bentónicos en las áreas de dragado del Canal Este v
- sus implicaciones. Contaminación de marzo. Toro. 64, 363–372.https://doi.org/10.1016/j.marpolbul. 2011.10.035.
- Drake, P., Arias, AM, Baldó, F., Cuesta, JA, 2002. Variación espacial y temporal de la nekton e hiperbentos de un estuario europeo templado con entrada de agua dulce regulada. Estuarios 25, 451–468.https://doi.org/10.1007/BF02695987. Drake, P.,
- Borlán, A., González-Ortegón, E., Baldó, F., Vilas, C., Fernández-Delgado, C., 2007. Distribución espacio-temporal de las primeras etapas de vida de la anchoveta europea Engraulis encrasicolus L. Dentro de un estuario templado europeo con afluencia regulada de agua dulce: efectos de las variables ambientales. J. Pescado Biol. 70, 1689–1709.https:// doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01433.x.
- Eddy, FB, 2005. Amoniaco en estuarios y efectos sobre los peces. J. Pescado Biol. 67, 1495–1513. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2005.00930.x.
- Eggleton, J., Thomas, KV, 2004. Una revisión de los factores que afectan la liberación y la biodisponibilidad idad de los contaminantes durante los eventos de perturbación de sedimentos. Reinar. En t. 30, 973– 980. https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.03.001.
- Elliott, M., Quintino, V., 2007. La paradoja de la calidad estuarina, homeostasis ambiental y la dificultad de detectar estrés antropogénico en áreas naturalmente estresadas. Contaminación de marzo. Toro. 54, 640–645.https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.02.003
- . Elliott, M., Day, JW, Ramachandran, R., Wolanski, E., 2019. Una síntesis: cuál es el futuro para costas, estuarios, deltas y otros hábitats de transición en 2050 y más allá? En: Wolanski, E., John, W., Michael, E., Ramesh, R. (Eds.), Costas y estuarios. El futuro. Elsevier Inc., pág. 729 https://doi.org/10.1016/b978-012-814003-1.00001-0 Erftemeijer, PLA, Lewis, RR, 2006. Impactos ambientales del dragado en pastos marinos: un
- revisión. Contaminación de marzo. Toro. 52, 1553–1572.https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006. 09.006.
- Fetters, KJ, Costello, DM, Hammerschmidt, CR, Burton, GA, 2016. Efectos toxicológicos de resuspensión a corto plazo de sedimentos marinos y de agua dulce contaminados con metales. Reinar. Toxicol. química 35, 676–686.https://doi.org/10.1002/etc.3225. González-
- Ortegón, E., Drake, P., 2012. Efectos de los aportes de agua dulce en el trófico inferior niveles de un estuario templado: ¿forzamiento físico, fisiológico o trófico? agua ciencia 74, 455–469.https://doi.org/10.1007/s00027-011-0240-5.
- González-Ortegón, E., Subida, MD, Cuesta, JA, Arias, AM, Fernández-Delgado, C., Drake, P., 2010. El impacto de los eventos de turbidez extrema en la función de vivero de un estuario europeo templado con entrada de agua dulce regulada. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 87, 311–324.https://doi.org/10.1016/j.ecss.2010.01.013.
- González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A., Cuesta, JA, Fernández-Delgado, C., Vilas, C., Drake, P., 2014. Efectos de la escasez de agua dulce en la macrofauna acuática de un estuario de clima mediterráneo europeo. ciencia Entorno Total. 9, 503–504.https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.020.
- González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A., Cuesta, JA, Fernández-Delgado, C., Vilas, C., Drake, P., 2015. Efectos de la escasez de agua dulce en la macrofauna acuática de un estuario de clima mediterráneo europeo. ciencia Entorno Total. 9, 503–504.https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.020.
- González-Ortegón, E., Laiz, I., Sánchez-Quiles, D., Cobelo-García, A., Tovar-Sánchez, A., 2019. Caracterización de metales traza y fundentes desde las rías de guadiana, tintoodiel y Guadalquivir hasta el golfo de Cádiz. ciencia Entorno Total. 650, 2454–2466. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.290.
- Goossens, H., Zwolsman, JJG, 1996.Una evaluación del comportamiento de los contaminantes durante actividades de dragado. Terra Aqua 62, 20–28.
- Grasshoff, K., Kremling, K., Ehrhardt, M., 2007. Métodos de análisis de agua de mar. Tercero, Edición Completamente Revisada y Ampliada.https://doi.org/10.1002/9783527613984
- . Halpern, BS, Walbridge, S., Selkoe, KA, Kappel, CV, Micheli, F., D'Agrosa, C., Bruno, JF, Casey, KS, Ebert, C., Fox, HE, Fujita, R., Heinemann, D., Lenihan, HS, Madin, EMP, Perry, MT, Selig, ER, Spalding, M., Steneck, R., Watson, R., 2008. Un mapa global del impacto humano en los ecosistemas marinos. Ciencia 319, 948–952.https://doi.org/10.1126/ciencia.114934580.
- Haynes, D., Johnson, JE, 2000. Organoclorados, metales pesados e hidrocarburos poliaromáticos concentraciones de contaminantes en el entorno de la gran barrera de coral (Australia): una revisión. Contaminación de marzo. Toro. 41, 267–278.https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00134-X.

- Hoffmann, E., Dolmer, P., 2000. Efecto de las áreas cerradas en la distribución de peces y epibentos. CIEM J. Mar. Sci. 57, 1310-1314.https://doi.org/10.1006/jmsc.2000.0921. Jabusch,
- T., Melwani, A., Ridolfi, K., Connor, M., 2008.Efectos de la calidad del agua a corto plazo Impactos debido al dragado y eliminación de especies de peces sensibles en la Bahía de San Francisco. San Padre Estuario Inst. Ing. del Cuerpo del Ejército de EE. UU. San Padre Dist. Tomás.
- Jezierska, B.,Ługowska, K., Witeska, M., 2009. Los efectos de los metales pesados en embriones desarrollo de los peces (una revisión). Fisiol de pescado. Bioquímica 35, 625–640.https://doi.org/ 10.1007/s10695-008-9284-4.
- Jonas, PJC, Millward, GE, 2010. Metales y nutrientes en el estuario del Severn y Bristol Canal: entradas y distribuciones contemporáneas. Contaminación de marzo. Toro. 61, 52–67. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.12.013.
- Jones, R., Fisher, R., Stark, C., Ridd, P., 2015. Patrones temporales en la calidad del agua de mar de dragado en ambientes tropicales. PLoS Uno 10.https://doi.org/10.1371/journal. teléfono.0137112.
- Jones, R., Bessell-Browne, P., Fisher, R., Klonowski, W., Slivkoff, M., 2016. Evaluación de la impactos de sedimentos del dragado sobre los corales. Contaminación de marzo. Toro. 102, 9–29. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.10.049.
- Jones-Lee, A., Lee, GF, 2005. Aspectos de la calidad del agua en la gestión de sedimentos dragados. Ciclo de aguahttps://doi.org/10.1002/047147844x.wq1507.
- Kjelland, ME, Woodley, CM, Swannack, TM, Smith, DL, 2015. Una revisión del potencial Efectos de los sedimentos suspendidos en los peces: posibles implicaciones fisiológicas, conductuales y transgeneracionales relacionadas con el dragado. Reinar. sist. 35 de diciembre, 334-350.https:// doi.org/10.1007/s10669-015-9557-2.
- Lavolpe, M., López Greco, L., Kesselman, D., Rodríguez, E., 2004. Toxicidad diferencial de cobre, zinc y plomo durante el desarrollo embrionario de chasmagnathus granulatus (Brachyura, varunidae). Reinar. Toxicol. química 23, 960–967.https://doi.org/ 10.1897/02-645.
- Lenth, R., 2018.emmeans: Medias marginales estimadas, también conocidas como Medias de mínimos
- cuadrados. Losada, MA, Díez-Minguito, M., Reyes-Merlo, MA, 2017. Interacción mareal-fluvial en el Estuario del río Guadalquivir: respuesta espacial y dependiente de la frecuencia de las corrientes y niveles de agua. J. Geophys. Res. Océano. 122, 847–865.https://doi.org/10.1002/ 2016JC012264.Recibido.
- Lotze, HK, Lenihan, HS, Bourque, BJ, Bradbury, RH, Cooke, RG, Kay, MC, Kidwell, SM, Kirby, MX, Peterson, CH, Jackson, JBC, 2006. Degradación por agotamiento y potencial de recuperación de estuarios y mares costeros. 10.1126/ciencia.1128035 Ciencia 80 (312), 1806– 1809.https://doi.org/10.1126/science.1128035.
- Maddock, JEL, Carvalho, MF, Santelli, RE, Machado, W., 2007. Contaminant metal be-Comportamiento durante la resuspensión de sedimentos estuarinos sulfurosos. Contaminación del suelo del aire del agua. 181, 193-200.https://doi.org/10.1007/s11270-006-9290-z.
- Magris, RA, Ban, NC, 2019. Un metanálisis revela patrones globales de efectos de sedimentos sobre la biodiversidad marina. globo Ecol. Biogeogr. 28, 1879–1898.https://doi.org/10. 1111/ qeb.12990.
- Mainstone, CP, Parr, W., 2002. Fósforo en los ríos: ecología y gestión. ciencia Total Reinar. 282–283, 25–47.https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00937-8. Martin, TR, Holdich,
- DM, 1986. La toxicidad letal aguda de los metales pesados para el peracárido crustáceos (con especial referencia a los asélidos y gammaridos de agua dulce). Agua Res. 20, 1137-1147.https://doi.org/10.1016/0043-1354(86)90060-6. Mendiguchía, C.,
- Moreno, C., García, M., 2007. Evaluación de influencias en el río Guadalquivir (España) por metales pesados disueltos y nutrientes. Quimiosfera 69, 1509-1517.https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.082. Miró,
- JM, Megina, C., Donázar-Aramendía, Í., Reyes-Martínez, MJ, Sánchez-Moyano, E., García-Gómez, JC, 2020. Factores ambientales que afectan a la función de vivero de peces en los principales estuarios del golfo de Cádiz (suroeste peninsular). ciencia Entorno Total. 737, 139614.https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139614. Ohata,
- R., Masuda, R., Ueno, M., Fukunishi, Y., Yamashita, Y., 2011. Efectos de la turbidez en Supervivencia de larvas de ayu y dorada expuestas a la depredación por jurel y medusa luna. Pez. ciencia 77, 207–215.https://doi.org/10.1007/s12562-010-0320-9.
- Ponti, M., Pasteris, A., Guerra, R., Abbiati, M., 2009. Impactos del canal de mantenimiento dragado en una laguna costera del norte del Adriático. II: efectos sobre conjuntos macrobentónicos en canales y estanques. Estuar. Costa. Estante de ciencia. 85, 143–150. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2009.06.027.
- Rainbow, PS, 2007. Bioacumulación de metales traza: modelos, disponibilidad metabólica y toxicidad. ciudad Reinar. En t. 33, 576–582.https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.007.

- Rehitha, TV, Ullas, N., Vineetha, G., Benny, PY, Madhu, NV, Revichandran, C., 2017. pacto de dragado de mantenimiento en la estructura de la comunidad macrobentónica de un estuario tropical. Costa del Océano. Administrar 144, 71–82.https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2017.04. 020.
- Reine, K., Clarke, D., 1998.Arrastre por dragas hidráulicas: una revisión de las posibles mejoras pactos Tecnología DOER. Recopilación de notas. 1–14.
- Reine, KJ, Dickerson, DD, Clarke, DG, 1998. Ventanas ambientales asociadas con operaciones de dragado. Ing. del Cuerpo del Ejército de EE. UU. Ing. Res. desarrollo Centro, Vicksburg, MS, Tecnología. Nota DOER-E1, pp. 1–14.
- Reine, KJ, Clarke, D., Dickerson, C., 2014. Caracterización de sonidos subacuáticos proproducidos por operaciones de dragado hidráulico y mecánico. J. Acústica. Soc. Soy. 135, 3280–3294.https://doi.org/10.1121/1.4875712.
- Riba, I., DelValls, TA, Forja, JM, Gómez-Parra, A., 2002. Influencia del min-Derrame significativo sobre la distribución vertical de metales pesados en sedimentos del estuario del Guadalquivir (SO de España). Contaminación de marzo. Toro. 44, 39–47.https://doi.org/10.1016/ S0025-326X(01)00171-0.
- Roberts, DA, 2012. Causas y efectos ecológicos de los sedimentos contaminados resuspendidos (RCS) en ambientes marinos. Reinar. En t. 40, 230–243.https://doi.org/10.1016/j. envint.2011.11.013.
- Ruiz, J., Polo, MJ, Díez- Minguito, M., Navarro, G., Morris, EP, Huertas, E., Caballero, I., Contreras, E., Losada, MA, 2015. El estuario del Guadalquivir: foco de conflictos ambientales y humanos. Gestión y Gobernanza Ambiental. Biblioteca de investigación costera, págs. 199-232https://doi.org/10.1007/978-3-319-06305-8. Simonini, R., Ansaloni, I., Cavallini, F., Graziosi, F., Iotti, M., Massamba N'Siala, G., Mauri, M.,
- Montanari, G., Preti, M., Prevedelli, D., 2005. Efectos del vertido a largo plazo de material dragado en puertos sobre macrozoobentos en cuatro vertederos a lo largo de la costa de Emilia-Romaña (Mar Adriático del Norte, Italia). Contaminación de marzo. Toro. 50, 1595– 1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.031.
- R Core Team, 2018. Un lenguaje y entorno para la computación estadística. Fundación R para la Computación Estadística.https://www.R-project.org/.
- Tornero, V., Arias, AM, Blasco, J., 2011. Tras el vertido tóxico de Aznalcóllar. Reinar. Res. 111, 1033–1036.https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.07.011.
- Tornero, V., Arias, AM, Blasco, J., 2014. Contaminación por oligoelementos en el Guadalquivir Estuario del río diez años después del vertido de la mina de Aznalcóllar. Contaminación de marzo. Toro. 86, 349-360. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.044.
- Torres, RJ, Abessa, DMS, Santos, FC, Maranho, LA, Davanso, MB, do Nascimento, MRL, Mozeto, AA, 2009. Efectos de las operaciones de dragado en la calidad de los sedimentos: Movilización de contaminantes en sedimentos dragados del Puerto de Santos, SP, Brasil. J. Suelos Sedimentos 9, 420–432.https://doi.org/10.1007/s11368-009-0121-x.
- Tsolaki, E., Diamadopoulos, E., 2010. Tecnologías para el tratamiento del agua de lastre: una revisión. J. Chem. Tecnología Biotecnología. 85, 19–32.https://doi.org/10.1002/jctb.2276.
- Van Den Berg, GA, Meijers, GGA, Van Der Heijdt, LM, Zwolsman, JJG, 2001. Dragadomovilización relacionada de metales traza: un estudio de caso en los Países Bajos. Agua Res. 35, 1979–1986.https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00452-8.
- Wenger, AS, Harvey, E., Wilson, S., Rawson, C., Newman, SJ, Clarke, D., Saunders, BJ, Browne, N., Travers, MJ, Mcilwain, JL, Erftemeijer, PLA, Hobbs, JPA, Mclean, D., Depczynski, M., Evans, RD, 2017. Un análisis crítico de los efectos directos del dragado en los peces. Pescado Pescado. 1–19.https://doi.org/10.1111/faf.12218.
- Wenger, AS, Rawson, CA, Wilson, S., Newman, SJ, Travers, MJ, Atkinson, S., Browne, N., Clarke, D., Depczynski, M., Erftemeijer, PLA, Evans, RD, Hobbs, JPA, McIlwain, JL, McLean, DL, Saunders, BJ, Harvey, E., 2018. Estrategias de gestión para minimizar los impactos del dragado en la costa el desarrollo de los peces y la pesca. Conservar Letón. 11, 1–10.https:// doi.org/10.1111/conl.12572.
- Wilber, DH, Clarke, DG, 2001. Efectos biológicos de los sedimentos en suspensión: una revisión de impactos de sedimentos en suspensión sobre peces y mariscos en relación con las actividades de dragado en los estuarios. am del norte J. Pescado. Administrar 21, 855-875.https://doi.org/ 10.1577/1548-8675(2001)021<0855:beossa>2.0.co;2.

Winterwerp, JC, Wang, ZB, 2013. Cambios de régimen inducidos por el hombre en estuarios pequeños - I: elory Océano Dyn. 63, 1279–1292.https://doi.org/10.1007/s10236-013-0662-9. Yap, WY, Lam, JSL, 2013. ¿Puerto de contenedores de 80 millones de unidades equivalentes a veinte pies? Sus-

problemas de sustentabilidad en el desarrollo portuario y costero. Costa del Océano. Administrar 71, 13-25. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2012.10.011. Contents lists available at ScienceDirect





### Science of the Total Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv

# Effects of maintenance dredging on the macrofauna of the water column in a turbid estuary



### J.M. Miró<sup>a,\*</sup>, C. Megina<sup>b</sup>, I. Donázar-Aramendía<sup>a</sup>, J.C. García-Gómez<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain <sup>b</sup> Biodiversidad y Ecología Acuática, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain

#### HIGHLIGHTS

#### GRAPHICAL ABSTRACT

- Organisms can suffer entrainment by the trailer suction, especially epibenthic ones.
- Dredger action homogenized most physiochemical variables in the water column.
- Metal concentration of Cr, Fe y Zn increased in the water column after dredging.
- Effects of this dredging were similar or less than other natural ones (e.g. freshets).

#### A R T I C L E I N F O

Article history: Received 5 July 2021 Received in revised form 7 October 2021 Accepted 24 October 2021 Available online 29 October 2021

Editor: Daniel Wunderlin

Keywords: Dredging Macrofauna Plankton Hyperbenthos Water column Metals



#### ABSTRACT

Many human activities in or near aquatic habitats generate alterations in their environmental conditions, which could affect the organisms that inhabit them. Maintenance dredging of navigation channels in order to allow large ships access to inland ports is one such source of disturbance. In this study, by taking multiple approaches (immediate-, short- and medium term), we analysed the effects of a maintenance dredging operation on physiochemical variables and the early life stages of fish and other macrofauna groups present in two zones of the Guadalquivir estuary with different salinity ranges (poly- and mesohaline). Most physiochemical variables were homogenized in the water column immediately after the water mass passed by the dredger, including sediment resuspension. However, this process seemed to be transient as no significant increments in the depthaveraged levels of turbidity were observed in the short- and medium-terms. Instead, metal concentrations of Cr, Fe and Zn increased in the polyhaline station. Even so, these perturbations did not appear to be severe enough to influence the macrofauna. Still, organisms can suffer direct mechanical impacts of the trailer suction. Hyperbenthic species, like Pomatoshcistus spp. or decapods, tended to decrease slightly, while pelagic species such as Engraulis encrasicolus or mysids did not, indicating that benthic organisms are usually more susceptible to high entrainment. Nonetheless, the possible effects of this disturbance were of the same order or less than those of natural ones; therefore, organisms of the macrofauna could be well adapted to cope with them. © 2021 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http:// creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

#### 1. Introduction

\* Corresponding author. *E-mail address:* jmmiro@us.es (J.M. Miró). Many human activities in or near aquatic habitats generate alterations in their environmental conditions, which could affect the organism that inhabit them (Halpern et al., 2008; Lotze et al., 2006). Capital

https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151304

0048-9697/© 2021 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

dredging of navigation channels in order to reclaim land and to allow ever larger ship access to inland waterways is one such source of disturbance. Adverse effects of dredging operations in coastal systems have generally included habitat degradation, increased turbidity and suspended sediment, tidal amplification, altered current dynamics, changes in salinity and water quality etc. (e.g. Torres et al., 2009; Wilber and Clarke, 2001; Winterwerp and Wang, 2013). On the other hand, periodic maintenance dredging operations are necessary to maintain the appropriate bottom depth of the navigable channels. These recurrent dredging activities may have serious repercussions on the coastal environment, although to a lesser extent than capital dredging, since they may also alter the bottom topography, resuspend sediments, release pollutants, modify the water column and lead to the removal of a stable substrate (Donázar-Aramendía et al., 2018; Jones et al., 2015; Rehitha et al., 2017). The container port industry has experienced phenomenal growth along the past decades since the era of containerization, where shipping currently moves over 80% of world's commodities (Tsolaki and Diamadopoulos, 2010; Yap and Lam, 2013). The growth of world trade will increase the number of ships and their capacities, which consequently require extensive dredging services in coastal areas to reach ports (Yap and Lam, 2013).

Coastal ecosystems are among the most ecologically and economically important worldwide (Barbier et al., 2011). In particular, estuaries are sites of important connectivity and intense gradients that make them highly productive ecosystems with an essential nursery function for many species (Elliott et al., 2019). At the same time, they are dynamic and complex systems where high variability of the physicalchemical gradients makes them one of the most stressful aquatic environments for aquatic fauna (González-Ortegón et al., 2010, 2015). The constant fluctuation of environmental characteristics such as temperature, turbidity, oxygen and salinity due to tidal dynamics and freshwater inputs results in singular communities inhabiting these ecosystems (Day et al., 2013). Therefore, alterations in these ecosystems that occur due to anthropic disturbances could be difficult to distinguish from natural changes (Elliott and Quintino, 2007). Achieving an accurate assessment of anthropic impacts is necessary to improve the management of coastal development while maintaining a balance with a 'good ecological status' of the coastal environment (Borja and Elliott, 2007).

Impacts on benthic communities as a consequence of dredging have been documented in numerous studies (e.g. Bemvenuti et al., 2005; Donázar-Aramendía et al., 2018; Ponti et al., 2009). However, organisms that inhabit the water column, such as plankton or fishes, remain largely unquantified. Although dredging often has more repercussions on benthic communities due to the relative immobility of organisms (Simonini et al., 2005), extensive literature has demonstrated that dredging can directly impact fishes (Kjelland et al., 2015; Wenger et al., 2017) and their associated habitats (Erftemeijer and Lewis, 2006; Jones et al., 2016). Many studies have analysed the different effects of increased suspended sediment on behaviour (Collin and Hart, 2015), predation (Ohata et al., 2011) and physiology (Au et al., 2004); other investigations observed the effect of released contaminants such as metals or hydrophobic organic pollutants (Haynes and Johnson, 2000); some of them researched the entrainment of fish in different life-history stages (Reine et al., 1998); and a few studies assessed the dredging sounds (Reine et al., 2014). Notwithstanding, most of these studies were carried out in the laboratory under controlled environments, whereas in situ investigations are very scarce. The methodology to assess the real impacts over the organisms that inhabit in the water column are usually difficult to apply in the field due to the continuous changes in multiple variables such as current dynamics, tidal conditions, the salinity gradient, mobility of the organisms etc.

Recent studies show that adult fish are more likely to undergo sublethal stress from dredging operations rather than lethality because of their ability to move away from or out of an area of higher impact to one of lower impact (Wenger et al., 2018). However, larvae and eggs are subject to lethal impacts more frequently due to their lower mobilities (Wenger et al., 2018), as are small individuals of macrozooplankton or hyperbenthos (Hoffmann and Dolmer, 2000). For this reason, early life stages of fishes or plankton could be more sensitive and may show more clearly the impacts of dredging in species that inhabit the water column.

Our in situ study aimed to determine different effects on small organisms that inhabit the water column, such as early life stages of fish, macrozooplankton and hyperbenthos species, during a maintenance dredging operation in different zones of an estuary with a horizontal salinity gradient, which is considered one of the most important coastal areas of the region for its nursery function (Miró et al., 2020). Two temporal aims were proposed: i) to analyse the immediate effects of a working trailer suction dredger on the physiochemical variables and macrofauna species present in the water column and ii) to analyse the accumulated short- and medium-term effects of a maintenance dredging operation on the physiochemical variables and main macrofauna species present in the water column of two zones with different salinity ranges.

#### 2. Material and methods

#### 2.1. Study area

The Guadalquivir estuary is located in the south-west of the Iberian Peninsula, a warm temperate region, and its waters flow into the Gulf of Cadiz (Atlantic Ocean). The estuary extends 110 km inland from its mouth. It is a well-mixed mesotidal system with a 3.5-m amplitude range (spring tides) in the river mouth (Díez-Minguito et al., 2012), which presents a longitudinal salinity gradient with temporal displacement by tides, discharges and seasonal variations (González-Ortegón et al., 2014). The morphology of the estuary is a single channel mostly isolated from surrounding natural areas, with a main navigable channel of 7.1 m average depth, which is dredged every one or two years to guarantee the navigation depth (Ruiz et al., 2015). In autumn 2017, a maintenance dredging operation was carried out in several zones of the estuary. The dredging work was performed by a trailer suction dredge. Our study was focused on two dredging zones (Fig. 1), one in the polyhaline water mass and the other in the mesohaline water mass. Approximately 19,600 and 20,500 m<sup>3</sup> of dredged material was extracted in each zone, respectively, and dredging was carried out for 15 days (18-11-2017 to 3-12-2017).

#### 2.2. Field sampling

To analyse the immediate effect on the whole water column, biological samples were collected against the main water current, before (in front of the bow) and after (behind the stern) the water mass would have passed the dredging vessel while it was working, at three different moments (Fig. 2). Samples of physiochemical variables were also collected. To analyse the short- and medium-term cumulative effects, biological and physiochemical samples were collected in three cruises before, five cruises during and three cruises after the dredging with four samples in every zone. In order to analyse the intra-seasonal trends in abundances of the main organisms found in the estuary, comparisons of a monthly monitoring sampling were performed in the same zones using the same periods of the two years prior to 2017. As this study was carried out during a monthly monitoring program in the same zones from 2015 to 2018, samples from similar periods (autumn) were used for comparison of the biological trends. No dredging operations were carried out in 2015, which was used as the natural trend, while a similar dredging operation was performed in 2016, which was used for comparison with the effects of 2017.

Biological samples were collected with a plankton net of 1 m diameter and 1 mm mesh size equipped with a General Oceanics 2030R flow meter. Oblique tows of 10 min (305  $\pm$  46 m<sup>3</sup>; mean  $\pm$  SD) were



Fig. 1. Study area of Guadalquivir estuary with dredging zones.

performed with a boat against the water current at a speed of 2–2.5 knots. Samples were fixed in 70% ethanol. The early fish stages and the rest of the macrofauna groups were sorted. Fishes were counted and, whenever possible, identified to the species level. The rest of the macrofauna were quantified as biomass per group (mysids, decapods and isopods) being blotted dry and wet-weighted with a balance (0.01 g).

Physiochemical profiles of the whole water column were recorded before every plankton tow with a multiprobe (depth, temperature, salinity, turbidity, dissolved oxygen concentration [DO], pH and chlorophyll-a concentration [Chla]; Eureka<sup>™</sup> Manta2).

Water samples were taken at mid-depth with a Niskin bottle to measure the concentrations of total suspended solids (TSS), inorganic nutrients (NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub>, SiO<sub>4</sub>) and metals (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe,

Ni, Pb, Zn). To measure TSS, water was filtered through 0.7 µm pore pre-combusted (4 h, 500 °C) filters (Whatman GF/F); thereafter, filters were dried (24 h, 60 °C) and weighed. Suspended organic (SOM) and inorganic matter (SIM) were obtained as weight loss by ignition (500 °C, 4 h). Concentrations of NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub> and SiO<sub>4</sub> were determined in filtered (0.7 µm) water samples, in a segmented flow autoanalyzer (Skalar,  $San^{Plus}$ ) based on classic spectrophotometric methods (Grasshoff et al., 2007). The accuracy was  $\pm 0.08 \ \mu\text{M}$  for nitrate,  $\pm$ 0.002  $\mu$ M for nitrite,  $\pm$ 0.03  $\mu$ M for ammonium,  $\pm$ 0.03  $\mu$ M for silicate and  $\pm 0.03 \ \mu\text{M}$  for phosphate. Analysis of metal concentrations in water samples was determined by ICP-OES (Varian ICP 720-ES) equipped with ultrasonic nebulizer CETAC U5000AT+ after filtration through Nylon filters (pore size  $= 0.45 \,\mu m$ ) and acidification with 2% HNO<sub>3</sub> (30%). Water samples acidified were stored one month before extraction. Calibration and Quality Control (QC) solutions were prepared from an ICP multi-element standard solution IV Certipur obtained from Merck and Spectrascan certified reference solution from LGC Standards GmbH (Wesel, Germany). The accuracy of the analytical methods was assessed through reference water sample (TR-434 Trace of metals in drinking water) from INTER 2000 Program (Trace Elements in EstuarineWater CRM 505 No. 048). The recoveries were 89.2-109.4% for all the metals. The differences in metal concentrations between analysed and certified values were generally <10%.

#### 2.3. Data analysis

To investigate the effects of the dredging operation on the different variables measured, generalized linear mixed models (GLMMs) were applied using 'Lme4' (Bates et al., 2015). Different experimental designs were run for every approach.

- In the immediate approach, models were applied to the most abundant (>2% of total) fish species and main macrofauna groups caught. The normal distribution was the best fit for biomass of macrofauna groups, and the Poisson distribution for count data of fish species with the log of filtered volume as an offset variable. If the model showed high overdispersion (>2), a negative binomial distribution was applied instead of the Poisson distribution. The experimental design included two factors: one fixed factor 'Moment' (with two levels, 'Before and After') and one random factor 'Cruise' (with three levels, '1, 2 and 3').
- 2) In the short- and medium-term approach, models were applied to the most abundant fish species and macrofauna groups, as well as all environmental variables measured for every zone (polyhaline and mesohaline) separately. The normal distribution was the most adequate for most of the response variables, except for counts of fish species abundances, for which we used a negative binomial



Fig. 2. Experimental design for analysis of the immediate effects in the water column before and after the water mass passed by the working dredger.

distribution and the log of the filtered volume as an offset variable. The experimental design included two factors: one fixed factor 'Period' (with three levels, 'Before, During and After') and one random factor nested within Period 'Cruise' (within three levels Before, five levels During and three levels After). If the Period factor was significant, a post hoc pairwise comparison between levels was performed using the package 'emmeans' (Lenth, 2018).

Generalized additive models (GAMs) were fitted for depth profiles of physiochemical variables recorded with the multiprobe. As GLMMs uses a single value of every predictor variable for every value of the response variable, predicted values of GAMs were depth averaged to obtain a single value representative of the complete water column. The results for all variables were plotted by zone using the package 'ggplot2'. Analyses were performed using the R 3.5.2 software (R Core Team, 2018).

Additionally, daily mean discharge from Alcalá del Río Dam during the whole study period was observed to analyse the influence of freshwater input (data provided by Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, http://www.chguadalquivir.es/saih/DatosHistori-cos.aspx) on the environmental variables measured.

#### 3. Results

#### 3.1. Immediate effects

#### 3.1.1. Environmental analysis

Profiles of the different environmental variables recorded with the multiprobe are plotted in Fig. 3. A general pattern was found after dredging for chlorophyll, turbidity and salinity variables, which consisted of a homogenization of the whole water column with similar values at the surface to those at the bottom. Only dissolved oxygen

showed the inverse tendency, with higher values at the surface after dredging. The pH maintained homogeneous values at both moments, similar to those of temperature, except in cruise 1.

#### 3.1.2. Biological analysis

The fish species found were Engraulis encrasicolus (45.6%), Pomatoschistus spp. (44.9%), Aphia minuta (2.9%), Pomadasys incisus (2.3%), Solea senegalensis (2.2%), Sardina pilchardus (1.1%), Argyrosomus regius (0.5%), Anguilla anguilla (0.3%) and Gobius paganellus (0.2%). Among the rest of the macrofauna groups, mysids were the most abundant (77.9%; e.g. Rhopalophthalmus tartessicus, Mesopodopsis slabberi and Neomysis integer), followed by decapods (17.4%; e.g. Palaemon spp. and Crangon crangon) and isopods (4.6%; e.g. Synidotea laticauda and Lekanesphaera rugicauda).

Species showed different responses after the water mass passed by the dredger, although the variations between moments hindered the discovery of clear patterns (Fig. S.1). Only the mysids and *Solea senegalensis* showed significant differences, increasing in all cruises (Table 1). Also, the anchovy *Engraulis encrasicolus* tended to increase. In contrast, decapods, *Pomatoschistus* spp., *Aphia minuta* and *Pomadasys incisus* tended to decrease. Isopods maintained stable densities in front of and behind the dredge.

#### 3.2. Short- and medium-term effects

#### 3.2.1. Environmental analysis

The duration of the study was 81 days between the first and the last cruise, and different temporal patterns were observed in the different physiochemical variables. Statistically significant differences in the fixed effect 'Period' from GLMM on all variables are summarized in the plots by letter codes and extended in Table S.1.1. Daily mean freshwater input into the estuary (Fig. 4A) increased (discharges higher than 50



Fig. 3. Vertical profiles of the environmental variables (A: chlorophyll; B: turbidity; C: Dissolved oxygen; D: Temperature; E: pH; F: Salinity) before (solid line) and after (dashed line) the water mass passed by the working dredger during the three different cruises.

#### J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

#### Table 1

Results of the fixed effect "Moment" for GLMM on the main early fish species (count data) and macrofauna groups (biomass data) of the immediate approach. Level "Before" was used as the intercept to calculate estimates.

	Estimate	SE	z value	p value
Engraulis encrasicolus	$0.395 \\ -0.289 \\ -0.369 \\ -0.36 \\ 1.778$	0.205	1.924	0.054
Pomatoschistus spp.		0.405	-0.714	0.475
Aphia minuta		0.492	-0.75	0.453
Pomadasys incisus		1.195	-0.302	0.763
Solen senegalensis		0.763	2.329	0.019
Solea Solegarolisis	Estimate	SE	t value	p value
Mysids	41.85	10.2	4.103	>0.001
Decapods	-10.17	23.27	0.437	0.662
Isopodos	0.376	1.169	0.322	0.747



**Fig. 4.** Daily mean of freshwater inputs in the Guadalquivir estuary (A) and temporal values of physiochemical variables measured in the water column (turbidity [B], chlorophyll [C], temperature [D], dissolved oxygen [E], pH [F], salinity [G]) and biological (*Engraulis encrasicolus* [H], *Pomatoschistus spp*. [I], mysids [J], decapods [K], isopods [L]). Dashed lines point out the dredging period. Solid lines are smoother models with the loess method for polyhaline (Red) and mesohaline (Blue) zones. Grey shading indicates standard errors. Different letters indicate significant differences (p < 0.05) between levels of the Period factor (before, during and after) from GLMM in every zone (Red letters: polyhaline; Blue letters: mesohaline).

m<sup>3</sup>/s) at the end of the dredging period and thereafter. Turbidity did not show any change during dredging, while its values increased during the post-dredging period, being significant in the polyhaline zone (Fig. 4B). Chlorophyll concentration showed a decrease during the dredging period and a soft recovery thereafter (Fig. 4C). Water temperature decreased gradually from 22.5 °C to 12.5 °C, typical of the autumnwinter transition of temperate regions in the northern hemisphere, although this decline ceased during dredging (Fig. 4D). Dissolved oxygen showed the inverse trend during the study (Fig. 4E), although their values increased more during the dredging period despite the fact that temperature was stable during these dates. The pH increased in both zones during dredging, decreasing to pre-dredging values afterwards (Fig. 4F). Salinity was stable in both zones during the whole study (Fig. 4G), although it tended to decrease after dredging associated with the increment of freshwater input in this period.

TSS, directly correlated with SIM and SOM (Fig. 5A–C), showed the same pattern as turbidity, being the post-dredging period when higher concentrations were found in every zone. Still, the wide range of turbidity levels found in the mesohaline zone did not make this zone significantly different (Table S.1.2). Silicate and nitrite concentrations did not show differences (Fig. 5D–E). Nitrates showed a gradual increment in both zones, with significant differences in the polyhaline zone between all periods (Fig. 5F). Ammonium showed a similar trend, but without significant differences (Fig. 5G). Phosphates did not show any difference in the mesohaline zone, while values measured in the polyhaline zone were higher during dredging, with a partial recovery thereafter (Fig. 5H).

Similar trends between zones were found in the concentration of most metals analysed, although the mesohaline zone did not show significant differences between periods for any of them (Fig. 6 and Tables S.2.1 and S.2.2). As, Cd, Co, Cu and Pb did not show any clear patterns due to variations between replicates (Fig. 6A–D, H). Ni, despite not being significantly different between periods, showed a cumulative trend during the dredging period (Fig. 6G). Cr and Fe started to increase gradually during the dredging and continued in the post-dredging period (Fig. 6D, F). Zn showed the highest relative increment during dredging, with different trends after dredging for the polyhaline zone, in which it decreased slightly, and the mesohaline zone, in which it remained high but with oscillations (Fig. 6I).

#### 3.2.2. Biological analysis

A total of 16 fish species in early life stages were found with two dominant species that comprised more than 90% of the total abundance of the fish assemblage, the anchovy *Engraulis encrasicolus* (58.3%) and the goby *Pomatoschistus* spp. (32.8%). In relation to the rest of the macrozooplankton and hyperbenthos groups, similar species to those described in the immediate approach were found, with mysids showing the highest biomass (76.6%), followed by decapods (17.6%) and isopods (5.3%).

Temporal series of the densities of the most abundant fish species and the rest of the macrofauna are plotted by zone in Fig. 4. A general pattern was observed for most taxa, which showed a wider density variation before and during dredging cruises, as well as a temporal decrease along the whole study. Notwithstanding, distinct responses and significant differences were found between periods for every species (Table S.3). Anchovy and mysids showed similar patterns in both zones, with a marked decrease from the beginning of dredging, especially in polyhaline waters, that continued until the last cruise (Fig. 4H. I). Isopods, goby and decapods did not show differences between periods due to high intra-period variability, although different tendencies were observed (Fig. 4I, K, L). Isopod densities were too low in the polyhaline zone to detect any change along periods, while in the mesohaline zone, its biomass showed a notable descent during dredging in comparison with the last cruise of the period before; also, it showed a partial recovery in the second cruise after dredging, although it did not continue in the next one. Gobies and decapods showed a similar trend, but in opposite zones, with a decrease at the end of the dredging, which also continued in the period after dredging.

Interannual comparison (2015, 2016 and 2017) of *E. encrasicolus*, *Pomatoschistus* spp., and the rest of the macrofauna groups together (the main component was mysids) in every zone are plotted in Fig. 7. Anchovy (Fig. 7A) showed stable densities in the polyhaline zone during the whole period in 2015 and 2016, despite the dredging operation carried out in the latter year. Instead, 2017 presented higher anchovy abundances before dredging, but it decreased during the operation to similar levels as in previous years on the same dates. The densities of anchovies in the mesohaline zone showed a different trend, with a gradual decrease but with oscillations depending on the year. In fact, the natural inter-month variations found in 2015 where higher than those



**Fig. 5.** Boxplot of total suspended solids (A), suspended inorganic matter (B), suspended organic matter (C), SiO<sub>4</sub> (D), NO<sub>2</sub> (E), NO<sub>3</sub> (F), NH<sub>4</sub> (G) and PO4 (H) in every zone. Blue: before dredging; red: during dredging; green: after dredging. Different letters indicate significant differences (*p* < 0.05) between levels of the Period factor from GLMM in every zone.

J.M. Miró, C. Megina, I. Donázar-Aramendía et al.

Science of the Total Environment 806 (2022) 151304



**Fig. 6.** Temporal series of metal concentrations (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn; A-I respectively) in the water column. Dashed lines point out the dredging period. Solid lines are smoother models with the loess method for polyhaline (Red) and mesohaline (Blue) zones. Different letters indicate significant differences (*p* < 0.05) between levels of the Period factor from GLMM in every zone (Red letters: polyhaline; Blue letters: mesohaline). Values lower than limit of detection were plotted as 0.



Fig. 7. Density of *Engraulis encrasicolus* (A) and *Pomatoschistus* spp. (B), and biomass (wet weight) of the rest of the macrofauna (C) during the dredging study (2017) and on similar dates in previous years (2015 and 2016) in every zone. Dashed lines point out the dredging periods: green color is for 2016 and blue for 2017. Solid lines are smoother models with loess method for every year.

observed in years with dredging. The trend of the rest of the macrofauna (Fig. 7C) was similar to that in anchovies in the polyhaline zone, and a gradual decrease was repeated for all years in the mesohaline zone. The goby (Fig. 7B) showed a distinct pattern in both zones in all years, except for the mesohaline zone in 2016, with a progressive increment at the beginning of the studied period that varied between dates, to finally decrease with different slopes.

#### 4. Discussion

Estuaries are ecosystems with wide environmental variations that make it difficult to detect anthropic stress from natural changes, unless the human impact is severe, leading to the 'Estuarine Quality Paradox' (Elliott and Quintino, 2007). In addition, the impossibility of establishing control replicates per zone, due to the absence of polyhaline or mesohaline waters without dredging in the same estuary, makes it necessary to interpret these results with caution. Notwithstanding, the immediate-, short- and medium-term design applied in this study, in addition to interannual comparisons, helped to discriminate different effects of a dredging operation in biological and physiochemical variables of the water column in a highly fluctuating estuary such as Guadalquivir.

Among the physiochemical variables, only DO and pH showed a clear influence of dredging, increasing their levels. These unexpected observations contrast with the general assumption that sediment resuspension releases chemical substances which react with DO, temporally reducing its concentration and acidifying the water (Jones-Lee and Lee, 2005). In this case, observing the stratification of DO in the immediate approach, it is possible that mechanical perturbation, such as by the ship's propeller and/or cavitation, in addition to the action of the trailer arm, could mix the water column with atmospheric air (Bowie et al., 1985), balance the chemical demand of DO and even increase its values. Nonetheless, the DO concentration never reached levels lower than 6 mg/L during the whole study at any depth in both zones, and the pH increased by only 0.1, which did not seem to have a relevant negative effect in well oxygenated waters with low temperatures, as reported by Jabusch et al. (2008).

On the other hand, DO depletion is also associated with persistent high turbidity levels, which reduce light penetration in the water column and limit photosynthetic activity (Desmit et al., 2005). Still, Guadalquivir estuary is considered a turbid system where the primary production in the water column is scarce and constrained to the surface layer (Ruiz et al., 2015). Hence, oxygen production by phytoplankton would be influenced little by a temporal increase in turbidity. Turbidity increase, directly correlated with TSS, has been widely studied as a common effect of dredging operations in coastal areas, which may affect marine biodiversity (Magris and Ban, 2019; Wenger et al., 2017), being able to cause lethal and sublethal impacts in 10% and 20% of fish species, respectively (Wenger et al., 2018). An analysis of surface satellite images showed increments of total suspended solids (1000 mg/L approx.) in plumes during a dredging operation in the upper zones of the same estuary (Caballero et al., 2018). These observations coincided with the immediate profiles recorded after the water mass passed by the working dredger, when the homogenization of the water column increased the turbidity levels on the surface. But surprisingly, we did not detect significant changes in the depth-averaged values of turbidity. The dredging operation must have necessarily increased the suspended sediment and, consequently, the turbidity, but the effect seems to be spatially very local and its persistence temporally short, and we could neither detect significant changes in the short- nor in the medium-term approaches. Nonetheless, turbidity, TSS, SIM and SOM concentration increased after dredging, which seems to be rather associated with higher freshwater inputs in this period. González-Ortegón et al. (2010) reported similar observations during other freshets in the same estuary (up to 700 NTU approx.), describing adverse effects on the estuarine food web at different levels. Increasing exposure to suspended sediment may causes damage to gill tissue and structure, as it is easier to clog the gills and reduce their efficiency in smaller fish and larvae (Au et al., 2004). The Guadalquivir estuary has been considered the most productive and important nursery area in the region in spite of being the most turbid (Miró et al., 2020). The high flows originated by tides and the high chronic turbidity in the Guadalquivir estuary (Losada et al., 2017) could have overshadowed the sediment resuspension effect caused by dredging in our sampling zones; consequently, we could not observe a clear increase nor any direct effect on the species found.

The dynamics of chlorophyll concentration appear to follow a seasonal pattern related to temperature reduction, provided that dredging did not significantly modify turbidity and, consequently, light penetration. However, higher values were observed in the latter cruises while temperature continued decreasing and turbidity increased. These observations could be explained by imports from upstream waters with higher primary production caused by rising freshwater inputs (González-Ortegón and Drake, 2012) and/or a higher resuspension of microphytobenthos from riversides (Díez-Minguito and de Swart, 2020; Miró et al., 2020). Also, nutrients such as nitrate and ammonium, which presented similar tendencies to those of chlorophyll, could be imported due to sewage effluents and nitrification processes from upstream waters close to urban and agricultural areas (Mendiguchía et al., 2007). Different stages of ammonium could be found depending on pH levels, with a higher un-ionized (ammonia [NH<sub>3</sub>]) proportion associated with high pH, which has been considered toxic to fishes (Brinkman et al., 2009). In our case, the changes of pH observed during the dredging could increase the NH<sub>3</sub> proportion by around 0.1-0.2% (poly- and mesohaline zones respectively), which translates to a total concentration of 0.1 µM NH<sub>3</sub> during that period. Therefore, un-ionized ammonia showed levels far below the toxic reference value of 1.16 µM NH<sub>3</sub> (Eddy, 2005). The concentration of phosphate, whose increment is usually attributed to fertilizers via river flow (Mainstone and Parr, 2002), showed changes during dredging in polyhaline waters, although the concentrations reached were lower than the levels found in the mesohaline zone. Globally, we could not clearly assign an increase in inorganic nutrients due to dredging operations.

In contrast, dredging has been primarily related to remobilized metals associated with sediment particles in the water column, which change its environmental conditions and promotes the shift of metals from the particulate in the dissolved state (Van Den Berg et al., 2001; Chen et al., 2020). This phenomenon was even more noticeable in the Guadalquivir estuary given that it received a toxic spill from the Aznalcóllar mine in 1998 (Riba et al., 2002); although 10 years afterwards, studies showed that a decline in the metal contamination in the area was evident (Tornero et al., 2011, 2014). It is known that oxidation of sulphides liberates different heavy metals because the precipitates are degraded (Caille et al., 2003). This phenomenon could be observed in our case for Cr, Fe, Ni and Zn, with a cumulative trend during dredging. However, the oxidation of Fe also causes precipitation of iron-(oxo)hydroxides (Dang et al., 2020), which could form a very strong adsorptive layer on the surface of the new dredged bottom and decrease the release of metals (Goossens and Zwolsman, 1996). On the other hand, a previous study in the Guadalquivir estuary of heavy metal concentrations in the sediment of the same zones observed an increment of As, Co and Ni after dredging operations, especially in the polyhaline site (Donázar-Aramendía et al., 2018). In our water samples, greater effects were found in the same zone, where slight differences could be due to the salinity of the water, the oxidation-reduction potential of the sediment and the pH of the sediment pore water and overlying water on site (Eggleton and Thomas, 2004; Roberts, 2012).

The concentration of dissolved metal provided could be overestimated here with regard to other studies that use filters with smaller pore size (for instance, 0.22 µm; González-Ortegón et al., 2019), due to the higher presence of colloids. Consequently, the

precision to detect smaller variations in metal concentrations of the dissolved phase could be lower. Still, maximum values recorded in the field were lower than the minimal concentration used in controlled laboratory experiments to test for lethal effects of trace metals in the early life stages of fishes (Jezierska et al., 2009). Experiments in crustacea also show that the ranges measured usually do not cause significant effects on individuals (Fetters et al., 2016; Lavolpe et al., 2004; Martin and Holdich, 1986). Thus, the metal uptake for fish and the rest of the macrofauna present in both zones is expected to be low in this study. In addition to the effect of dredging, the daily tidal currents (Jonas and Millward, 2010), wind energies or storms (Birch and O'Hea, 2007) in estuarine systems can cause periodical remobilization of surface sediments, releasing metals naturally. The higher freshwater inputs observed after dredging, and the associated increment in TSS, could also help to maintain the increased values of some metals. On the other hand, some metals can be released and/or re-absorbed more readily than others (Maddock et al., 2007). Faster release and re-absorption could be occurring for Ni and Cr, which increased guickly only during dredging, and slower release and re-absorption for Zn and Fe, which reached higher levels after dredging. Also, fine sediments could remain longer in suspension and consequently liberate more metals after dredging (Maddock et al., 2007). The Guadalquivir estuary has shown high persistent turbidity events in wet years (González-Ortegón et al., 2010) and is considered one of the estuaries in the region with higher metal fluxes (González-Ortegón et al., 2019) due to urban and agriculture supports (Mendiguchía et al., 2007). As organisms take up and accumulate trace metals during their whole life cycle, there is the potential for toxic effects over time (Rainbow, 2007), special attention should be paid to metal release after higher bottom disturbance situations such as longer dredging periods or torrential freshets. Still, this is more likely to be a concern with longer-living estuarine organisms, such as adult resident fishes, than with short-lived ones, as most species included in this study.

Physiochemical alterations caused by dredging operations appear to be minor in comparison with the natural changes observed; however, other possible effects have been observed in planktonic organisms. The limited swimming capacity of small individuals could make it impossible for them to avoid the water mass affected by dredging. Therefore, the main and direct cause that could decrease plankton densities after the water mass passes by the working dredger is hydraulic entrainment, which leads to their death from the mechanical action of the suction arm (Reine and Clarke, 1998).

Different tendencies were found for hyperbenthic and pelagic species in the immediate approach. Hyperbenthic species, like Pomatoshcistus spp. or decapods, tended to decrease, probably due to the direct impact of physical removal of bottom sediments inhabited by hyperbenthic organisms (Hoffmann and Dolmer, 2000). In fact, a previous study showed that Pomatoschistus spp. is prone to a high entrainment by a trailer suction with estimated rates between 0.0018 and 0.009 ind./m<sup>3</sup> (Drabble, 2012a). Also, Armstrong et al. (1982) reported that sand shrimp (Crangon sp.) showed the highest rates of entrainment by dredges in Pacific northwest estuaries, with a range between 0.08 and 4.44 ind./m<sup>3</sup>, and estimated a population decrease during a dredging project of around 1.2%–6.5%. In contrast, pelagic species like E. encrasicolus, S. pilchardus, P. incisus or mysids tended to maintain stable densities, or even to increase in density in some cases. Their behaviour of inhabiting the water column could minimize the entrainment risk. Most studies report demersal organisms entrained (Barletta et al., 2016; Reine and Clarke, 1998); however, adult stages of pelagic species have been collected as well, including anchovy (0.001 ind./ m<sup>3</sup>), herring (0.01 ind./m<sup>3</sup>) and smelt (0.01 ind./m<sup>3</sup>) (Armstrong et al., 1982). In fish larvae, some authors estimated the entrainment of striped bass (Morone saxatilis), herring (Alosa spp.) and white perch (Morone americana), involving the simultaneous operation of four hydraulic dredges in the Delaware River, and concluded that less than 1% of the total larval population would be entrained by the dredges (Burton et al., 1992). In our case, the lack of a significant difference obtained for any species with this approach suggests that entrainment caused a low incident over hyperbenthic species and no effects on pelagic ones.

On the other hand, the pelagic species exhibited different trends between immediate and short-medium approaches. A high decrease in density was found just after the beginning of dredging in E. encrasicolus and mysids in the polyhaline zone, suggesting that this disturbance could affect these species. However, interannual comparisons found that their densities can fluctuate similarly without dredging (anchovy in the mesohaline zone of 2015) or long after the dredging activity (macrofauna in the polyhaline zone of 2016). Also, these organisms showed low and stable values (anchovy in the polyhaline zone of 2015-16) or decreased gradually (anchovy and macrofauna in the mesohaline zone of 2015-16) along this season, in years either with or without dredging operations. The goby showed different trends, notably, decreasing in density in the mesohaline zone of 2015, when there was no dredging operation, and even increasing in the polyhaline zone during and after dredging in 2016. These patterns make it difficult to elucidate whether these changes correspond to the natural variability and reduction typical of this period (Drake et al., 2002) or whether they are an impact of dredging. A multi-year-long monitoring study conducted in the Eastern English Channel (UK), which is dredged annually, observed a temporal and gradual reduction in several species, including Pomatoschistus spp. (Drabble, 2012b). In our case, no clear differences were found between the seasonal densities of previous years. Some of these species are present across the whole estuary section, with higher densities in the shallower banks of the Guadalquivir estuary (unpublished data). Further, most species found were marine migrants, such as E. encrasicolus, S. pilchardus, S. senegalensis etc., which locate their spawning zones offshore (Baldó et al., 2006). These behaviours could minimize the mechanical impact of dredging, which was carried out in the estuary and only in the middle channel, constraining the impact on nursery function.

In summary, the observed modifications of water physiochemical variables in comparison with natural changes such as freshets, the nonsignificant differences found in the immediate approach and the similar temporal fluctuations of density as in previous years with or without dredging suggest that this dredging operation did not cause a severe impact on the Guadalquivir estuary. Still, this does not mean that there is no effect. This ecosystem showed high natural fluctuations, which precluded a clear association of the observed variations with the dredging effects, leading to the 'Estuarine Quality Paradox' (Elliott and Quintino, 2007). Nonetheless, as the possible effects of this disturbance were of the same order or less than those of natural ones, planktonic organisms could be well adapted to cope with them. Still, polyhaline water mass showed more notorious effects than mesohaline waters. In addition, the dredging operation was undertaken during the natural decline period of recruitment, which could minimize the effects over nursery function. However, dredging activity during the main recruitment period and larval development (March to November in the case of Guadalquivir estuary [Drake et al., 2002, 2007]), could directly constrain the larval supply by contributing to higher mortality rates among larvae or lowering recruitment success (Wenger et al., 2017). The evidence found here and the changes detected make it advisable to implement systematic monitoring programs in any dredging project. The accumulated experience and the use of new approaches may allow the nature of the effect of these operations to be more clearly defined, allowing the design of specific control strategies to mitigate impacts, as well as a thorough evaluation of the effectiveness of these strategies (Wenger et al., 2018), thus promoting sustainable fishery management.

#### **CRediT** authorship contribution statement

**J.M. Miró:** Conceptualization, Methodology, Software, Validation, Formal analysis, Investigation, Data curation, Writing – original draft.

**C. Megina:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Investigation, Writing – review & editing, Project administration. **I. Donázar-Aramendía:** Methodology, Resources, Writing – review & editing. **J.C. García-Gómez:** Supervision, Funding acquisition, Writing – review & editing.

#### **Declaration of competing interest**

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Acknowledgements

We thank Autoridad Portuaria de Sevilla and Acuario de Sevilla for financial and logistical support. This work was partially supported by the Plan Propio Universidad de Sevilla via two pre-doctoral grants (I. Donázar-Aramendía, J.M. Miró). We thank all the members of the LBM who participate in field surveys and in samples processing.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151304.

#### References

- Armstrong, D.A., Stevens, B.G., Hoeman, J., 1982. Distribution and abundance of Dungeness crab and Crangon shrimp, and dredged-related mortality of invertebrates and fish in Grays Harbor, Washington. Tech. Report. Sch. Fish. Univ. Washington, Washingt. Dep. Fish. U.S. Army Eng. Dist. Seattle.
- Au, D.W.T., Pollino, C.A., Wu, R.S.S., Shin, P.K.S., Lau, S.T.F., Tang, J.Y.M., 2004. Chronic effects of suspended solids on gill structure, osmoregulation, growth, and triiodothyronine in juvenile green grouper Epinephelus coioides. Mar. Ecol. Prog. Ser. 266, 255–264. https://doi.org/10.3354/meps266255.
- Baldó, F., García-Isarch, E., Jiménez, M.P., Romero, Z., Sánchez-Lamadrid, A., Catalán, I.A., 2006. Spatial and temporal distribution of the early life stages of three commercial fish species in the northeastern shelf of the Gulf of Cádiz. Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 53, 1391–1401. https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.04.004.
- Barbier, E.B., Hacker, S.D., Kennedy, C., Koch, E.W., Stier, A.C., Silliman, B.R., 2011. The value of estuarine and coastal ecosystem services. Ecol. Monogr. 81, 169–193. https://doi.org/10.1890/10-1510.1.
- Barletta, M., Cysneiros, F.J.A., Lima, A.R.A., 2016. Effects of dredging operations on the demersal fish fauna of a south american tropical-subtropical transition estuary. J. Fish Biol. 1–31. https://doi.org/10.1111/jfb.12999.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., Walker, S., 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. J. Stat. Softw. 67, 1–48. https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01.
- Bernvenuti, C.E., Angonesi, L.G., Gandra, M.S., 2005. Effects of dredging operations on soft bottom macrofauna in a harbor in the Patos lagoon estuarine region of southern Brazil. Braz. J. Biol. 65, 573–581. https://doi.org/10.1590/s1519-69842005000400003.
- Birch, G., O'Hea, L, 2007. The chemistry of suspended particulate material in a highly contaminated embayment of port Jackson (Australia) under quiescent, high-wind and heavy-rainfall conditions. Environ. Geol. 53, 501–516. https://doi.org/10.1007/ s00254-007-0662-5.
- Borja, A., Elliott, M., 2007. What does "good ecological potential" mean, within the european water framework Directive? Mar. Pollut. Bull. 54, 1559–1564. https://doi.org/ 10.1016/j.marpolbul.2007.09.002.
- Bowie, G.L., Mills, W.B., Porcella, D.B., Campbell, C.L., Pagenkopf, J.R., Rupp, G.L., Jhonson, K.M., Chan, P.W., Gherini, S.A., 1985. Rates, Constants, and Kinetics Formulations in Surface Water Quality Modeling. EPA/600/3-85/040 June 455 pp.
- Brinkman, S.F., Woodling, J.D., Vajda, A.M., Norris, D.O., 2009. Chronic toxicity of ammonia to early life stage rainbow trout. Trans. Am. Fish. Soc. 138, 433–440. https://doi.org/ 10.1577/t07-224.1.
- Burton, W., Weisberg, S., Jacobson, P., 1992. Rep. Submitt. to Delaware Basin Fish Wildl. Manag. Coop. Trenton, NJ. Entrainment effects of maintenance hydraulic dredging in the Delaware River Estuary on Striped Bass Ichthyoplankton.
- Caballero, I., Navarro, G., Ruiz, J., 2018. Multi-platform assessment of turbidity plumes during dredging operations in a major estuarine system. Int. J. Appl. Earth Obs. Geoinf. 68, 31–41. https://doi.org/10.1016/j.jag.2018.01.014.
- Caille, N., Tiffreau, C., Leyval, C., Morel, J.L., 2003. Solubility of metals in an anoxic sediment during prolonged aeration. Sci. Total Environ. 301, 239–250. https://doi.org/10.1016/ S0048-9697(02)00289-9.
- Chen, C., Kong, M., Wang, Y.Y., Shen, Q.S., Zhong, J.C., Fan, C.X., 2020. Dredging method effects on sediment resuspension and nutrient release across the sediment-water interface in Lake taihuChina. 27, 25861–25869. https://doi.org/10.1007/s11356-019-06192-w.

- Collin, S.P., Hart, N.S., 2015. Vision and photoentrainment in fishes: the effects of natural and anthropogenic perturbation. Integr. Zool. 10, 15–28. https://doi.org/10.1111/ 1749-4877.12093.
- Dang, D.H., Layglon, N., Ferretto, N., Omanović, D., Mullot, J.U., Lenoble, V., Mounier, S., Garnier, C., 2020. Kinetic processes of copper and lead remobilization during sediment resuspension of marine polluted sediments. Sci. Total Environ. 698. https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134120.
- Day, J.W., Hall, C.A.S., Kemp, W.M., Yanez-Arancibia, A., 2013. Estuarine ecology. Estuar. Ecol. https://doi.org/10.2307/2937399.
- Desmit, X., Vanderborght, J.P., Regnier, P., Wollast, R., 2005. Control of phytoplankton production by physical forcing in a strongly tidal, well-mixed estuary. Biogeosciences 2, 205–218. https://doi.org/10.5194/bg-2-205-2005.
- Díez-Minguito, M., de Swart, H.E., 2020. Relationships between chlorophyll-a and suspended sediment concentration in a high-nutrient load estuary: an observational and idealized modeling approach. J. Geophys. Res. Ocean. 125, no. https://doi.org/10. 1029/2019JC015188.
- Díez-Minguito, M., Baquerizo, A., Ortega-Sánchez, M., Navarro, G., Losada, M.A., 2012. Tide transformation in the Guadalquivir estuary (SW Spain) and process-based zonation. J. Geophys. Res. Ocean. 117, 1–14. https://doi.org/10.1029/2011JC007344.
- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., Miró, J.M., Megina, C., García-Gómez, J.C., 2018. Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): a BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats. Mar. Environ. Res. 140, 455–467. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.07.012.
- Drabble, R., 2012a. Projected entrainment of fish resulting from aggregate dredging. Mar. Pollut. Bull. 64, 373–381. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.10.033.
- Drabble, R., 2012b. Monitoring of East Channel dredge areas benthic fish population and its implications. Mar. Pollut. Bull. 64, 363–372. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul. 2011.10.035.
- Drake, P., Arias, A.M., Baldó, F., Cuesta, J.A., 2002. Spatial and temporal variation of the nekton and hyperbenthos from a temperate European estuary with regulated freshwater inflow. Estuaries 25, 451–468. https://doi.org/10.1007/BF02695987.
- Drake, P., Borlán, A., González-Ortegón, E., Baldó, F., Vilas, C., Fernández-Delgado, C., 2007. Spatio-temporal distribution of early life stages of the european anchovy Engraulis encrasicolus L. Within a european temperate estuary with regulated freshwater inflow: effects of environmental variables. J. Fish Biol. 70, 1689–1709. https://doi.org/ 10.1111/j.1095-8649.2007.01433.x.
- Eddy, F.B., 2005. Ammonia in estuaries and effects on fish. J. Fish Biol. 67, 1495–1513. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2005.00930.x.
- Eggleton, J., Thomas, K.V., 2004. A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. Environ. Int. 30, 973–980. https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.03.001.
- Elliott, M., Quintino, V., 2007. The estuarine quality paradox, environmental homeostasis and the difficulty of detecting anthropogenic stress in naturally stressed areas. Mar. Pollut. Bull. 54, 640–645. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.02.003.
- Elliott, M., Day, J.W., Ramachandran, R., Wolanski, E., 2019. A synthesis: what is the future for coasts, estuaries, deltas and other transitional habitats in 2050 and beyond? In: Wolanski, E., John, W., Michael, E., Ramesh, R. (Eds.), Coasts and Estuaries. The Future. Elsevier Inc., p. 729 https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814003-1.00001-0
- Erftemeijer, P.L.A., Lewis, R.R., 2006. Environmental impacts of dredging on seagrasses: a review. Mar. Pollut. Bull. 52, 1553–1572. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006. 09.006.
- Fetters, K.J., Costello, D.M., Hammerschmidt, C.R., Burton, G.A., 2016. Toxicological effects of short-term resuspension of metal-contaminated freshwater and marine sediments. Environ. Toxicol. Chem. 35, 676–686. https://doi.org/10.1002/etc.3225.
- González-Ortegón, E., Drake, P., 2012. Effects of freshwater inputs on the lower trophic levels of a temperate estuary: physical, physiological or trophic forcing? Aquat. Sci. 74, 455–469. https://doi.org/10.1007/s00027-011-0240-5.
- González-Ortegón, E., Subida, M.D., Cuesta, J.A., Arias, A.M., Fernández-Delgado, C., Drake, P., 2010. The impact of extreme turbidity events on the nursery function of a temperate european estuary with regulated freshwater inflow. Estuar. Coast. Shelf Sci. 87, 311–324. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2010.01.013.
- González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A., Cuesta, J.A., Fernández-Delgado, C., Vilas, C., Drake, P., 2014. Freshwater scarcity effects on the aquatic macrofauna of a European Mediterranean-climate estuary. Sci. Total Environ. 9, 503–504. https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.020.
- González-Ortegón, E., Baldó, F., Arias, A., Cuesta, J.A., Fernández-Delgado, C., Vilas, C., Drake, P., 2015. Freshwater scarcity effects on the aquatic macrofauna of a European Mediterranean-climate estuary. Sci. Total Environ. 9, 503–504. https:// doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.020.
- González-Ortegón, E., Laiz, I., Sánchez-Quiles, D., Cobelo-Garcia, A., Tovar-Sánchez, A., 2019. Trace metal characterization and fluxes from the guadiana, tinto-odiel and Guadalquivir estuaries to the Gulf of Cadiz. Sci. Total Environ. 650, 2454–2466. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.290.
- Goossens, H., Zwolsman, J.J.C., 1996. An evaluation of the behaviour of pollutants during dredging activities. Terra Aqua 62, 20–28.
- Grasshoff, K., Kremling, K., Ehrhardt, M., 2007. Methods of Seawater Analysis. Third, Completely Revised and Extended edition. https://doi.org/10.1002/9783527613984.
- Halpern, B.S., Walbridge, S., Selkoe, K.A., Kappel, C.V., Micheli, F., D'Agrosa, C., Bruno, J.F., Casey, K.S., Ebert, C., Fox, H.E., Fujita, R., Heinemann, D., Lenihan, H.S., Madin, E.M.P., Perry, M.T., Selig, E.R., Spalding, M., Steneck, R., Watson, R., 2008. A global map of human impact on marine ecosystems. Science 319, 948–952. https://doi.org/10. 1126/science.1149345 80.
- Haynes, D., Johnson, J.E., 2000. Organochlorine, heavy metal and polyaromatic hydrocarbon pollutant concentrations in the great barrier reef (Australia) environment: a review. Mar. Pollut. Bull. 41, 267–278. https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00134-X.
- Hoffmann, E., Dolmer, P., 2000. Effect of closed areas on distribution of fish and epibenthos. ICES J. Mar. Sci. 57, 1310–1314. https://doi.org/10.1006/jmsc.2000.0921.
- Jabusch, T., Melwani, A., Ridolfi, K., Connor, M., 2008. Effects of Short-term Water Quality Impacts Due to Dredging and Disposal on Sensitive Fish Species in San Francisco Bay. San Fr. Estuary Inst. US Army Corps Eng. San Fr. Dist. Thomas.
- Jezierska, B., Ługowska, K., Witeska, M., 2009. The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). Fish Physiol. Biochem. 35, 625–640. https://doi.org/ 10.1007/s10695-008-9284-4.
- Jonas, P.J.C., Millward, G.E., 2010. Metals and nutrients in the Severn estuary and Bristol Channel: contemporary inputs and distributions. Mar. Pollut. Bull. 61, 52–67. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.12.013.
- Jones, R., Fisher, R., Stark, C., Ridd, P., 2015. Temporal patterns in seawater quality from dredging in tropical environments. PLoS One 10. https://doi.org/10.1371/journal. pone.0137112.
- Jones, R., Bessell-Browne, P., Fisher, R., Klonowski, W., Slivkoff, M., 2016. Assessing the impacts of sediments from dredging on corals. Mar. Pollut. Bull. 102, 9–29. https://doi. org/10.1016/j.marpolbul.2015.10.049.
- Jones-Lee, A., Lee, G.F., 2005. Water quality aspects of dredged sediment management. Water Encycl https://doi.org/10.1002/047147844x.wq1507.
- Kjelland, M.E., Woodley, C.M., Swannack, T.M., Smith, D.L., 2015. A review of the potential effects of suspended sediment on fishes: potential dredging-related physiological, behavioral, and transgenerational implications. Environ. Syst. Dec. 35, 334–350. https:// doi.org/10.1007/s10669-015-9557-2.
- Lavolpe, M., López Greco, L., Kesselman, D., Rodríguez, E., 2004. Differential toxicity of copper, zinc, and lead during the embryonic development of chasmagnathus granulatus (Brachyura, varunidae). Environ. Toxicol. Chem. 23, 960–967. https:// doi.org/10.1897/02-645.

Lenth, R., 2018. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means.

- Losada, M.A., Diez-Minguito, M., Reyes-Merlo, M.A., 2017. Tidal-fluvial interaction in the Guadalquivir River estuary: spatial and frequency-dependent response of currents and water levels. J. Geophys. Res. Ocean. 122, 847–865. https://doi.org/10.1002/ 2016JC012264.Received.
- Lotze, H.K., Lenihan, H.S., Bourque, B.J., Bradbury, R.H., Cooke, R.G., Kay, M.C., Kidwell, S.M., Kirby, M.X., Peterson, C.H., Jackson, J.B.C., 2006. Depletion degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas. 10.1126/science.1128035Science 80 (312), 1806–1809. https://doi.org/10.1126/science.1128035.
- Maddock, J.E.L., Carvalho, M.F., Santelli, R.E., Machado, W., 2007. Contaminant metal behaviour during re-suspension of sulphidic estuarine sediments. Water Air Soil Pollut. 181, 193–200. https://doi.org/10.1007/s11270-006-9290-z.
- Magris, R.A., Ban, N.C., 2019. A meta-analysis reveals global patterns of sediment effects on marine biodiversity. Glob. Ecol. Biogeogr. 28, 1879–1898. https://doi.org/10. 1111/geb.12990.
- Mainstone, C.P., Parr, W., 2002. Phosphorus in rivers ecology and management. Sci. Total Environ. 282–283, 25–47. https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00937-8.
- Martin, T.R., Holdich, D.M., 1986. The acute lethal toxicity of heavy metals to peracarid crustaceans (with particular reference to fresh-water asellids and gammarids). Water Res. 20, 1137–1147. https://doi.org/10.1016/0043-1354(86)90060-6.
- Mendiguchía, C., Moreno, C., García, M., 2007. Evaluation of natural and anthropogenic influences on the Guadalquivir River (Spain) by dissolved heavy metals and nutrients. Chemosphere 69, 1509–1517. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.082.
- Miró, J.M., Megina, C., Donázar-Aramendía, Í., Reyes-Martínez, M.J., Sánchez-Moyano, E., García-Gómez, J.C., 2020. Environmental factors affecting the nursery function for fish in the main estuaries of the Gulf of Cadiz (south-West Iberian Peninsula). Sci. Total Environ. 737, 139614. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139614.
- Ohata, R., Masuda, R., Ueno, M., Fukunishi, Y., Yamashita, Y., 2011. Effects of turbidity on survival of larval ayu and red sea bream exposed to predation by jack mackerel and moon jellyfish. Fish. Sci. 77, 207–215. https://doi.org/10.1007/s12562-010-0320-9.
- Ponti, M., Pasteris, A., Guerra, R., Abbiati, M., 2009. Impacts of maintenance channel dredging in a northern adriatic coastal lagoon. II: effects on macrobenthic assemblages in channels and ponds. Estuar. Coast. Shelf Sci. 85, 143–150. https://doi.org/ 10.1016/j.ecss.2009.06.027.
- Rainbow, P.S., 2007. Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. Environ. Int. 33, 576–582. https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.007.

- Rehitha, T.V., Ullas, N., Vineetha, G., Benny, P.Y., Madhu, N.V., Revichandran, C., 2017. Impact of maintenance dredging on macrobenthic community structure of a tropical estuary. Ocean Coast. Manag. 144, 71–82. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2017.04. 020.
- Reine, K., Clarke, D., 1998. Entrainment by hydraulic dredges a review of potential impacts. DOER Tech. Note Collect. 1–14.
- Reine, K.J., Dickerson, D.D., Clarke, D.G., 1998. Environmental win- dows associated with dredging operations. U.S. Army Corps Eng. Eng. Res. Dev. Center, Vicksburg, MS, Tech. Note DOER-E1, pp. 1–14.
- Reine, K.J., Clarke, D., Dickerson, C., 2014. Characterization of underwater sounds produced by hydraulic and mechanical dredging operations. J. Acoust. Soc. Am. 135, 3280–3294. https://doi.org/10.1121/1.4875712.
- Riba, I., DelValls, T.A., Forja, J.M., Gómez-Parra, A., 2002. Influence of the Aznalcóllar mining spill on the vertical distribution of heavy metals in sediments from the Guadalquivir estuary (SW Spain). Mar. Pollut. Bull. 44, 39–47. https://doi.org/10.1016/ S0025-326X(01)00171-0.
- Roberts, D.A., 2012. Causes and ecological effects of resuspended contaminated sediments (RCS) in marine environments. Environ. Int. 40, 230–243. https://doi.org/10.1016/j. envint.2011.11.013.
- Ruiz, J., Polo, M.J., Díez-Minguito, M., Navarro, G., Morris, E.P., Huertas, E., Caballero, I., Contreras, E., Losada, M.A., 2015. The Guadalquivir estuary: a hot spot for environmental and human conflicts. Environmental Management and Governance. Coastal Research Library, pp. 199–232 https://doi.org/10.1007/978-3-319-06305-8.
- Simonini, R., Ansaloni, I., Cavallini, F., Graziosi, F., Iotti, M., Massamba N'Siala, G., Mauri, M., Montanari, G., Preti, M., Prevedelli, D., 2005. Effects of long-term dumping of harbordredged material on macrozoobenthos at four disposal sites along the Emilia-Romagna coast (Northern Adriatic Sea, Italy). Mar. Pollut. Bull. 50, 1595–1605. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.031.
- R Core Team, 2018. A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. https://www.R-project.org/.
- Tornero, V., Arias, A.M., Blasco, J., 2011. Following the Aznalcóllar toxic spill. Environ. Res. 111, 1033–1036. https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.07.011.
- Tornero, V., Arias, A.M., Blasco, J., 2014. Trace element contamination in the Guadalquivir River estuary ten years after the Aznalcóllar mine spill. Mar. Pollut. Bull. 86, 349–360. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.044.
- Torres, R.J., Abessa, D.M.S., Santos, F.C., Maranho, L.A., Davanso, M.B., do Nascimento, M.R.L., Mozeto, A.A., 2009. Effects of dredging operations on sediment quality: Contaminant mobilization in dredged sediments from the Port of Santos, SP, Brazil. J. Soils Sediments 9, 420–432. https://doi.org/10.1007/s11368-009-0121-x.
- Tsolaki, E., Diamadopoulos, E., 2010. Technologies for ballast water treatment: a review. J. Chem. Technol. Biotechnol. 85, 19–32. https://doi.org/10.1002/jctb.2276.
- Van Den Berg, G.A., Meijers, G.G.A., Van Der Heijdt, L.M., Zwolsman, J.J.G., 2001. Dredgingrelated mobilisation of trace metals: a case study in the Netherlands. Water Res. 35, 1979–1986. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00452-8.
- Wenger, A.S., Harvey, E., Wilson, S., Rawson, C., Newman, S.J., Clarke, D., Saunders, B.J., Browne, N., Travers, M.J., Mcilwain, J.L., Erftemeijer, P.L.A., Hobbs, J.P.A., Mclean, D., Depczynski, M., Evans, R.D., 2017. A critical analysis of the direct effects of dredging on fish. Fish Fish. 1–19. https://doi.org/10.1111/faf.12218.
- Wenger, A.S., Rawson, C.A., Wilson, S., Newman, S.J., Travers, M.J., Atkinson, S., Browne, N., Clarke, D., Depczynski, M., Erftemeijer, P.L.A., Evans, R.D., Hobbs, J.P.A., McIlwain, J.L., McLean, D.L., Saunders, B.J., Harvey, E., 2018. Management strategies to minimize the dredging impacts of coastal development on fish and fisheries. Conserv. Lett. 11, 1–10. https://doi.org/10.1111/conl.12572.
- Wilber, D.H., Clarke, D.G., 2001. Biological effects of suspended sediments: a review of suspended sediment impacts on fish and shellfish with relation to dredging activities in estuaries. North Am. J. Fish. Manag. 21, 855–875. https://doi.org/10.1577/1548-8675(2001)021<0855:beossa>2.0.co;2.
- Winterwerp, J.C., Wang, Z.B., 2013. Man-induced regime shifts in small estuaries I: theory. Ocean Dyn. 63, 1279–1292. https://doi.org/10.1007/s10236-013-0662-9.
- Yap, W.Y., Lam, J.S.L., 2013. 80 million-twenty-foot-equivalent-unit container port? Sustainability issues in port and coastal development. Ocean Coast. Manag. 71, 13–25. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2012.10.011.

Contents lists available at ScienceDirect





## Marine Environmental Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/marenvrev

# BENFES, a new biotic index for assessing ecological status of soft-bottom communities. Towards a lower taxonomic complexity, greater reliability and less effort



J.E. Sánchez-Moyano<sup>\*</sup>, I. García-Asencio, I. Donázar-Aramendía, J.M. Miró, C. Megina, J.C. García-Gómez

Laboratorio Biología Marina, Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain

## ARTICLE INFO

Keywords: Biotic indices Soft-bottom communities Estuaries Water Framework Directive Southern Spain

## ABSTRACT

The new biotic index BENFES (Benthic Families Ecological Status Index) for assessing the ecological status of soft-bottom communities based on presence/absence at the taxonomic family level, is described. BENFES was primarily developed for the communities from the Guadalquivir estuary (South-western Spain), but the aim of the present work was to evaluate the reliability and validity of this index for its application in the Water Framework Directive (WFD), especially as a preliminary and rapid assessment method for monitoring the ecological status of transitional and coastal waters. BENFES was compared with five widely used indices (BOPA, BO2A, BENTIX; AMBI and M-AMBI) in several studies from Southwestern Spain. In addition, we have also established comparisons between these indices and the most commonly used Shannon–Wiener diversity. M-AMBI and BENFES showed the best agreement in ecological status assignation and were the most useful and discriminant between the studied areas. BENTIX was a good discriminant in coastal areas but was severe with the environmental condition from estuaries; BOPA/BO2A did not show clear trends in most of the zones; and AMBI tended to provide overestimations of the ecological status. In conclusion, BENFES shows several advantages such as lower taxonomic resolution, greater reliability and only requiring presence/absence. All this implies a huge possibility to perform a simplified monitoring routine for the control of the ecological quality of water bodies.

#### 1. Introduction

The Water Framework Directive (WFD, 2000/60/EC) and the Marine Strategy Framework Directive (MSFD, 2008/56/EC) established ecological status as the main tool for the management and monitoring of European coastal and transitional waters, integrating both biological and physico-chemical elements (Borja et al., 2009). In this context, softbottom macrofauna are considered a key element of marine and estuarine monitoring programmes (Ysebaert and Herman, 2002) because of their high ability to reflect the ecological status of the environment (Dimitriou et al., 2012) due to limited dispersal or sessile habits, sufficiently long life-cycles, relatively high abundance and diversity, a variety of traits and their importance in cycling nutrients and materials between sediments and the water column (Birk et al., 2012; Dauvin et al., 2012; Sousa et al., 2008; Sánchez-Moyano and García-Asencio, 2010).

In order to establish the environmental quality of European waters,

several biotic indices, mainly based on the diversity and abundance of benthic communities (see Borja et al., 2015 and references and supplementary data therein), have been developed and tested in diverse habitats and different human disturbance or geographical regions (Borja et al., 2015; Dauvin et al., 2012; Pinto et al., 2009; among others). Although the different indices tend to provide similar characterization of the environmental quality (Dimitriou et al., 2012), none of them should be considered ideal for its measurement. Hence, many authors recommend the joint use of various indices and, even, simpler measures such as the professional judgement of experts (Dauvin et al., 2012; Teixeira et al., 2010). Other authors, such as Diaz et al. (2004) and Borja and Dauer (2008), consider that there are already too many indices and that the more correct option would be optimizing rather than creating new ones.

One of the main problems is that the more widely used indices, such as AMBI (Borja et al., 2000), BENTIX (Simboura and Zenetos, 2002) or BQI (Rosenberg et al., 2004), require work over a long period of time

http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.10.014 Received 26 August 2017; Received in revised form 20 October 2017; Accepted 23 October 2017 Available online 24 October 2017

0141-1136/@ 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

<sup>\*</sup> Corresponding author. E-mail address: smoyano@us.es (J.E. Sánchez-Moyano).

Fig. 1. Localization of the four study sites along the south Atlantic coast of Iberian Peninsula and Strait of Gibraltar. Salinity range of each sampling point is shown by a symbol.



and, in most cases, taxonomy experts for identifying the fauna to species level. Other indicators are based on the taxonomy sufficiency concept such as BOPA (Dauvin and Ruellet, 2007) or BPOFA (Dauvin et al., 2016), BITS (Munari et al., 2009) and BQI-family (Dimitriou et al., 2012), or they have been compared at the species and family level (see for example, BOPA and BENTIX comparisons in de-la-Ossa-Carretero et al., 2012), or are non-taxonomically based such as the size spectra index (Basset et al., 2012), but all of them involve the calculation of abundance. To date, the presence/absence of taxa has not been used mainly due to one of the premises of WFD that recommends that taxa abundance should be measured. The unique exception has been the Indicator species index (ISI) (Rygg, 2002) which takes into account only presence/absence data although it needs a previously collected abundance data set to calculate the sensitivity value of each species. However, Rygg and Norling (2013) have modified this index, later called the Norwegian Sensitivity Index (NSI), giving importance to abundance.

To manage and control the resources of any natural system, it is

necessary to have good knowledge of its biological and physical structures, their ecological relationships and, consequently, the influence of socio-economic activities (de Jonge, 2000). According to Dauvin and Ruellet (2009), this question is especially complex in estuarine systems where we find naturally stressed environments due to the interaction of local physical, geological, chemical and biological factors with anthropogenic impacts. It is what these authors called the estuarine quality paradox. Consequently, estuarine macrofauna communities exhibit high resistance to pollution and interpretation of the effects of disturbance on these ecosystems is difficult (Dauvin, 2008; Tweedley et al., 2014). Several indices have been used to define the ecological status of these transitional environments (Borja et al., 2008; Costa-Dias et al., 2010; de Paz, et al., 2008; Feebarani et al., 2016; Puente and Diaz, 2008), and they often show discrepancies or inconsistencies in relation to classification (Blanchet et al., 2008; Brauko et al., 2015; Hutton et al., 2015; Nebra et al., 2014; Tweedley et al., 2015) since being naturally stressed environments, they can show a

#### Table 1

Characteristics of the study sites.

Study area	Date	Habitat	Number of stations	Salinity range	Depth (m)	Granulometry	Human pressure	Reference	
Guadalquivir Estuary	July and November 2013, May and September 2014	Estuary Estuary Estuary Mouth	4 4 7	Oligohaline Mesohaline Polyhaline Euhaline	5–9 5–10 5–9 4–6	Fine sand and silt Fine sand and silt Fine sand and silt Fine and medium sand	Boat traffic, dredging, high turbidity, high agricultural activity, etc	Present study	
		Shallower marine area	3	Euhaline	10	Very fine sand			
		Deeper marine area	3	Euhaline	20	Sand, silt and clay	Sediment disposal, fisheries		
Saladillo Harbour (Algeciras Bay)	Summer 1993	Marine harbour and nearby area	9	Euhaline	2–9	Fine sand (inner areas) to medium sand (outer areas)	Urban sewage, hydrocarbons, maritime traffic, harbour activity	Estacio et al., 1997	
Palmones Estuary	1992 to 1997	Estuary	3	Polyhaline	2–3	Sand, silt and clay	Urban sewage, climatic	Estacio et al., 1999	
(Algeciras Bay)		Mouth	1	Euhaline	5	Medium to coarse sand	impact, mouth closure		
Guadiana Estuary	2000	Estuary	3	Oligohaline	5	Coarse sand	Boat traffic, damm	Sánchez-Moyano	
		Estuary	3	Mesohaline	5	Medium sand		et al., 2003; Sánchez-	
		Estuary	2	Polyhaline	5	Medium sand		Moyano and García-	
		Mouth	2	Euhaline	3–5	Medium sand		Asencio, 2011	
		Shallower marine area	2	Euhaline	10	Very fine sand			
		Deeper marine area	2	Euhaline	20	Coarse sand			

poor ecological status even in the absence of disturbance. Only a few indicators such as BO2A (Dauvin and Ruellet, 2009), BITS (Mistri and Munari, 2008), VPBI (Paul et al., 2001) or size spectra index (Basset et al., 2012) have been designed specifically for these ecosystems. For all these reasons, strong calibration and adjustment of the different indicators for transitional waters is necessary, since they are one of the systems most affected by some degree of pollution and it is practically impossible to find reference areas in pristine condition.

In an approach looking for greater simplicity without loss of effectiveness, we propose a new index that only requires the presence/absence of families of soft-bottom macrobenthic organisms. Identification of animals to family level has been used in many benthic studies and has been found to be sufficient to determine changes in the composition of the soft-bottom benthic macrofauna (Sánchez-Moyano et al., 2006, and references therein). Studies carried out at higher taxonomic levels may decrease the cost of biological studies by reducing the degree of specialist intervention and the time required to analyse samples. Even more, the non-quantification of macrofauna supposes a remarkable reduction of the time consumed. The new index BENFES (Benthic Families Ecological Status Index) is based on the index IBMWP (Iberian Biomonitoring Working Party) which was created for invertebrate communities in Iberian rivers (Alba-Tecedor and Sánchez-Ortega, 1988) and on that described by Hellawell (1978). BENFES was primarily developed for communities in the Guadalquivir estuary (Southwestern Spain), but the aim of the present work was to determine the reliability and validity of this index for assessing the ecological quality status of both transitional and coastal waters and its comparison with other indicators used worldwide.

### 2. Material and methods

#### 2.1. Study sites and sampling methods

Primarily, we used the results of a monitoring study of the softbottom communities of the navigation channel of the Guadalquivir River estuary (Fig. 1). This study was carried out during four sampling periods: July 2013, November 2013, May 2014 and September 2014. The sampling points were grouped into different environmental areas: oligohaline (four stations), mesohaline (four stations), polyhaline (four stations), mouth (seven stations), marine at 10 m depth (three stations) and marine at 20 m depth (three stations). At each station, three replicate samples for biological analysis were taken with a  $0.05 \text{ m}^2$  van Veen grab. Each replicate was sieved in seawater through a mesh of 0.5 mm, fixed with 70% ethanol and stained with Bengal rose. Macrofauna were sorted and, whenever possible, identified to species level.

In order to verify the suitability of the index in other habitats and/or under human pressure, macrofauna data from previous studies were used (Fig. 1): the effects of organic effluents inside and outside a marina (Saladillo Harbour) in Algeciras Bay (Southern Spain) (Estacio et al., 1997); the combined effects of organic matter input, intermittent closing of the mouth and irregular rainfall on the communities in a small estuary in Algeciras Bay (Estacio et al., 1999); and the macrofauna assemblages along the Guadiana River estuary (south-western Iberian Peninsula) (Sánchez-Moyano et al., 2003; Sánchez-Moyano and García-Asencio, 2011; and unpublished data). Briefly, in the first one, the marina and nearby area were divided into 200 imes 200 m areas in which only nine quadrants were selected for the study of benthic communities based on their distance from the pollution foci in both the interior and exterior of the marina. In the second study, four subtidal stations along the Palmones River estuary were sampled yearly from 1992 to 1997. And in the last, fourteen stations along the Guadiana estuary were sampled from the oligohaline zone to the mouth in 2000, prior to the building of a large dam. In all studies, five replicates were taken with a 0.05 m<sup>2</sup> van Veen grab at each point and the fauna were identified to species level. The selected studies cover a wide geographical area in the Atlantic-Mediterranean gradient around Strait of Gibraltar, where three zoogeographical regions converge and it is considered a hotspot for marine biodiversity (González-Duarte et al., 2013). In this sense, these studies range a poor estuary in species, such as Guadalquivir (Atlantic area), to a highly diverse estuary, such as Palmones in Mediterranean zone. The main characteristics of the sites are shown in Table 1.

#### 2.2. BENFES index development

BENFES is based on presence/absence and identification at family level. Alba-Tecedor and Sánchez-Ortega (1988) redesigned the index IBMWP to establish scores according to the sensitivity to disturbance of macroinvertebrate families found in Iberian rivers. A scale of 1–10 was established, a value of 10 being assigned for the most sensitive families.

#### Table 2

Intervals for establishing ecological quality status in agreement with BENFES values. BENFES OM = modified boundaries for oligonaline and mesohaline areas.

Category	BENFES	BENFES OM	Ecological Status	
I	> 100	>70	Unaltered areas	High
II	61-99	43-70	Poorly altered areas or some evident effects of alteration	Good
ш	36-60	25-42	Altered areas	Moderate
IV	15-35	10-24	Very altered areas	Poor
V	<15	<10	Heavily altered areas	Bad

EQS colour code according to WFD.

In our case, we reduced the numeric scale from 1 to 5 to decrease the possibility of mistakenly assigning a score. The value for each family is established according to the pollution tolerance of the different species belonging to each family inversely following the assignations from AMBI (available at http://ambi.azti.es) and/or our experience in cases of non-assigned species or discrepancies with AMBI categories, so that more sensitive families have a value of 5 and more tolerant families have a value of 1. In those cases with families with species belonging to different categories, the assigned value was determined in accordance with the most abundant species or, when multiple co-dominant species occurred, the average value (an example of the category assignation of the different families from species data is detailed in Table S1 in Supplementary Data). Obviously, this involves previous studies in the area at the species level. Categories assigned to all the families found in the study sites are summarized in Supplementary Data (Table S2).

The index result is obtained by summing the scores assigned to each family at each point. Finally, to obtain the ecological quality status (EQS) of the study area, the results are compared with the boundary values shown in Table 2. Blanchet et al. (2008) said that biotic indices should be adapted to specific habitats and, consequently, the thresholds between EQS categories should be adjusted. Another critical question to determine the boundaries between EQS is the possibility of establishing comparisons with reference conditions. In this context, two approaches were considered: a general index for all habitats and, on the other hand, a modified index for oligohaline and mesohaline areas (BENFES OM), since these sites are naturally poor in species and can hardly achieve a high status in comparison with coastal areas (Vinagre et al., 2015). Due to the absence of suitable pristine areas in the Guadalquivir River, the boundaries were established in agreement with the study results from the Guadiana estuary, a nearby estuary with relatively low human pressure, especially for bad and high status boundaries. For the index calculation, it is necessary to value both the number of families as the category to which they belong. A related issue is that families of high categories can increase the values of the index in such a way that with a few families could reach high ecological status when it really is a lowdiversity site. To avoid this bias, boundary intervals were increased as status are higher.

#### 2.3. Other biotic indices

In order to verify the validity of BENFES we made comparisons with five widely used indices: BOPA (Benthic Opportunistic Polychaetes Amphipods) (Dauvin and Ruellet, 2007) and BO2A (Benthic Opportunistic Annelids Amphipods) (Dauvin and Ruellet, 2009) used for coastal and transitional waters, respectively; BENTIX (Simboura and Zenetos, 2002); AMBI (AZTI Marine Biotic Index) (Borja et al., 2000); and M-AMBI (Muxika et al., 2007). The last two were calculated using AMBI 5.0 software and the AMBI species list available in June 2017 (if possible, non-assigned species were included in a level according to our experience). BENTIX is based on the ecological groups of AMBI, and according to Simboura and Argyrou (2010), the groups I and II of AMBI are grouped as a general sensitive group (GS) in BENTIX and groups III, IV and V of AMBI are grouped as a generally tolerant group (GT) in BENTIX. In addition, we also established comparisons between these indices and the most commonly used Shannon–Wiener diversity (H' based on log e).

To calculate M-AMBI the establishment of reference conditions in each environmental area is necessary. Again, we used as reference data several studies on soft-bottom communities of the Guadiana River and nearby coastal areas. AMBI for high status was calculated removing the species of ecological groups IV and V from the dataset, according to Muxika et al. (2007). Reference conditions for high ecological status are shown in Table 3, while for bad status an azoic environment was considered (AMBI = 6; richness and diversity = 0).

#### 2.4. Data analysis

The relationships between indices were determined by the Pearson correlation for all datasets (140 sampling stations or periods) and for each salinity interval (oligohaline/mesohaline, polyhaline and euhaline). Linear regressions between BENFES and indices with the best correlations were carried out. Both analyses were performed using R (R Core Team, 2016). Previously, those samples containing  $\leq$  20 individuals were removed from analysis, following the arguments given by Dauvin and Ruellet (2009).

An inter-rater reliability analysis using the Kappa statistic was performed to determine consistency among EQS obtained by the different indices, again for all datasets and for each salinity interval. Since data are ordinal and possible misclassification is more important between close categories than between distant categories we carried out a weighted Kappa (Fleiss and Cohen, 1973) using the package "irr" v. 0.84 (Gamer et al., 2015) in R. The level of agreement between indices was established, based upon the equivalence table from Monserud and Leemans (1992).

#### Table 3

Reference conditions for high ecological status of M-AMBI according to Guadiana River estuary data. H' is based on log 2.

	AMBI	Diversity	Richness
Oligohaline	2.9	2.4	15
Mesohaline	2.5	2.7	18
Polyhaline	2.1	3	25
Euhaline (mouth area)	1.3	3.8	35
Marine area (10 m)	1.3	4	50
Marine area (20 m)	1.3	4.2	60

#### 3. Results

The Pearson correlation values obtained for the entire dataset and for each salinity interval are shown in Table 4. The maximum value for all data was set between M-AMBI and H' (0.776), which is logical since H' is part of the calculation of the first. The second highest value was found between BENFES and M-AMBI (0.755). BOPA/BO2A showed weaker correlations, except with AMBI (0.565), while BENTIX showed good correlations with both AMBI and M-AMBI. BENFES, M-AMBI and BENTIX exhibited high correlations with H'. In the case of oligohaline and mesohaline sites, the same trends were repeated with maximum correlation between BENFES and M-AMBI (0.867), and between BOPA/ BO2A and M-AMBI (-0.665). At polyhaline sites, BENFES displayed Ohighly significant correlation with M-AMBI (0.867) and weaker correlation with the other indices. Finally, in the euhaline zone, the correlations were higher between the different indices, although with the same trends observed with all datasets.

Linear regression between BENFES and MAMBI for all datasets showed an explained variability of 55%, with a relatively greater dispersion over the highest values of both indices (Fig. 2). For the saline zone, the highest explained variability was found in the oligohaline/ mesohaline and polyhaline areas (70% and 71%, respectively), while in the euhaline areas the explained variability was 60%. In relation to Shannon-Wiener diversity, the explained variability was 37% for all datasets, 36% for oligohaline/mesohaline, 32% for polyhaline and 33% for euhaline (Fig. 2).

The ecological statuses established with the different indices in each study area are shown in Table 5. In the Guadalquivir Estuary, these biotic indices resulted in determination of the spatio-temporal EQS of the different zones along the estuary and the nearby marine area. Among them, M-AMBI and BENFES separated two distinct areas: the inner area of the estuary, with a predominance of a poor to bad EQS, and the outer area with a high status; there was also a transitional zone located in the mouth of the river. BENTIX showed differences between inner and outer areas but these differences were less clear than with M-AMBI or BENFES. The BOPA/BO2A index showed contradictory results in the inner estuary zones, mainly due to the high poverty of softbottom communities in the Guadalquivir Estuary. Surprisingly, some stations showed a high EQS, although it was due to an artefact in

#### Table 4

Pearson coefficients between indices for the entire dataset and for each salinity interval. Significance level: \*\* (p < 0.01); \* (p < 0.05).

	BENTIX	BENFES	MAMBI	AMBI	H′
ALL DATASET (	137 sampling	stations)			
BOPA/BO2A	-0.367**	-0.262**	-0.462**	0.565**	-0.159
BENTIX	1	0.297**	0.553**	-0.742**	0.609**
BENFES		1	0.755**	-0.132	0.599**
MAMBI			1	-0.473**	0.776**
AMBI				1	-0.320**
OLIGOHALINE/	MESOHALINE	SITES (35 san	pling stations	)	
BOPA/BO2A	-0.477**	-0.405*	-0.665**	0.470**	-0.660**
BENTIX	1	0.244	0.456**	-0.740**	0.428**
BENFES		1	0.867**	-0.222	0.597**
MAMBI			1	-0.479**	0.875**
AMBI				1	-0.383*
POLYHALINE SI	TES (42 samp	ling stations)			
BOPA/BO2A	-0.233	-0.360*	-0.471**	0.307*	-0.125
BENTIX	1	0.058	0.418**	-0.786**	0.450**
BENFES		1	0.827**	0.193	0.563**
MAMBI			1	-0.144	0.843**
AMBI				1	-0.020
EUHALINE SITE	S (60 sampling	g stations)			
BOPA/BO2A	-0.670**	-0.322*	-0.453**	0.798**	-0.364**
BENTIX	1	0.327*	0.629**	-0.846**	0.521**
BENFES		1	0.771**	-0.317*	0.577**
MAMBI			1	-0.679**	0.832**
AMBI				1	-0.564**

calculation of the index (e.g., stations with only specimens of the amphipod *Corophium orientale*). AMBI showed scarce capacity for discrimination between zones, with a general predominance of good status. In the Guadiana Estuary, we observed a similar trend.

In the Palmones River, which has a small polyhaline estuary, most indices showed moderate to high EQS, except for BENTIX, which showed a predominance of poor or moderate status. However, with BENFES there was a predominance of high status, possibly due to the high number of families and species found in this locality.

Finally, in the study of Saladillo harbour, an area with a clear organic pollution gradient from the inner to outer zones, all of the indices showed the differences between zones, although with some discrepancies between status categories.

The highest Kappa values were obtained between BENFES and M-AMBI (Table 6). This analysis showed very good agreement between the indices for all datasets and euhaline sites and good agreement for polyhaline sites. BENTIX also showed good agreement with M-AMBI, AMBI and BOPA for euhaline sites but not for the other salinity ranges. For oligohaline/mesohaline sites, only BOPA and M-AMBI showed very good agreement. It is remarkable that AMBI and M-AMBI only presented a good agreement for euhaline sites. The greatest disagreement was found for polyhaline sites, except for BENFES and M-AMBI, and, secondarily, for BOPA and M-AMBI.

#### 4. Discussion

All the biotic indices resulted in determination of the EQS of the different study zones although some discrepancies were noted. Among them, M-AMBI and BENFES were the most useful and discriminant between areas. BENTIX could also be a good discriminant although it is more severe with the environmental conditions in the inner estuaries; BOPA/BO2A did not show clear trends in most cases, while AMBI tended to provide overestimation of the ecological status with a predominance of good status. The correlations between indices were higher in euhaline zones. These zones present environmental conditions for which most of the indices were designed; however, we saw a greater number of discrepancies in the other salinity ranges since it is more difficult to establish more general references.

Contradictory results in index comparisons have been reported by most authors, mainly due to differences in structure or design and discrepancies in the assignment of species sensitivity (Spagnolo et al., 2014). The main difference between these research works is based on selection of the best indicator according to the objectives and/or environment studied in each work. For example, in a study on the effects of offshore platforms in the Adriatic Sea, Spagnolo et al. (2014) indicated that BENTIX and BOPA indices appear to evaluate stress levels better than AMBI and M-AMBI indices due to the trend of the latter two to overestimate the ecological status. Hutton et al. (2015) argued that AMBI is the most suitable index for ecological monitoring of the estuarine system of Montevideo (Uruguay) compared to M-AMBI or BENTIX, as did Garaffo et al. (2017) for soft-bottom communities in sewage-affected shores or Brauko et al. (2015) for a subtropical estuary in Brazil, while Puente and Diaz (2008) preferred M-AMBI or BQI in contrast to AMBI in highly stressed natural estuaries in northern Spain. Similarly, Nebra et al. (2014) also pointed out that M-AMBI is the best indicator to set the ecological status in a highly stratified estuary such as Ebro (northwest Spain). To reduce these contradictions in the results it is imperative to adapt these indices to specific habitats, which implies the establishment of reference conditions for each environmental system and adjustment of the thresholds between EQS categories (Blanchet et al., 2008).

One of the WFD premises for establishing the ecological state of European water bodies is comparison with reference conditions. This is possible through historical data, direct comparisons with pristine areas, predictive modelling or opinion of experts (Elliott and de Jonge, 2002). The main problem is that historical data are not available everywhere



Fig. 2. Linear regression between BENFES and MAMBI and H' for the all dataset and for each salinity interval.

and there are few pristine areas, especially if we consider transitional waters. In fact, estuaries are naturally stressed systems with a high variability of environments where it is difficult to distinguish between natural and anthropogenic environmental stresses (Tweedley et al., 2015) and where there is more controversy and uncertainty in relation to the values of each index (Puente and Diaz, 2008). So far, although the majority of indices establish different degrees of sensitivity of organisms to different disturbances, the only indicator based directly on reference conditions is M-AMBI (Borja et al., 2015). In fact, M-AMBI is one of the indices that showed greater discrimination between the different stations in this study together with the new index BENFES.

Moreover, M-AMBI also presented relationships with other indices in specific areas of the study. Oligohaline and mesohaline areas have been the transitional waters zones less studied and recognized in monitoring studies so it is still hard to establish good standard reference conditions (Vinagre et al., 2015). In the present study, BOPA/BO2A and M-AMBI showed good EQS agreement in these zones, since the first, redesigned for use in transitional waters (Dauvin and Ruellet, 2009), appears to show better results in naturally muddy environments (Blanchet et al., 2008), and M-AMBI was specifically calculated for those environmental conditions.

For polyhaline sites, major discrepancies in the EQS categories

#### Table 5

Ecological Quality Status (EQS) and index value for each locality and for each salinity interval according to the results of the five indices. Station nomenclature obtained from original studies. Guadalquivir Estuary: J13 (July 2013), N13 (November 2013), M14 (March 2014), S14 (September 2014).

		l	вора	/BO2/	4	BENTIX		BENFES			MAMBI				AMBI						
Areas	Stations	J13	N13	M14	S14	J13	N13	M14	S14	J13	N13	M14	S14	J13	N13	M14	S14	J13	N13	M14	S14
Guadalquivi	r Estuary	,																			
	Y1	0.30	-	0.17	0.10	2.0	-	2.0	3.3	3	0	8	11	0.2	0.0	0.5	0.5	3.0	-	3.4	2.0
Oligohaline	Y2	0.30	0.15	0.09	0.08	2.0	2.0	3.8	2.0	1	9	9	10	0.0	0.6	0.5	0.5	6.0	3.4	2.0	3.3
	Y3	0.01	0.00	0.16	0.10	2.2	2.0	2.7	2.3	19	6	18	19	0.5	0.4	0.7	0.6	2.9	3.0	3.0	3.1
	Y4	0.12	-	0.10	-	3.3	-	4.0	2.0	16	0	8	3	0.6	0.0	0.4	0.1	2.0	-	1.5	5.0
P	P1	0.00	0.30	0.17	0.15	5.0	2.0	2.0	3.3	15	5	18	12	0.6	0.3	0.6	0.5	1.9	3.1	3.6	2.3
Mesobaline	P2	0.18	0.30	0.17	0.18	4.0	2.0	2.0	2.0	8	3	13	3	0.4	0.2	0.4	0.2	1.5	3.0	3.0	3.0
Westmanne	P3	0.29	0.29	0.18	0.18	2.0	2.1	2.0	2.9	6	10	6	11	0.2	0.3	0.3	0.4	4.5	3.0	3.0	2.3
	P4	0.23	0.10	0.18	0.10	2.7	5.0	2.2	2.9	8	8	15	16	0.3	0.5	0.4	0.5	2.5	8.0	2.9	2.3
	S1	0.23	0.30	0.17	0.17	2.7	2.0	2.3	2.0	29	20	8	23	0.5	0.3	0.3	0.3	2.6	3.0	2.8	3.0
Polyhaline	S2	0.17	0.26	0.13	0.18	3.4	2.4	3.2	2.0	13	13	15	6	0.4	0.3	0.4	0.2	1.9	2.7	2.1	3.0
1 orynainio	S3	0.29	0.30	0.18	0.13	2.1	2.0	2.0	2.1	14	6	15	26	0.3	0.2	0.3	0.5	2.9	3.0	3.0	2.9
	S4	0.16	0.16	0.03	0.05	2.1	3.5	5.4	5.1	11	16	17	21	0.4	0.5	0.5	0.6	2.9	1.9	0.5	0.7
	BI1	0.05	0.23		0.16	3.6	2.3		2.8	58	26		41	0.7	0.5		0.6	2.1	3.7		2.9
	BI2	0.25	0.24		0.03	2.7	2.8		5.5	40	44		10	0.4	0.6		0.4	3.7	3.2		0.6
	BI3	0.14	0.26		0.06	4.0	2.7		5.1	49	24		51	0.6	0.4		0.7	2.2	3.8		1.0
	BD1	0.08	0.22		0.18	5.2	2.6		3.6	49	85		71	0.7	0.6		0.6	1.7	3.2		2.9
	BD2	0.20	0.28		0.18	2.4	2.3		2.3	113	91		89 70	0.3	0.5		0.5	4.1	4.1		3.9
Fubaline	BIO	0.20	0.24		0.15	2.9	2.0		4.0	82	126		10	0.0	0.7		0.0	2.0	33		1.0
Luname	BF1	0.14	0.02		0 17	44	3.0		53	52	64		80	0.5	0.6		07	2.5	0.6		17
	BE2	0.15	0.22		0.18	4.1	2.5		2.3	61	70		38	0.5	0.5		0.3	2.8	3.1		4.1
	BE3	0.15	0.23		0.15	3.5	2.4		4.3	70	97		103	0.6	0.6		0.8	2.9	3.4		2.2
	VI	0.11	0.19		0.17	3.4	3.2		4.2	132	128		165	0.7	0.6		0.8	2.7	3.0		1.8
	VE1	0.06	0.08		0.17	3.7	4.5		4.2	70	71		97	0.6	0.6		0.7	2.4	1.9		1.7
	VE2	0.12	0.11		0.16	3.1	4.2		4.4	69	82		94	0.5	0.6		0.7	2.5	2.1		1.8

BOPA/BO2A	BENTIX	BENFES	MAMBI	AMBI		BOPA/BO2A	BENTIX	BENFES	MAMBI	AMBI	
					<u><u> </u></u>						

Areas	Stations						Areas	Stations					
Guadiana Es	stuary						Palmones E	stuary					
	GU1	0.02	2.1	25	0.7	3.1		92.1	0.02	2.0	83	0.55	3.0
Oligohaline	GU2	0.07	2.2	34	0.8	3.3		92.2	0.08	2.2	77	0.68	3.3
	GU3	0.16	2.0	57	0.9	3.0		92.3	S        1      0.02      2.0      83      0.55      3.0        2      0.08      2.2      77      0.68      3.3        3      0.14      2.5      115      0.80      3.2        1      0.06      2.0      79      0.51      3.4        2      0.12      2.2      131      0.65      3.8        3      0.01      2.3      194      0.72      2.8        1      0.00      2.0      117      0.55      3.0        2      0.01      2.1      77      0.54      3.0        2      0.01      2.2      124      0.65      2.9        1      0.00      2.0      38      0.43      3.0        2      0.01      2.2      124      0.65      2.9        1      0.00      2.0      38      0.43      3.0        2      0.01      2.2      124      0.65      2.3        1      0.05      2.5      28      0.58      2.				
	GU4	0.17	2.0	45	0.6	3.0		93.1	0.06	2.0	79	0.51	3.4
Mesohaline	GU5	0.03	5.1	37	0.9	2.0		93.2	0.12	2.2	131	0.65	3.8
	GU6	0.03	4.8	65	1.2	1.6		93.3	0.01	2.3	194	0.72	2.8
Polvhaline	GU7	0.02	2.8	56	0.8	2.7		94.1	0.00	2.0	117	0.55	3.0
Polynaline	CR1	0.10	4.4	240	1.0	1.9		94.2	0.01	2.1	77	0.54	3.0
	GU8	0.00	5.7	91	0.9	0.6		94.3	0.00	2.1	262	0.81	2.9
	CR2	0.01	5.2	147	1.0	1.2		95.1	0.00	2.0	38	0.43	3.0
E de alla a	H1	0.10	4.3	183	0.9	2.2		95.2	0.01	2.2	124	0.65	2.9
Eunaline	H2	0.13	4.6	233	1.0	2.5	Polyhalina	95.3	0.03	3.5	128	0.84	1.9
	H1B	0.11	4.2	298	1.0	2.5	Polynaine	96.1	0.05	2.5	28	0.58	2.6
	H2B	0.09	3.1	219	0.7	3.6		96.2	0.08	2.2	49	0.54	3.2
Saladillo Har	rbour						•	96.3	0.21	2.1	69	0.37	4.8
	N1	0.30	2.1	20	0.20	5.8		97.1	0.09	3.5	113	0.86	2.3
	N2	0.30	2.0	7	0.07	5.9		97.2	0.21	2.2	111	0.55	4.6
	N3	0.30	2.0	12	0.04	6.0		97.3	0.22	2.7	200	0.79	4.3
	N6	0.29	2.2	44	0.29	5.4		98.1	0.11	2.9	81	0.66	2.8
Euhaline	N7	0.28	2.1	23	0.49	4.4		98.2	0.13	2.7	144	0.77	3.3
	N9	0.27	4.3	133	1.00	2.6		98.3	0.03	3.4	133	0.85	2.3
	N11	0.16	3.6	163	0.96	2.4		99.1	0.01	3.2	152	0.78	2.1
	N13	0.23	4.7	135	0.89	1.9		99.2	0.09	2.4	152	0.68	3.4
	N17	0.23	5.0	172	1.00	1.8		99.3	0.19	2.6	222	0.97	2.8
								93.4	0.15	3.4	184	0.68	3.3
								94.4	0.07	3.7	110	0.74	2.2
								95.4	0.00	5.9	133	0.74	1.1
							Euhaline	96.4	0.07	4.0	86	0.64	1.9
								97.4	0.08	5.1	127	0.70	1.9
								98.4	0.05	5.0	241	1.00	1.3
								99.4	0.05	2.7	227	0.70	2.6

#### Table 6

Kappa values and agreement levels (in colour code) for the Ecological Quality Status (EQS) between each indices (H' excluded). Level of agreement "excellent" and "perfect" were not found.



assigned by each index were obtained although the correlations between some indices were generally high (0.827 between BENFES and M-AMBI; -0.786 between BENTIX and AMBI), even though the correlations with H' were the lowest of all areas included in this work (e.g., 0.563 with BENFES). This type of area is a highly variable environment that seems to depend on other factors in addition to salinity such as nutrient input, habitat complexity or tidal range, which can hinder the establishment of more general reference conditions and, perhaps, it needs a particular treatment in the different geographical areas.

The BENFES index is a good discriminator of different environmental conditions, showing major agreement of all pair comparisons of the study together with M-AMBI. Consequently, it has strong agreement and good correlations with M-AMBI in the different salinity areas of the present study. This enhances that, although BENFES is not based on the previous establishment of reference conditions, its simple calculation and lower effort necessary mean BENFES can be a very useful index to establish EQS and indirectly comply with this premise of WFD.

Regardless of BENFES and M-AMBI, the ability of the other indices to discriminate between environments is less clear. For example, BENTIX was a good discriminator in coastal areas (good agreement with M-AMBI, AMBI and BOPA) but it was very severe for estuarine environments. Simboura and Reizopoulou (2008) have already highlighted the limitations of this index in transitional waters since it was specifically developed for euhaline waters. Even in other studies such as in the Ebro estuary, BENTIX showed values strikingly opposed to richness, abundance and diversity indices (Nebra et al., 2014). Some authors have pointed out that a possible cause is the design of BENTIX which weights each ecological group, both tolerant and opportunistic species, equally while the abundance of tolerant species increase in naturally stressed environments such as estuaries (Garaffo et al., 2017; Hutton et al., 2015; Muniz et al., 2012).

On the contrary, BOPA/BO2A is a more limited index for discriminating the different environments studied, showing contradictory results, mainly in the inner Guadalquivir and Guadiana estuaries with a trend to overestimate the ecological status. This overestimation has been indicated by several authors for specific habitats such as shallow sublittoral soft-bottoms affected by sewage disposal in the north-western Mediterranean (de la Ossa-Carretero et al., 2009), transitional waters of the Seine Estuary (Blanchet et al., 2008) or the lower Ebro Estuary (Nebra et al., 2014). In environments characterized by high biological poverty of soft-bottom communities, such as in the subtidal oligohaline and mesohaline zone of the Guadalquivir Estuary, it is relatively easy to find areas with only one species of amphipod (e.g., stations with only specimens of the amphipods *Corophium orientale* or *Bathyporeia pilosa*); while they may lack or present few individuals of opportunistic polychaetes, which leads to erroneous results with BOPA or BO2A.

Finally, AMBI also shows little capacity for discrimination between estuarine habitats by assigning most of them a good ecological status. Its scarce sensitivity to discriminate between polluted and unpolluted sites in naturally stressed communities has been reported by several authors (Puente and Diaz, 2008, and references therein). However, it clearly shows the gradient of organic pollution determined by sewage disposal in the study of Saladillo Harbour (Algeciras Bay). AMBI was primarily developed by Borja et al. (2000), based on the gradient of organic matter enrichment in agreement with Pearson and Rosenberg (1978). Therefore, AMBI's utility for detecting this type of disturbance has been widely documented (Borja et al., 2003, 2009; Brauko et al., 2015; Dauvin et al., 2012; among others).

Hence, the new index BENFES shows several advantages over the rest of the indices included in this work: 1) it only requires identification of the individuals found at the family level; 2) it has greater reliability (less risk of errors in taxonomic identification, which is aggravated by the existence in the benthos of numerous cryptic species); 3) it is only necessary to note presence/absence, not abundance, which means a considerable saving of time, highly qualified personnel and, consequently, money. All this implies a huge possibility to perform a simplified monitoring routine for the control of the ecological quality of our water bodies. We propose the following work plan for this environmental monitoring: 1) a first phase consisting of a unique previously qualified study to find out the main species occurring in the area, and then assignment of a value to each family; 2) a second phase of monitoring soft-bottom communities, without the need for taxonomic expertise, with a number of representative samples for each study area.

#### 5. Conclusion

In conclusion, much controversy has arisen over the consistency and usefulness of ecological indicators, especially if we consider loss of information by reducing the complexity of a community to a single value (Green and Chapman, 2011). In addition, many questions arise such as the real need to use complicated indices or subjectivity and objectivity in the assessment of benthic quality status (Dauvin et al., 2012). Obviously, none of the many existing indices can be considered definitive or effective to a high degree, so that the ideal situation to ensure the ecological state of water bodies would be to combine different actions such as comparison of indices with other more complex methodologies. Nevertheless, if the objective is to obtain a tool to evaluate the ecological status of European waters sufficiently fast and with little difficulty for the majority of decision-makers and environmental management organizations, it is essential to develop instruments such as the new index proposed, BENFES. Although BENFES does not strictly comply with WFD's requirements with regard to using data of abundance and richness of species, it can be considered as a preliminary, rapid and cost effective assessment method for monitoring the ecological status of transitional and coastal waters We recommend the parallel development of research studies and monitoring programmes, more economical in cost and time, that allow validation of the effectiveness of these tools, especially if the results are contradictory or unsatisfactory.

#### Acknowledgments

We thank to Autoridad Portuaria de Sevilla (APS) for financial support. This work was partially supported by the V Plan Propio Universidad de Sevilla via a pre-doctoral grant.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at http://dx. doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.10.014.

#### References

- Alba-Tecedor, J., Sánchez-Ortega, A., 1988. Un método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas corriente basado en el de Hellawell (1978). Limmnetica 4, 51–56.
- Basset, A., Barbone, E., Borja, A., Brucet, S., Pinna, M., Quintana, X.D., Reizopoulou, S., Rosati, I., Simboura, N., 2012. A benthic macroinvertebrate size spectra index for implementing the Water Framework Directive in coastal lagoons in Mediterranean and Black Sea ecoregions. Ecol. Indic. 12, 72–83.
- Blanchet, H., Lavesque, N., Ruellet, T., Dauvin, J.C., Sauriau, P.G., Desroy, N., Desclaux, C., Leconte, M., Bachelet, G., Janson, A.-L., Bessineton, C., Duhamel, S., Jourde, J., Mayot, S., Simon, S., de Montaudouin, X., 2008. Use of biotic indices in semi-enclosed coastal ecosystems and transitional waters habitats—implications for the im-
- plementation of the European Water Framework Directive. Ecol. Indic. 8, 360–372. Borja, A., Dauer, D.M., 2008. Assessing the environmental quality status in estuarine and coastal systems: comparing methodologies and indices. Ecol. Indic. 8, 331–337.
- Borja, A., Dauer, D.M., Díaz, R., Llansó, R.J., Muxika, I., Rodríguez, J.G., Schaffner, L., 2008. Assessing estuarine benthic quality conditions in Chesapeake Bay: a comparison of three indices. Ecol. Indic. 8, 395–403.
- Borja, A., Franco, J., Pérez, V., 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within european estuarine and coastal environments. Mar. Pollut. Bull. 40 (12), 1100–1114.
- Borja, A., Marín, S.L., Muxika, I., Pino, L., Rodríguez, J.G., 2015. Is there a possibility of ranking benthic quality assessment indices to select the most responsive to different human pressures? Mar. Pollut. Bull. 97, 85–94.
- Borja, A., Muxika, I., Franco, J., 2003. The application of a Marine Biotic Index to different impact sources affecting soft-bottom benthic communities along European coasts. Mar. Pollut. Bull. 46, 835–845.
- Borja, A., Muxika, I., Rodríguez, J.G., 2009. Paradigmatic responses of marine benthic communities to different anthropogenic pressures, using M-AMBI, within the European Water Framework Directive. Mar. Ecol. 30, 214–227.
- Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., Poikane, S., Solimini, A., van de Bund, W., Zampoukas, N., Hering, D., 2012. Three hundred ways to assess Europe's surface waters: an almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. Ecol. Indic. 18, 31–41.
- Brauko, K.M., de Souza, F.M., Muniz, P., Garcia de Camargo, M., Lana, P.C., 2015. Spatial variability of three benthic indices for marine quality assessment in a subtropical estuary of Southern Brazil. Mar. Pollut. Bull. 91, 454–460.
- Costa-Dias, S., Sousa, R., Antunes, C., 2010. Ecological quality assessment of the lower Lima Estuary. Mar. Pollut. Bull. 61, 234–239.
- Dauvin, J.C., 2008. Effects of heavy metal contamination on the macrobenthic fauna in estuaries: the case of the Seine estuary. Mar. Pollut. Bull. 57, 160–169.
- Dauvin, J.C., Alizier, S., Rolet, C., Bakalem, A., Bellan, G., Gomez-Gesteira, J.L., Grimes, S., de-la-Ossa-Carretero, J.A., Del-Pilar-Ruso, Y., 2012. Response of different benthic indices to diverse human pressures. Ecol. Indic. 12, 143–153.
- Dauvin, J.C., Andrade, H., de-la-Ossa-Carretero, J.A., Del-Pilar-Ruso, Y., Riera, R., 2016. Polychaete/amphipod ratios: an approach to validating simple benthic indicators. Ecol. Indic. 63, 89–99.
- Dauvin, J.C., Ruellet, T., 2007. Polychaete/amphipod ratio revised. Mar. Pollut. Bull. 55, 215–224.
- Dauvin, J.C., Ruellet, T., 2009. The estuarine quality paradox: is it possible to define an ecological quality status for specific modified and naturally stressed estuarine ecosystems? Mar. Pollut. Bull. 59, 38–47.
- de Paz, L., Patrício, J., Marques, J.C., Borja, A., Laborda, A.J., 2008. Ecological status assessment in the lower Eo estuary (Spain). The challenge of habitat heterogeneity integration: a benthic perspective. Mar. Pollut. Bull. 56, 1275–1283.
- Diaz, R.J., Solan, M., Valente, R.M., 2004. A review of approaches for classifying benthic habitats and evaluating habitat quality. J. Environ. Manag. 73, 165–181.
- de Jonge, V.N., 2000. Importance of temporal and spatial scales in applying biological and physical process knowledge in coastal management, an example for the Ems estuary. Cont. Shelf Res. 20, 1655–1686.
- de-la-Ossa-Carretero, J.A., del-Pilar-Ruso, Y., Giménez-Casalduero, F., Sánchez-Lizaso, J.L., 2009. Testing BOPA index in sewage affected soft-bottom communities in the north-western Mediterranean. Mar. Pollut. Bull. 58, 332–340.
- de-la-Ossa-Carretero, J.A., Simboura, N., del-Pilar-Ruso, Y., Pancucci-Papadopoulou, M.A., Giménez-Casalduero, F., Sánchez-Lizaso, J.L., 2012. A methodology for applying Taxonomic Sufficiency and benthic biotic indices in two Mediterranean areas. Ecol. Indic. 23, 232–241.
- Dimitriou, P.D., Apostolaki, E.T., Papageorgiou, N., Reizopoulou, S., Simboura, N., Arvanitidis, C., Karakassis, I., 2012. Meta-analysis of a large data set with Water Framework Directive indicators and calibration of a Benthic Quality Index at the

family level. Ecol. Indic. 20, 101–107.

- Elliott, M., de Jonge, V.N., 2002. The management of nutrients and potential eutrophication in estuaries and other restricted water bodies. Hydrobiologia 475/476, 513–524.
- Estacio, F.J., García-Adiego, E.M., Carballo, J.L., Sánchez-Moyano, J.E., Izquierdo, J.J., García-Gómez, J.C., 1999. Interpreting temporal disturbances in an estuarine benthic community under combined anthropogenic and climatic effects. J. Coast. Res. 15 (1), 155–167.
- Estacio, F.J., García-Adiego, E., Fa, D., García-Gómez, J.C., Daza, J.L., Hortas, F., Gómez-Ariza, J.L., 1997. Ecological analysis in a polluted area of Algeciras Bay (Southern Spain): external vs. internal outfalls and environmental implications. Mar. Pollut. Bull. 34, 780–793.
- Feebarani, J., Joydas, T.V., Damodaran, R., Borja, A., 2016. Benthic quality assessment in a naturally- and human-stressed tropical estuary. Ecol. Indic. 67, 380–390.
- Fleiss, J.L., Cohen, J., 1973. The equivalence of weighted Kappa and the intraclass correlation coefficient as measures of reliability. Educ. Psychol. Meas. 33, 613–619.
- Gamer, M., Lemon, J., Fellows, I., Singh, P., 2015. Package "irr": various coefficients of interrater reliability and agreement. Available from: http://www.R-project.org/.
- Garaffo, G.V., Jaubet, M.L., Becherucci, M.E., Elías, R., 2017. Assessing environmental health using ecological indices for soft bottom in sewage-affected rocky shores: the case of the largest seaside resort of SW Atlantic. Mar. Pollut. Bull. 115, 233–239.
- González-Duarte, M.M., Megina, C., Piraino, S., Cervera, J.L., 2013. Hydroid assemblages across the Atlantic–Mediterranean boundary: is the Strait of Gibraltar a marine ecotone? Mar. Ecol. 34 (Suppl. 1), 33–40.
- Green, R., Chapman, P.M., 2011. The problem with indices. Mar. Poll. Bull. 62, 1377–1380.
- Hellawell, J.M., 1978. Biological Surveillance of Rivers. Water Research Center, Stevenage.
- Hutton, M., Venturini, N., García-Rodríguez, F., Brugnoli, E., Muniz, P., 2015. Assessing the ecological quality status of a temperate urban estuary by means of benthic biotic indices. Mar. Pollut. Bull. 91, 441–453.
- Mistri, M., Munari, C., 2008. BITS: a SMART indicator for soft-bottom, non-tidal lagoons. Mar. Pollut. Bull. 56, 580–606.
- Monserud, R.A., Leemans, R., 1992. Comparing global vegetation maps with the Kappa statistic. Ecol. Model 62, 275–293.
- Munari, C., Manini, E., Pusceddu, A., Danovaro, R., Mistri, M., 2009. Response of BITS (a benthic index based on taxonomic sufficiency) to water and sedimentary variables and comparison with other indices in three Adriatic lagoons. Mar. Ecol. 30, 255–268.
- Muniz, P., Hutton, M., Kandratavicius, N., Lanfranconi, A., Brugnoli, E., Venturini, N., Giménez, L., 2012. Performance of biotic indices in naturally stressed estuarine environments on the Southwestern Atlantic coast (Uruguay): a multiple scale approach. Ecol. Indic. 19, 89–97.
- Muxika, I., Borja, A., Bald, J., 2007. Using historical data, expert judgement and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive. Mar. Pollut. Bull. 55, 16–29.
- Nebra, A., Caiola, N., Muñoz-Camarillo, G., Rodríguez-Climent, S., Ibáñez, C., 2014. Towards a suitable ecological status assessment of highly stratified mediterranean estuaries: a comparison of benthic invertebrate fauna indices. Ecol. Indic. 46, 177–187.
- Paul, K., Scott, J., Campbell, D.E., Gentile, J.H., Strobel, C.S., Valente, R.M., Weisberg, S.B., Holland, A.F., Ranasinghe, J.A., 2001. Developing and applying a benthic index of estuarine condition for the Virginian Biogeographic Province. Ecol. Indic. 1, 83–99.
- Pearson, T.H., Rosenberg, R., 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev. 16, 229–311.
- Pinto, R., Patricio, J., Baeta, A., Fath, B.D., Neto, J.M., Marques, J.C., 2009. Review and evaluation of estuarine biotic indices to assess benthic condition. Ecol. Indic. 9, 1–25.
- Puente, A., Diaz, R.J., 2008. Is it possible to assess the ecological status of highly stressed natural estuarine environments using macroinvertebrates indices? Mar. Pollut. Bull. 56, 1880–1889.
- R Core Team, 2016. In: R Foundation for Statistical Computing (Ed.), R: a Language and Environment for Statistical Computing. 3.2.4, Vienna, Austria.
- Rosenberg, R., Blomqvist, M., Nilsson, C.H., Cederwall, H., Dimming, A., 2004. Marine quality assessment by use of benthic species-abundance distributions; a proposed new protocol within the European Union Water Framework Directive. Mar. Pollut. Bull. 49, 728–739.
- Rygg, B., 2002. Indicator Species Index for Assessing Benthic Ecological Quality in Marine Waters of Norway. Norwegian Institute for Water Research Report 4548–2002.
- Rygg, B., Norling, K., 2013. Norwegian Sensitivity Index (NSI) for Marine Macroinvertebrates, and an Update of Indicator Species Index (ISI). Norwegian Institute for Water Research Report 6475–2013.
- Sánchez-Moyano, J.E., Fa, D.A., Estacio, F.J., García-Gómez, J.C., 2006. Monitoring of marine benthic communities and taxonomic resolution: an approach through diverse habitats and substrates along the southern Iberian coastline. Helgol. Mar. Res. 60, 243–255.
- Sánchez-Moyano, J.E., García-Adiego, E.M., García-Asencio, I., García-Gómez, J.C., 2003. Influencia del gradiente ambiental sobre la distribución de las comunidades macrobentónicas del estuario del Guadiana. Bol. Inst. Esp. Oceanogr. 19 (1–4), 123–134.
- Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., 2010. Crustacean assemblages in a polluted estuary from South-Western Spain. Mar. Pollut. Bull. 60, 1890–1897.
- Sánchez-Moyano, J.E., García-Asencio, I., 2011. Crustacean assemblages along the Guadiana River estuary (southwestern Iberian Peninsula). J. Mar. Biol. Ass. U. K. 91 (1), 127–138.
- Simboura, N., Argyrou, M., 2010. An insight into the performance of benthic classification

#### J.E. Sánchez-Moyano et al.

indices tested in Eastern Mediterranean coastal waters. Mar. Pollut. Bull. 60, 701–709.

- Simboura, N., Reizopoulou, S., 2008. An intercalibration of classification metrics of benthic macroinvertebrates in coastal and transitional ecosystems of the Eastern Mediterranean ecoregion (Greece). Mar. Pollut. Bull. 56, 116–126.
- Simboura, N., Zenetos, A., 2002. Benthic indicators to use in Ecological Quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new Biotic Index. Medit. Mar. Sci. 3 (2), 77–111.
- Sousa, R., Dias, S., Freita, V., Antunes, C., 2008. Subtidal macrozoobenthic assemblages along the River Minho estuarine gradient (north-west Iberian Peninsula). Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst. 18, 1063–1077.
- Spagnolo, A., Punzo, E., Santelli, A., Scarcella, G., Strafella, P., Grati, F., Fabi, G., 2014. Offshore platforms: comparison of five benthic indicators for assessing the macrozoobenthic stress levels. Mar. Pollut. Bull. 82, 55–65.
- Teixeira, H., Borja, A., Weisberg, S.B., Ranasinghe, J.A., Cadie, D.B., Dauer, D.M., Dauvin, J.C., Degraer, S., Diaz, R.J., Grémare, A., Karakassi, I., Llanso, R.J., Lovell, L.L., Marques, J.C., Montagne, D.E., Occhipinti-Ambroggi, A., Rosenberg, R., Sarda, R.,

Schaffner, L.C., Velarde, R.G., 2010. Do experts across North America and Europe produce comparable assessments of marine benthic infaunal community condition using Best Professional Judgement? Mar. Pollut. Bull. 60, 598–600.

- Tweedley, J.R., Warwick, R.M., Clarke, K.R., Potter, I.C., 2014. Family-level AMBI is valid for use in the north-eastern Atlantic but not for assessing the health of microtidal Australian estuaries. Estuar. Coast. Shelf Sci. 141, 85–96.
- Tweedley, J.R., Warwick, R.M., Potter, I.C., 2015. Can biotic indicators distinguish between natural and anthropogenic environmental stress in estuaries? J. Sea Res. 102, 10–21.
- Vinagre, P.A., Pais-Costa, A.J., Marques, J.C., Neto, J.M., 2015. Setting reference conditions for mesohaline and oligohaline macroinvertebrate communities sensu WFD: helping to define achievable scenarios in basin management plans. Ecol. Indic. 56, 171–183.
- Ysebaert, T., Herman, P.M.J., 2002. Spatial and temporal variation in benthic macrofauna and relationships with environmental variables in an estuarine, intertidal soft-sediment environment. Mar. Ecol. Prog. Ser. 244, 105–124.



## ¿Coralígeno en la desembocadura del río Guadalquivir?: Biodiversidad oculta bajo aguas de elevada turbidez

Javier Pellón\*, Roi González Aranda y José Carlos García-Gómez

Laboratorio de Biología Marina, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla. Área de Investigación Biológica I+D+i del Acuario de Sevilla

Autor para correspondencia: j.g.pellon@gmail.com

## RESUMEN

El estuario del río Guadalquivir y las áreas marinas adyacentes se caracterizan por su elevada turbidez. En la desembocadura, debido a la dilución con el agua de mar, la turbidez es moderadamente baja en comparación con el río aunque se han alcanzado máximos de 4.000 FTUs en episodios de turbidez extrema, lo que sitúa al estuario del Guadalquivir entre los más turbios del mundo. Dicha pérdida de transparencia del agua ha propiciado que, históricamente, los organismos que viven en el lecho estuarino hayan sido poco estudiadas con técnicas de observación directa. Para avanzar en la comprensión de la dinámica de las comunidades de coralígeno que se alojan en sistemas de aguas turbias, el Laboratorio de Biología Marina de la Universidad de Sevilla (LBMUS) ha iniciado un estudio en la desembocadura del Guadalquivir y áreas marinas aledañas. El objetivo de nuestra investigación es el seguimiento a largo plazo de organismos indicadores que viven fijos al sustrato rocoso mediante la utilización de estacionescentinela permanentes. Éste y otros objetivos se recogen dentro de un proyecto de estudio integral del estuario del Río Guadalquivir que coordina la Universidades de Sevilla (US) y participan las Universidades de Huelva (UHU), Cádiz (UCA) y Málaga (UMA), así como el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). En el presente trabajo se muestran los resultados de nuestras primeras prospecciones realizadas con equipo de buceo autónomo en la zona. Se detectaron numerosos invertebrados bentónicos (corales y esponjas, principalmente) componentes de ambientes de coralígeno mediterráneo, y en algunos casos abundancias altas de especies propias de áreas marinas con buen estatus de conservación, como es el coral candelabro (Dendrophyllia ramea) o la gorgonia gigante (Ellisella paraplexauroides).

*Palabras clave*: Estuario; Desembocadura; Río Guadalquivir; Turbidez; Coralígeno; Sustrato duro; Seguimiento temporal; Monitorización; Análisis de imágenes.

## INTRODUCCIÓN

En las áreas marinas de la vertiente Atlántica andaluza encontramos aguas caracterizadas por su elevada turbidez. En la franja litoral que se enmarca entre el Parque Nacional Doñana (Huelva) y la ciudad gaditana de Rota, la turbidez es especialmente

evidente debido a la influencia que ejerce el río Guadalquivir.La turbidez que generan los ríos es producida por partículas en suspensión que éstos recogen a lo largo de su cauce. En el caso del Guadalquivir, los valores de turbidez en zonas próximas a la desembocadura muy raramente superan valores de 100-200 FTUs (*Formazine Turbi-dity Units*), aunque se ha llegado a alcanzar los 4.000 FTUs durante eventos excepcionales de turbidez (Losada *et al.*, 2010). Así, cuando el río Guadalquivir vierte sus aguas desde el continente hacia el Océano Atlántico, exporta con ellas sólidos en suspensión, de origen orgánico o inorgánico, que disminuyen la transparencia del agua. Este sedimento forma una "pluma" que se adentra en el océano formando una 'pluma de sedimento o de turbidez' (Fig. 1, A).

Estudios anteriores han concluido que la persistencia de elevados niveles de turbidez sobre determinadas zonas, puede reducir las poblaciones de especies acuáticas (Rogers, 1990; Newcombe & Jensen, 1996). En el estuario del Guadalquivir se han descrito casos referidos a especies de interés pesquero, por ejemplo, descenso de densidades poblacionales de peces en zonas de alevinaje (Arias García *et al.*, 2009). Y en desembocaduras de otros ríos se han reportado casos de daños causados por incidencia crónica de la pluma de sedimento sobre comunidades de coral (Restrepo *et al.*, 2016).



Figura 1. (A) Estuario del Guadalquivir durante un evento de pluma de sedimento o turbidez excepcionalmente extensa, en noviembre de 2012. Fuente imagen: The Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS) on NASA's Aqua satellite. (B) Batimetría del área de estudio, con cada uno de los puntos de muestreo numerados.

Por otra parte, la escasa visibilidad bajo estas aguas, no permite actividades normales de buceo, ya que durante la inmersión la visibilidad máxima observada es de 1.5 o 2 m. Ello ha propiciado que la biota litoral de dicha zona sea una gran desconocida, lo que concierne específicamente a las comunidades bentónicas sésiles de sustrato duro (comunidades de especies que viven fijadas al lecho marino rocoso). Este desconocimiento no se debe sólo a la turbidez y a la escasez de inmersiones en la zona, sino también a que sobre los sustratos marinos pedregosos, debido a la naturaleza de éste, no se puede faenar con redes, ni extraer áridos en busca de bivalvos. En cambio, son explotadas, y por ello bien conocidas en la zona, las especies que se obtienen en fondos de sustratos blandos, y suponen recursos de interés pesquero. Por ello aquellas especies que pueden extraerse

en la zona y comercializarse, gozan de mayor conocimiento y popularidad en las lonjas locales y mercado nacional. Como ejemplos podemos citar a la urta (*Pagrus auriga*), a la gamba blanca (*Parapenaeus longirostris*), o a la chirla (*Chamelea gallina*).

Durante episodios de elevada turbidez en el estuario del Guadalquivir y áreas marinas próximas, la luz apenas puede penetrar en el agua. Así, incluso en los días de aguas más transparentes en la desembocadura, encontramos que la incidencia de radiación es ya muy escasa a partir de -10 m. A ello se debe que las especies sésiles que esperamos encontrar en fondos rocosos de la zona, de profundidades entre 15 y 40 m, serán esciáfilas (que muestran preferencia por zonas sombrías), y además escasearán los organismos vegetales por su dependencia de la luz para nutrirse a través de la fotosíntesis.

Para avanzar en el conocimiento científico que existe sobre los invertebrados sésiles en fondos rocosos estuarinos turbios o de escasa visibilidad, son muy eficaces las técnicas de monitorización mediante análisis de imagen descritas por numerosos autores (Foster *et al.*, 1991; Whorff, J. S. & Grifting, 1992; Parravicini *et al.*, 2009; Van Rein *et al.*, 2011; García-Gómez, 2015). Estas técnicas actualmente experimentan un crecimiento exponencial, a causa del abaratamiento de tecnologías antes inaccesibles para la gran mayoría de los grupos de investigación. Además, la característica más relevante que destaca a los muestreos de tipo fotográfico por encima de otros utilizados históricamente, estriba en que es un método no invasivo o no extractivo, de manera que el impacto de un muestreo de este tipo no merma en ninguna medida el medio ni las poblaciones de las especies objeto de estudio (Bussoti *et al.*, 2006) y permite el seguimiento temporal de exactamente los mismos especímenes (Garrabou *et al.*, 2002).

Recientemente numerosos estudios revelan que las especies bentónicas son de especial utilidad para la detección de perturbaciones ambientales debido a su sensibilidad ante determinados impactos físicos y/o químicos (Naranjo *et al.*, 1996; Grubelić *et al.*, 2004; Lejeusne *et al.*, 2010; Bramanti *et al.*, 2013; Verdura *et al.*, 2013). Por tanto, son organismos indicadores o "bioindicadores".

Las nuevas técnicas y conocimientos expuestos nos sugieren que, para conocer la tolerancia o sensibilidad de organismos sésiles (corales, esponjas, ascidias y briozoos, principalmente) a impactos ambientales a corto plazo (carácter local), o bien a medio-largo plazo a una escala geográfica amplia (calentamiento global) en escenarios estuarinos (o muy próximos a éstos) de elevada turbidez y alta tasa de sedimentación debe programarse un seguimiento temporal de aquéllos, especialmente de los que puedan ser particularmente sensibles (bioindicadores), mediante estaciones-centinela subacuáticas que incluyan cuadrículas permanentes que permitan el fotografiado sistemático y periódico de las especies indicadoras contenidas en las mismas y su estudio continuado mediante técnicas de análisis de imágenes (García-Gómez, 2007, 2015).

Este objetivo, en el ámbito de la desembocadura del río Guadalquivir, se implementará entre un conjunto de ellos, en un proyecto de investigación de carácter integrado, en el que participan las Universidades de Sevilla (US), Huelva (UHU), Cádiz (UCA) y Málaga (UMA), así como el CSIC. Lo coordinará el Laboratorio de Biología Marina de la Universidad de Sevilla (LBMUS).

Previamente, para explorar su viabilidad, se prospectaron los fondos rocosos marinos adyacentes a la desembocadura del Guadalquivir para juzgar la conveniencia o no de incluirlo en un estudio integral de monitorización periódica del estuario del río Guadalquivir, poniendo especial énfasis en su desembocadura.

En este trabajo se recogen observaciones preliminares de las especies bentónicas de sustrato duro y ambientes muy turbios, susceptibles de ser monitorizadas en cuadrículas permanentes mediante técnicas de análisis de imágenes.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo preliminar se ha desarrollado en la desembocadura del río Guadalquivir concretamente en el litoral que se extiende desde la desembocadura del Guadalquivir hasta el puerto de Rota (Cádiz). Para la elección del emplazamiento se tuvieron en cuenta las corrientes de deriva predominantes en la zona, que dirigen la pluma de turbidez desde la desembocadura hacia el Sur (Fig. 1, A.). La cota batimétrica durante las inmersiones se mantuvo entre -10 y -20 m (Fig. 1, B.).

Las prospecciones se realizaron a lo largo de dos jornadas en julio de 2014, mediante buceo autónomo con aire comprimido (Fig. 2.). La primera actuación consistió en inspeccionar tres puntos de muestreo, los cuales describen un gradiente de turbidez del agua. Los puntos, según se señalan en Fig. 1, B., son los siguientes: (1) el punto menos influido por la carga de sedimento del Río, frente a Rota; (2) punto intermedio; y (3) el más cercano a la desembocadura, frente a Chipiona;.

La metodología propuesta para el presente estudio consiste en un seguimiento temporal de parcelas permanentes mediante análisis de imagen (Fig. 3.). Se trata de una técnica desarrollada por el LBMUS y basada en la utilización de "estaciones-centinela" de



Figura 2. (A) Uno de los dos grupos de buzos un momento antes de iniciar la inmersión y (B) fotografía submarina de un buzo durante la inmersión, que atestigua la escasa visibilidad durante los trabajos.

vigilancia ambiental (Fig. 4.) para el seguimiento de especies bioindicadoras sésiles. Cada estación se compone de tres cuadrículas de PVC de 1 x 1 m, ancladas al sustrato rocoso (Fig. 4) (García-Gómez, 2015).

Para cada uno de los tres puntos estudiados, en primer lugar, se llevó a cabo una caracterización de las especies bentónicas presentes. En segundo lugar, se procedió a la instalación de la estación-centinela en el emplazamiento determinado previamente como de máximo interés. Estas tareas fueron realizadas por un primer grupo de buceadores, que incluía a los expertos del LBMUS. Un segundo grupo de buceadores realizó el muestreo fotográfico de cada estación-centinela, a fin de establecer el 'estado 0' de la comunidad bentónica sésil presente en ésta.

Figura 3. Captura de pantalla durante el desarrollo de técnicas de análisis de imagen en el LBMUS.

Figura 4. (A) Materiales que se precisan para la instalación de una estacióncentinela de vigilancia ambiental subacuática, y directrices básicas a seguir.







2- ESQUEMA DE COLOCACIÓN



3- PERFORACIÓN DE ORIFICIOS



5- FIJACIÓN DE CUADRÍCULAS



4- SUJECIÓN DE ANCLAJES



6- FOTOGRAFIADO

Figura 5. Fotografías de especies bentónicas sésiles detectadas en la desembocadura del Guadalquivir durante el estudio. A-C: Coral candelabro (Dendrophyllia ramea); D-E: Coral naranja (Astroides calycularis); F: Anémona de tubo (Cerianthus membranaceus); G: Coral amarillo (Parazoanthus axinellae) ; H: Veretillum spp. I: Esponja tubular amarilla (Aplysina aerophoba) ; J: Esponjas de porte erecto; K: Esponjas de porte erecto y coral candelabro; L: Gorgonia blanca (Eunicella sp). M: Gorgonia blanca y briozoo (Pentapora fascialis); O y P: Detalles de gorgonia gigante (Ellisella paraplexauroides).



## RESULTADOS

Durante las inmersiones realizadas en la zona de estudio, fueron hallados abundantes ejemplares o colonias de invertebrados sésiles (corales, esponjas, ascidias y briozoos, entre otros) de diferentes especies y gran porte. Aunque el horizonte de visibilidad en inmersión fue de unos 2 m, encontramos numerosos organismos representantes de diferentes Filos. Las especies más representativas se detallan en las fotografías de la Fig. 5, A-P.

Algunas de estas especies marinas son de notable valor ecológico por su rareza (baja abundancia, baja frecuencia de detección o pequeña área de distribución), por su grado de amenaza, o por presentar requerimientos ecológicos exigentes. De entre las especies detectadas, las que presentan algún tipo de figura de protección son: el coral naranja (Astroides calycularis), se encuentra protegida (Catálogo Español de Especies en Régimen de Protección Especial), y la esponja tubular amarilla (Aplysina aerophoba), especie amenazada incluida en el Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial (LESRPE). También se observaron colonias de la gorgonia de mayor tamaño del Mar Mediterráneo y Atlántico oriental que llega a alcanzar 2 m de altura (Ellisella paraplexauroides), muy rara de encontrar (Maldonado et al. 2013), y otros Cnidarios como el coral candelabro (Dendrophyllia ramea) y el coral amarillo (Parazoanthus axinellae). La mayoría de estos organismos, por lo presente residentes de la desembocadura del Guadalquivir, han sido determinados previamente como bioindicadores ante el deterioro en la calidad ambiental (García-Gómez, 2007). Como nota, citar las numerosas observaciones que se hicieron de fragmentos dispersos del coral candelabro (Dendrophyllia ramea) que se encontraban disgregados de la colonia principal.

El ambiente observado en el lecho marino se caracterizó por una radiación incidente muy escasa. La biota bentónica presente en la zona se asemeja a la de sistemas hallados a una mayor profundidad, tanto por la ausencia de organismos vegetales como por la presencia de especies típicas de cotas más profundas. Casos del coral candelabro (*Dendrophyllia ramea*) y la gorgonia gigante (*Ellisella paraplexauroides*) (en Barea-Azcón *et al.*, 2008). Por tanto, se observa en el sustrato rocoso prospectado un predominio de la fauna bentónica sésil esciáfila (afín a zonas poco iluminadas). Las únicas formas vegetales detectadas (respecto a macroalgas) fueron concreciones puntuales de algas calcáreas rojas, como es el caso de (*Lithophyllum incrustans*), que se aprecia en la Fig. 4 y Fig. 5, M y N.

Por último, se observó que las abundantes deposiciones de sedimentos sobre el fondo llegaban incluso a soterrar a algunas colonias de cnidarios, como fue el caso del coral candelabro (*Dendrophyllia ramea*) y del coral amarillo (*Parazoanthus axinellae*).

## DISCUSIÓN

Lo más notable de las observaciones realizadas fue el hallazgo de especies frecuentes en áreas marinas con aguas claras, asociadas a buen estatus de conservación, como por ejemplo la gorgonia gigante (*Ellisella paraplexauroides*) (Angiolillo *et al.* 2015), o las especies protegidas como son el coral naranja (*Astroides calycularis*) (Bianchi, 2007; Terrón-Sigler *et al.* 2014) y la esponja tubular amarilla (*Aplysina aerophoba*) (Tunesi *et al.* 2008). Además, en el caso del coral candelabro (*Dendrophyllia ramea*) se hallaba presente con una abundancia superior a otras áreas marinas del ámbito regional de estudio (obs. pers. Autores).

El ambiente submarino del estuario del Guadalquivir, debido a su elevada turbidez revela las características ecológicas de zonas de mayor profundidad, hospedando fauna de rangos batimétricos más profundos, como son el coral candelabro y la gorgonia gigante (Barea

Azcón *et al.*, 2008), en ausencia casi total de algas. La observación descrita puede ser causa directa de la baja intensidad de radiación incidente en el lecho marino, o bien causa indirecta motivada por la ausencia de macroalgas de porte erecto. La escasa radiación podría suprimir las relaciones de competencia por sustrato que se darían entre animales y vegetales en presencia de buena iluminación.

Detectamos la presencia de determinados organismos señalados como sensibles a alta tasa de sedimentación y aguas turbias (García-Gómez, 2007). Es el caso del coral naranja o la esponja tubular amarilla, que vemos que toleran las afecciones que se dan en ambientes estuarinos (entre éstas se encuentran una alta tasa de sedimentación y elevada turbidez), aunque no podemos afirmar que la especie se encuentre en sus condiciones ambientales óptimas. Una posible explicación a este fenómeno de tolerancia puede ser el elevado hidrodinamismo presente en la zona de estudio. Ésto es debido a que los sedimentos permanecen depositados sobre los organismos sésiles durante un periodo corto de tiempo, porque las fuertes corrientes los retiran frecuentemente, de modo que la presión se ve reducida.

La presencia de numerosos fragmentos de colonias del coral candelabro en el área muestreada se debe, presuntamente, a técnicas de pesca con caña. Estudios previos (Terrón-Sigler *et al.*, 2015) han señalado el impacto de esta técnica de pesca sobre la especie y otros corales de porte rígido. En nuestro área de estudio, el impacto observado puede deberse a la técnica de pesca tipo "golpeteo", mediante la cual los pescadores impactan con pesos (piedra o plomada) contra el lecho marino repetidamente, para atraer especímenes de peces depredadores que buscan alguna captura oportunista.

Con las imágenes obtenidas en el muestreo del estado cero de las estaciones-centinela (ej. en Fig. 4.) se comprobará la viabilidad del método seleccionado (Foster *et al.*, 1991; Parravicini *et al.*, 2009; García-Gómez, 2015), a fin de concretar futuros estudios de monitorización en la desembocadura del río Guadalquivir. Los niveles más altos de turbidez los encontramos en puntos junto a la desembocadura (máximo registrado de 4.000 FTUs) (Losada *et al.*, 2010), y descienden en el resto de puntos a medida que nos alejamos de la misma por la dilución con agua de mar. De esta forma, se describe un gradiente de turbidez mediante el que esperamos conocer aspectos novedosos sobre las estrategias ecológicas de especies de coralígeno generalmente adaptadas a ambientes de baja carga sedimentaria.

Finalmente, este área no es adecuada para realizar inmersiones normales de tipo recreativo con objetivo de contemplar paisajes amplios. Sin embargo, se sugiere la proposición de dichas localizaciones como puntos de buceo con características singulares, y probablemente atractivas para muchos de los aficionados a este deporte. En cualquier otro punto de la Península es muy difícil observar una alta abundancia de colonias del llamativo coral candelabro así como otras de las especies detectadas a una profundidad inferior a la habitual para estas especies.

## IMPLICACIONES PARA LA CONSERVACIÓN

Los resultados expuestos ofrecen una aproximación de la diversidad y grado de estructuración de las comunidades bentónicas que pueden encontrarse en sistemas poco explorados (desde el punto de vista del buceo autónomo), como son los fondos marinos de las desembocaduras de grandes ríos. Este es un conocimiento importante para poder adoptar medidas de conservación pertinentes en dichos escenarios.

Pág. 046

Mediante este estudio se podrá evaluar a medio y largo plazo la influencia que ejerce el río Guadalquivir sobre la comunidad bentónica sésil marina en las áreas colindantes a su

desembocadura. Las futuras conclusiones del estudio podrán ser de gran utilidad para ayudar al desarrollo de modelos de prevención de eventos perjudiciales para la biodiversidad, así como planes de gestión, para esta área de estudio como también para otros sistemas de similares condiciones en cualquier localización.

## AGRADECIMIENTOS -

Agradecemos en primer lugar a la Autoridad Portuaria de Sevilla por la financiación del proyecto integral para el avance en el conocimiento del funcionamiento del sistema del estuario del Guadalquivir, donde se enmarca este estudio. Agradecer también a Aquagestión Sur el permitirnos compartir espacios destinados a la investigación y divulgación del medio marino en el Acuario de Sevilla. Expresamos nuestra gratitud a la Junta de Andalucía por poner a nuestra disposición una embarcación oficial desde el Puerto de Rota. Y un agradecimiento muy especial a los buceadores voluntarios que colaboraron durante la campaña: Francisco Sánchez, del Club Universitario de Actividades Subacuáticas de Sevilla (CUASS) y a Uwe Acosta de la sección de buceo deportivo del "Club Náutico Urta" de Rota.

## BIBLIOGRAFÍA

- ANGIOLILLO, M., BO, M., BAVESTRELLO, G., GIUSTI, M., SALVATI, E. Y CANESE, S, 2012. Record of *Ellisella paraplexauroides* (Anthozoa: Alcyonacea: Ellisellidae) in Italian waters (Mediterranean Sea). *Marine Biodiversity Records* 5-4, page 1-8.
- ARIAS GARCÍA, A. M., CUESTA MARISCAL, J. A. Y DRAKE MOYANO, P., 2009. Propuesta metodológica para diagnosticar y pronosticar las consecuencias de las actuaciones humanas en el estuario del Guadalquivir. Capítulo 13: Fauna bentónica e ictioplanctónica del Estuario del Guadalquivir.
- BAREA-AZCÓN, J. M., BALLESTEROS-DUPERÓN, E. Y MORENO, D. (COORDS.), 2008. *Libro Rojo de los Invertebrados de Andalucía*. 4 Tomos. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla, 1430 pp.
- BIANCHI, C. N., 2007. Biodiversity issues for the forthcoming tropical Mediterranean Sea. *Hydrobiologia* 580, 7–21.
- BRAMANTI, L., MOVILLA, J., GURÓN, M., CALVO, E., GORI, A., DOMIN-GUEZ-CARRIÓ, C., GRINYÓ, J., LÓPEZ-SANZ, A., MARTÍNEZ-QUINTANA, A., PELEJERO, C., ZIVERI, P. Y ROSSI, S., 2013. Detrimental effects of ocean acidification on the economically important Mediterranean red coral (Corallium rubrum). *Global Change Biology* 19, 1897–1908.
- BUSSOTTI, S., TERLIZZI, A., FRASCHETTI, S., BELMONTE, G. Y BOERO, F., 2006. Spatial and temporal variability of sessile benthos in shallow Mediterranean marine caves. *Marine Ecology Progress Series* 325, 109–119.
- FOSTER, M. S., HARROLD, C. Y HARDIN, D. D., 1996. Point vs. photo quadrat estimates of the cover of sessile marine organisms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 146, 193-203.

- GARCÍA-GÓMEZ, J. C., 2007. Biota litoral y vigilancia ambiental en la áreas marinas protegidas. Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía.
- GARCÍA-GÓMEZ, J. C., 2015. A guide on environmental monitoring of rocky seabeds in Mediterranean Marine Protected Areas and surrounding zones. Marine Biology Laboratory, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Seville.
   R+D+I Biological Research Area, Seville Aquarium. Ed. RAC/SPA - MedMPAnet Project, Tunis: 482 pp.
- GARRABOU, J., BALLESTEROS, E. Y ZABALA, M., 2002. Structure and dynamics of northwestern Mediterranean rocky benthic communities along a depth gradient. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 55, 493–508.
- GRUBELIĆ, I., ANTOLIĆ, B., DESPALATOVIĆ, M., GRBEC, B. Y BEG-PAKLAR,
  G., 2004. Effect of climatic fluctuations on the distribution of warm-water coral Astroides calycularis in the Adriatic Sea: new records and review. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 84, 599-602. http://www.ictioterm.es/
- LEJEUSNE, C., CHEVALDONNE, P., PERGENT-MARTINI, C., BOUDOU-RESQUE, C. F. Y PÉREZ, T., 2010. Climate change effects on a miniature ocean: the highly diverse, highly impacted Mediterranean Sea. *Trends in Ecology and Evolution*. 25-4, 250–260.
- LOSADA RODRIGUEZ, M. A., BAQUERIZO AZOFRA, A., BRAMATO, S., DÍEZ MINGUITO, M., ORTEGA SÁNCHEZ, M., CONTRERAS ARRIBAS, E., Y POLO SÁNCHEZ, M. J., 2010. Propuesta metodológica para diagnosticar y pronosticar las consecuencias de las actuaciones humanas en el estuario del Guadalquivir. Capítulo 5: Sólidos en Suspensión y Turbidez. p, 45.
- MALDONADO, M., LÓPEZ-ACOSTA, M., SÁNCHEZ-TOCINO, L. Y SITJÀ, C., 2013. The rare, giant gorgonian *Ellisella paraplexauroides*: demographics and conservation concerns. *Marine Ecology Progress Series* 479, 127-141.
- NARANJO, S. A., CARBALLO, J. L. Y GARCIA-GÓMEZ, J. C., 1996. Effects of environmental stress on ascidian populations in Algeciras Bay (southern Spain). Possible marine bioindicators?. *Marine Ecology Progress Series* 144, 119-131.
- NEWCOMBE, C. P., & JENSEN, J. O., 1996. Channel suspended sediment and fisheries: a synthesis for quantitative assessment of risk and impact. *North American Journal of Fisheries Management*, 16(4), 693-727.
- PARRAVICINI, V., MORRI, C., CIRIBILLI, G., MONTEFALCONE, M., ALBER-TELLI, G. Y BIANCHI, C. N., 2009. Size matters more than method: Visual quadrats vs photography in measuring human impact on Mediterranean rocky reef communities. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 81, 359–367.
- RESTREPO, J. D., PARK, E., AQUINO, S., & LATRUBESSE, E. M., 2016. Coral reefs chronically exposed to river sediment plumes in the southwestern Caribbean: Rosario Islands, Colombia. *Science of The Total Environment*, 553, 316-329.
- ROGERS, C. S., 1990. Responses of coral reefs and reef organisms to sedimentation. *Marine Ecology Progress Series* 62, 185–202.
- TERRÓN-SIGLER, A., LEÓN-MUEZ, D., CASADO-AMEZÚA, P., DUQUE, P. P., & ESPINOSA, F., 2015. El coral candelabro, una especie sensible a los artes de pesca: la presión pesquera sobre los invertebrados marinos de porte rígido. *Quercus*, (352), 26-33.

- TERRÓN-SIGLER, A., PEÑALVER-DUQUE, P., LEÓN-MUEZ, D. Y ESPI-NOSA-TORRE, F., 2014. Spatio-temporal macrofaunal assemblages associated with the endangered orange coral Astroides calycularis (Scleractinia: Dendrophylliidae). *Aquatic biology* 21, 143-154.
- TUNESI, L., AGNESI, S., DI NORA, T., MOLINARI, A. Y MO, G., 2008. Marine protected species and habitats of conservation interest in the Gallinaria Island (Ligurian Sea): a study for the establishment of the Marine Protected Area. *Atti Associazione Italiana Oceanologia Limnologia* 19, 489-497.
- VAN REIN, H., BROWN, C. J., SCHOEMAN, D. S., QUINN, R. Y BREEN, J., 2011. Fixed-station monitoring of a harbour wall community: the utility of low-cost photomosaics and scuba on hard-substrata. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 21, 690–703.
- VERDURA, J., CEBRIÁN, E. Y LINARES, C., 2013. Efectes de les mortalitats massives en el coraligen al Parc Nacional de Cabrera. Màster d'ecologia, gestió i restauració del medi natural. Centre d'Estudis Avançats de Blanes (CEAB-CSIC), Departament d'Ecologia de la Universitat de Barcelona. 38 pp.
- WHORFF, J. S. Y GRIFTING, L., 1992. A video recording and analysis system used to sample intertidal communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 160, 1-12.



# Effects of freshet events on the biotic and abiotic conditions in a well-mixed estuary

Juan Miguel Miró<sup>1</sup> (jmmiro@us.es), César Megina<sup>2</sup>, Íñigo Donázar-Aramendía<sup>1</sup>, José Carlos García-Gómez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain. <sup>2</sup>Biodiversidad y Ecología Acuática, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area, Department of Zoology, Faculty of Biology, University of Sevilla, Sevilla, Spain.

# INTRODUCTION

Interpreting the link between freshwater flows, environmental gradients and plankton drift within estuaries is crucial to its management and conservation as they undergo transformations due to climate change, particularly in regulated river systems (Hughes, 2003). This is the case of the Guadalquivir estuary, which is located in a Mediterranean climate region, where the predictions consider a decrease in mean annual precipitations, but the intensity of rainfall events will increase (Filippo and Lionello, 2008). Estuarine communities are exposed to a variety of scales of spatial and temporal variability in these changeable systems, and the role of short-term processes, like freshets, are essential to understand the recruitment ecology of estuarine-dependent organisms. The present study aimed to investigate the short-term effects of three different kind of freshets events on the early life stages of fish, the rest of macrofauna and the water physicochemical conditions, using the Guadalquivir estuary and its nearshore area as example.

# **MATERIAL & METHODS**

# Study area

The Guadalquivir estuary is located in South-West of Iberian Peninsula (Figure 1). It is a flood-dominated and well-mixed mesotidal system with 3.5 m amplitude range and discharges lower than 40  $m^3/s$ .

# Field sampling



Puerto

de Sevilla

To analyze the short-term effect of high discharges (at least 200 m<sup>3</sup>/s for 24 hours) in the whole water column, biological samples (early life stages of fish and macrozooplankton) and samples physicochemical variables were collected before, during and twice after (15 and 30 days approx.) of the high freshwater inputs. Samples were taken in 4 stations along the longitudinal section covering the entire salinity gradient. Samples were always collected in the flood tide with a plankton net of 1 m diameter and 1 mm mesh size. Oblique tows were done with a boat at a speed of 2–2.5 knots. Samples were fixed, sorted, identified and quantified. Physicochemical profiles of the whole water column were recorded in every station with a multiprobe (depth, temperature, salinity, turbidity, dissolved oxygen concentration (DO), oxygen saturation (OS) and pH; Eureka<sup>™</sup> Manta2).

# Data analysis

Physicochemical profiles of the water column along the estuary section were plotted in three dimensional figures with Ocean Data View software using "Weighted-average" as gridding method. GAM models were used to compare the spatial distribution (section distance) and abundance of main species sampled with the different sampling times (Before, During, After 1, After 2).

Figure 1. Study area of the Guadalquivir estuary with the distance section (kilometres) from outer station (0 km).

# **RESULTS & DISCUSSION**





The distribution of early life stages of fish and macrofauna species were associate to the salinity gradient, being almost absent in the freshwater masses during the high discharges despite of being located closer to the estuary mouth. Young recruits of marine species seemed to be pulled by freshwater flow, moving with the mass of estuarine water. In some cases, populations declined during and after the freshet (i.e., E. encrasicolus in 2016 and S. aurata in 2018); in other, populations were not influenced (i.e., S. pilachardus in 2015-2016 and macrofauna in 2015); and other species showed a notable increment after the freshet event (i.e., *Pomatoschistus* spp., S. senegalensis and macrofauna in 2018) as an attraction effect. In addition, no increments of densities were found in the outer station during the high discharge of any freshet despite the total abundance of organisms decreased generally in the inner estuarine zone. This suggest several possibilities for individuals not found: i) they could have been flushed out further of the sampling area, as some studies found high abundance of early fish stages in the front of the plumes (Kingsford and Suthers, 1994; Sabatés, 1990), ii) they could have been predated in the nearshore areas and/or clearer zones downstream (Utne-Palm, 2002) or die by osmotic shocks (Serafy et al., 1997) and/or iii) they could have been used shelter zones as shoals, rocks or even submerged channels in the estuary mouth as reported Ueda et al. (2004) for some zooplankton species.

# CONCLUSIONS

High freshet events generally generated a strong shift in physicochemical conditions of most estuary section, compressing salinity gradient, increasing turbidity and decreasing oxygen concentration. This alteration influenced in the abundance and distribution of early life stages of fishes and the rest of macrofauna, reducing its nursery area. Still, the physicochemical conditions showed an almost complete recovery in events 1 and 2, and partial in event 3 (depending on the intensity, duration and period of the discharge), to the previous state in a short term. Instead, different biological responses were found depending on the species and periods, being the benthic-estuarine ones which better coped with the freshets. Nonetheless, despite of the multiple environmental disturbances caused by the distinct natural freshet events, the estuary and their estuarine organisms showed a high resilience.

# REFERENCES

Schlitzer, H.D., 2020. Ocean Data View. http://odv.awi.de. Filippo, G., Lionello, P., 2008. Glob. Planet. Change 63, 90–104. Serafy, J.E., Linderman, K.C., Hopkins, T.E., Ault, J.S., 1997. Mar. Ecol. Prog. Ser. 160, 161–172. Hughes, L., 2003. Austral Ecol. 28, 423–443. Ueda, H., Terao, A., Tanaka, M., Hibino, M., Islam, M.S., 2004. Ecol. Res. 19, 625–632. Kingsford, M.J., Suthers, I.M., 1994. Cont. Shelf Researc 14, 655–672. Utne-Palm, A.C., 2002. Mar. Freshw. Behav. Physiol. 35, 111–128. Sabatés, A., 1990. Estuar. Coast. Shelf Sci. 30, 131–140.

# Environmental effects of maintenance dredging works in a highly modified estuary: A short-term approach









Plan de Recuperación Transformación y Resiliencia



NextGenerationEU

# Study area

# **Guadalquivir Estuary**



# Some of the dredged sections





# **Dredging impacts**

## DREDGING





Marine Environmental Research 140 (2018) 455-467



Maintenance dredging impacts on a highly stressed estuary (Guadalquivir estuary): A BACI approach through oligohaline and polyhaline habitats



I. Donázar-Aramendía<sup>\*</sup>, J.E. Sánchez-Moyano, I. García-Asencio, J.M. Miró, C. Megina, J.C. García-Gómez

Laboratorio Biología Marina, Seville Aquarium R + D + I Biological Research Area., Dpto. Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Avd. Reina Mercedes 6, 41012, Sevilla, Spain





- To characterize short-term responses after human impacts in estuaries such as dredging works.
- To assess physicochemical impacts of the water column and sediment.
- ♦ To assess community structure impacts



# Methods

# Methods



# Alcala dam Flow m3/s



01/10/19 11/10/19 21/10/19 31/10/19 10/11/19 20/11/19 30/11/19 10/12/19 20/12/19 30/12/19 09/01/20 19/01/20 29/01/20

# Water parameters

Results



# Water parameters

Results



# Sediment parameters










# **Disolved nutrients**

### Stable Isotopes





### **Biotic variables**

Results







## Conclusions

- The poor state of the macrobenthic community and its adaptation to a changeable scenario explains the absence of a detectable impact on the communities either on short and long-term approaches.
- The pressures on the Guadalquivir estuary beyond maintenance dredging (water regulation, salinity changes) do not allow the establishment of more complex communities.
- No evident effects on the food web of the system could be detected in long-term approach. Shor-term effects reflected in the food-web are under study
- Freshet events could have a more powerful effect in sediment and water parameters than maintenance dredging works in the Guadalquivir estuary.

# Thanks for your attention

2 16 14 2 14 2 15 3

Iñigo Donázar-Aramendía.

idonazar@us.es



Puerto de Sevilla Effect of rice field flooding on the physical-chemical variables of the water column in the hyperturbid Guadalquivir estuary



César Megina, Iñigo Donazar, J. Miguel Miró, J. Carlos García-Gómez Depto. Zoología, Fac. Biología, Univ. Sevilla - Mesotidal (< 3.5 m) (maximum tidal range of the studied period 2020-06-05  $\rightarrow$  2.57 m)

- Most intertidal areas and marshes have been transformed (mainly into agricultural fields, but also aquiculture, salt pans, etc.)

 Strong erosion in the catchment area (mainly in mountain olive groves with steeper terrain)
 → high sediment loads

- Recurrent events of extreme turbidity (HPTE, González-Ortegón et al 2010)

2019-12-28 LW + 00:20 Google Earth

> 2020-05-06 HW – 02:30

Google Earth

Data SIO, NOAA, U.S. Navy, NGA, GEBCO Inage Landsat / Copernicus Inage IBCAO

Vista desde el espacio (altitud: 5944 km)



- Most intertidal areas and marshes have been transformed (mainly into agricultural fields, but also aquiculture, salt pans, etc.)
- Strong erosion in the catchment area (mainly in mountain olive groves with steeper terrain)
  → high sediment loads
- Recurrent events of extreme turbidity (HPTE, González-Ortegón et al 2010)
- Seasonality in turbidity conditions with a 'low' turbidity season (JUN - OCT)



**Fig. 2.** Seasonal turbidity variations in the Guadalquivir estuary during the study period (June 1997–February 2009). Horizontal and vertical lines delimitate common turbidity values during different annual periods.

From: González-Ortegón, E., Subida, M.D., Cuesta, J.A., Arias, A.M., Fernández-Delgado, C., Drake, P., 2010. The impact of extreme turbidity events on the nursery function of a temperate European estuary with regulated freshwater inflow. Estuar. Coast. Shelf Sci. 87, 311–324

#### **Google** Earth

Data SIO, NOAA, U.S. Navy, NGA, GEBC nage Landsat / Copernicus nage IBCAO











SAIH (Confederación Hidrográfica Guadalquivir)
 2020/05/20 - 2020/06/30 ≈ 121 hm³ pumped into rice fields
 ≈ 42 % of the estuary volume

ta SIO, NOAA,

Research, 117(C3): C03019



Mean salinity increased from 6.6 psu to 10.5 psu

Isohaline 5 psu (the upstream limit of the nursery area\*) moved ≈20 km upstream, from 36 km to 55.5 km

\*Fernández-Delgado, Baldó, Vilas, García-González, Cuesta, González-Ortegón, Drake (2007) Effects of the river discharge management on the nursery function of the Guadalquivir river estuary (SW Spain). *Hydrobiologia* 587, 125–136





- A slight difference in mean euphotic depth of ≈ 60 (0.59) cm between before (average  $Z_{eu}$ = 71 cm) and after (average  $Z_{eu}$ = 1.30 m), although mainly in the lower part (probably mainly due to higher seawater intrusion) while from km 20 to upstream the difference was reduced to 33 cm ( $Z_{eu}$  before= 34 cm;  $Z_{eu}$  after= 67 cm)
- Still, turbidity remains too high, light extinction is also too high, and light remains blocked very close to the surface





The temperature did not show any pattern change and showed an increase (23.3° C  $\rightarrow$  27.1 ° C) typical in this period.

Oxygen concentration did not show a global change, but did show some distribution change, with a decrease in the lower half, related to the increase in temperature and the associated lower solubility; in fact, oxygen saturation, which considers temperature, did not change substantially in this part.

In the upper half, both oxygen concentration and saturation showed some increase, except in the uppermost end, where chronic hypoxia problems remain.







Variables measured in water samples collected in half-water column.



- For Guadalquivir estuary

A HAR A REAL PROPERTY AND A REAL PROPERTY A REAL PROPERTY A REAL PROPERTY A REAL PROPERTY AND A REAL PROPERTY A REAL PROPERTY A REAL PROPERTY A REAL PROPERTY A REAL P

+ Massive extraction of water occurs yearly in May, significantly reducing SPM, dragging saltwater upstream, and globally affecting the physical-chemical environment of the estuary.

+ Rice farmers do it every year as part of their agricultural practices, making the transition between high - and low-turbidity seasons.

+ This process has the potential to be used to control turbidity, mainly 'high and persistent turbidity events' [HPTE, as described by González-Ortegón et al. (2010) Estuarine, Coastal and Shelf Science, 87(2): 311-324].

- + During the rice growing season (end of January until end of September) there are not many possibilities to change the wateringdewatering scheme as this is conditioned by the farming procedures.
- + Outside of the growing season, when most HPTEs occur (Nov-Feb) and when rice fields are at rest, a protocol of flooding and draining of these fields or part of them could help to control this extreme turbidity event and the negative associated effect.
- + Operations have some cost: pumps functioning (if artificially flooding); sediment handling, ponds and channels shaping, etc. which should be valuated.
- For any turbid estuary: restored, recreated, or natural wetlands with the possibility of some water flow control could be used as an effective tool to enhance some ecosystem services, such as sediment trapping or nutrient filtering.

The fate of the biological elements (i.e. zooplankton, phytoplankton), together with the development of a continental water community within rice ponds, is now under research