







METODOLOGÍA PARA LA ESTIMACIÓN DE LAS EXISTENCIAS DE CARBONO Y LOS **FACTORES DE EMISIÓN EN MARISMAS MAREALES Y PRADERAS DE FANERÓGAMAS MARINAS**





Socios beneficiarios:











ÍNDICE

1.	INTR	ODUCCIÓN	5
	1.1.	Objeto del manual	5
:	1.2.	Existencias y sumideros de carbono azul	5
2. DE		MACIÓN DE LOS SUMIDEROS DE CARBONO EN MARISMAS MAREALES Y PI GÓGAMAS MARINAS	
	2.1.	Definición de los límites y las características del proyecto	6
:	2.2.	Principales sumideros de carbono orgánico	8
:	2.3.	El muestreo en la zona de proyecto	9
	2.4. macroa	La biomasa como sumidero de carbono orgánico: biomasa vegetal, necro Ilgas en marismas mareales y praderas de fanerógamas marinas	•
	2.4.1	. Marismas mareales	11
	2.4.2	. Praderas de fanerógamas marinas	14
	2.5.	El suelo o sedimento como sumidero de carbono orgánico	17
	2.5.1	. Análisis de los cores de suelo o sedimento	18
3.	CÁLC	CULO DE LAS EXISTENCIAS DE CARBONO ORGÁNICO TOTAL	22
3	3.1.	Existencias de carbono orgánico total asociado a la biomasa	22
3	3.2.	Existencias de carbono orgánico total asociado al suelo o sedimento	23
4.	ESTIN	MACIÓN DE LAS EMISIONES DE DIÓXIDO DE CARBONO	24
5.	REFE	RENCIAS	27

ACRÓNIMOS, UNIDADES Y GLOSARIO DE TÉRMINOS

C: carbono.

%C: porcentaje de esa biomasa que es carbono.

CO₂: dióxido de carbono.

COD: carbónico orgánico disuelto.

UDAs: unidades de absorción.

ha: hectárea (10⁴ m²).

m²: metro cuadrado.

mm: milímetro.

mmol: milimoles (10⁻³ moles).

N₂O: óxido nitroso.

PS: peso fresco.

t CO₂ eq: tonelada de dióxido de carbono equivalente.

t: tonelada (10⁶ g).

μmol: micromoles (10⁻⁶ moles).

Biomasa. Masa total de una cantidad de materia biológica, generalmente expresada en unidad de peso por superficie de sustrato.

Carbono alóctono. Carbono orgánico originado fuera de la zona de proyecto o ecosistema de referencia y que es transportado al sistema a través de la hidrodinámica y es atrapado por las estructuras de la biomasa aérea.

Carbono autóctono. Carbono orgánico que se produce y se deposita en la zona de proyecto o ecosistema de referencia.

Carbono azul. Para el caso de marismas y praderas de fanerógamas marinas, carbono capturado a través de la actividad fotosintética y que queda almacenado en el suelo o sedimento y en la biomasa, ya sea aérea o subterránea, tanto viva como muerta.

Carbono orgánico. Carbono proveniente de la actividad fotosintética asociado a la materia biológica viva o muerta y que, en el caso del suelo o sedimento se puede hallar en distintos grados de degradación.

Core. Muestra cilíndrica de un suelo o sedimento obtenida por penetración de un cilindro.

Densidad aparente. Razón de la masa de suelo o sedimento y su volumen. Es indicativa de su compactación, es decir, de su capacidad como soporte estructural, capacidad de transporte de agua o solutos en su seno o su oxigenación. Se expresa en g cm⁻³.

Detritus o detritos. Material orgánico del suelo o sedimento en avanzado grado de descomposición.

Ecosistema: Sistema de referencia para los estudios en Ecología, formado por las comunidades biológicas junto con el ambiente físico en el que se desarrolla.

Epífito/a. Aplícase al alga que vive sobre un macrófito marino (algas o fanerógamas marina) sin sacar de ellos nutrimento alguno, sino utilizándolo exclusivamente como soporte físico.

Existencia de carbono. Cantidad de carbono orgánico almacenado en un ecosistema. Suele estimarse en unidades con dimensiones $M \cdot L^{-2}$ referidas a un espesor del suelo o sedimento.

Marisma mareal. Tipo de ecosistema litoral dominado por especies vegetales halófitas leñosas de la familia de las quenopodiáceas que está muy determinado por la influencia de las mareas, resultando en todo o en parte inundado durante la pleamar.

Pradera marina. Tipo de ecosistema litoral dominado por fanerógamas marinas adaptadas a vivir, según las especies, tanto en el intermareal como en el submareal bajo las condiciones de salinidad típicas del agua de mar.

Sumidero de carbono. Reservorios de carbono orgánico autóctono o alóctono en distintos compartimentos del ecosistema.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Objeto del manual

El objeto de este documento es proporcionar la metodología de referencia para las estimaciones en el campo y el análisis de las existencias de **carbono azul** y los flujos de carbono en **marismas mareales** y **praderas de fanerógamas marinas**. El manual va dirigido a los responsables o participantes en la implementación de proyectos de carbono azul relacionados con la mejora y restauración de estos **ecosistemas** de cara a la cuantificación en el tiempo de las existencias (stocks) y el almacenamiento de **carbono orgánico** en el ecosistema.

Para la realización del manual se ha tomado como referencia principal el excelente documento elaborado por *The Blue Carbon Initiative* (Howard et al. 2019), coordinado entre Conservación Internacional, la Comisión Oceanográfica Intergubernamental de la UNESCO y la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN). Información adicional y más detallada puede encontrarse también en los manuales y documentación generados por el proyecto Life Blue Natura (http://life-bluenatura.eu/en/home/) o en manual para la creación de proyectos de carbono azul recientemente publicado por la UICN (UICN 2021).

1.2. Existencias y sumideros de carbono azul

El cómputo de las existencias de carbono en marismas o praderas de fanerógamas marinas requiere del sumatorio de todos los sumideros (reservorios) de carbono orgánico de la zona en la que se desarrollará el proyecto. Estos sumideros comprenden dos componentes esenciales del carbono orgánico total, uno autóctono y otro alóctono. Los sumideros de carbono autóctono comprenden el suelo o sedimento, la biomasa vegetal aérea (o epigea) y subterránea (o hipogea), tanto viva como muerta, de las plantas de marisma o de las fanerógamas marinas, la biomasa de macroalgas acompañantes y la biomasa de los epífitos. A estos sumideros hay que añadir la biomasa de organismos provenientes de ecosistemas de fuera del ámbito de estudio y que llega a la zona de proyecto por diferentes vías, generalmente por la acción del movimiento de las masas de agua o por resultar atrapada por la propia estructura tridimensional aérea de las especies que medran en el ecosistema. Estos aportes configuran los sumideros de carbono alóctono.

En general deben estimarse aquellos sumideros que representen una proporción significativa del carbono orgánico total (> 5% del carbono orgánico) en la marisma mareal o en la pradera de angiosperma marina en cuestión. Sin embargo, un análisis más preciso y detallado debería comprender la cuantificación de todos los sumideros.

2. ESTIMACIÓN DE LOS SUMIDEROS DE CARBONO EN MARISMAS MAREALES Y PRADERAS DE FANERÓGAMAS MARINAS

2.1. Definición de los límites y las características del proyecto

En primer lugar, es necesario definir los límites espaciales en los que se va a llevar a cabo el proyecto en una marisma mareal o en una pradera de fanerógamas marinas teniendo en cuenta la tipología de proyecto que se va a realizar, y por lo tanto, si tendrá por objeto la recuperación, la restauración, la conservación, o la creación de nuevas comunidades, etc. De la misma forma es importante considerar en qué unidades ambientales homogéneas se van a estimar los sumideros de carbono.

Para el caso de marismas mareales (figura 1), a efectos prácticos se pueden distinguir tres franjas principales en virtud de su proximidad a la masa de agua y su homogeneidad, bien reconocibles por las especies vegetales dominantes (Biogeos 2016):

- Marisma baja. Es la franja más cercana a la lámina de agua durante la bajamar y que resulta cubierta por el agua por efecto de la marea diaria. Está dominada por especies del género *Spartina* (*S. maritima*, *S. densiflora*) y por algunas quenopodiáceas anuales como *Salicornia ramosissima* o perennes como *Salicornia perennis* en zonas con una mínima elevación sobre el nivel de la bajamar.
- Marisma media. Representa la franja de marisma que resulta parcialmente inundada durante pleamares con coeficientes mayores a la pleamar media y se asienta sobre suelos parcialmente desarrollados. Dominan quenopodiáceas como *S. perennis* o *Halimione portulacoides* junto con algunas especies de plumbagináceas pertenecientes al género *Limonium* como *L. angustifolium*. Otras especies comunes en esta franja son *Puccinellia maritima*, *Suaeda vera*, *Cistanche phelypaea* o *Sarcocornia fruticosa*.
- Marisma alta. Representa la franja de marisma que resulta inundada con muy poca frecuencia, durante las pleamares máximas del ciclo lunar. En esta franja abundan quenopodiáceas de mayor porte como Sarcocornia fruticosa y Arthrocnemum macrostachyum o la compuesta Inula crithmoides. Otras especies típicas son Limoniastrum monopetalum, Suaeda vera, Frankenia boissieri, Salsola brevifolia o Puccinellia maritima.

Es posible añadir también una franja de marisma salobre, localizada tierra adentro, en zonas donde el aporte de agua dulce modifique la salinidad del agua hacia valores inferiores a los del agua de mar. En estos casos la vegetación puede incluir especies vegetales de los géneros *Typha*, *Phragmites*, *Arundo*, *Juncus*, etc.

Para el caso de fanerógamas marinas (figura 2), se pueden distinguir tres zonas según su estado de emersión/inmersión durante el rango mareal diario y la profundidad a la que habitan, tomando como referencia el momento de la bajamar:

- **Praderas intermareales.** Representan aquellas que se localizan en zonas donde hay alternancia diaria de periodos de inmersión y emersión. Esta zona está delimitada en la parte alta por el nivel medio de las mareas vivas y hacia abajo por el nivel medio de las bajamares equinocciales. Están dominadas habitualmente por *Zostera noltei*, aunque se pueden encontrar rodales de *Z.marina* y de *Cymodocea nodosa* de pequeño porte.



Figura 1. Imagen de una marisma durante la pleamar. En estas horas toda la marisma media y gran parte de la marisma alta se encuentran parcialmente inundadas por el efecto de la marea.

- **Praderas submareales someras.** Representan aquellas que se encuentran en zonas de poca profundidad, aproximadamente entre -0,3 m y -7 m respecto a la bajamar escorada. En ellas abundan tanto *Z. noltei* como *Z. marina* y *C. nodosa.* Pueden encontrarse también poblaciones de *Posidonia oceanica* de pequeño porte.
- **Praderas submareales intermedias y profundas.** Representan aquellas que medran en zonas por debajo del submareal somero. Estas son las praderas dominadas especialmente por *P. oceanica*, aunque es habitual encontrar praderas dominadas por *C. nodosa* de gran porte o de *Z. marina* y muy rara vez *Z. noltei*. Teniendo en cuenta la localización, se pueden definir distintas zonas en función de la profundidad a la que se encuentran como submareal intermedio (-7 m hasta -15 m) y submareal profundo (>-15 m).



Figura 2. Imagen de una pradera submareal mixta de Posidonia oceanica y Cymodocea nodosa.

2.2. Principales sumideros de carbono orgánico

En las diferentes franjas o zonas de los dos tipos de ecosistemas, los reservorios o sumideros de carbono más importantes son los siguientes:

- Biomasa aérea o epigea: biomasa de arbustos (troncos de pequeño tamaño, ramas verdes o secas, hojas), plantas de marismas o haces de fanerógamas marinas; todo material vivo que se encuentre por encima del sedimento.
- **Biomasa subterránea o hipogea:** compuesta principalmente por las raíces y rizomas de los arbustos, plantas de marismas o haces de fanerógamas marinas; todo material vivo vegetal que se encuentra enterrado en el sedimento.
- Carbono orgánico del suelo o sedimento: carbono constituido por la materia orgánica y restos degradados de materia orgánica que se encuentran en el suelo o sedimento y que no puede separarse visualmente de la matriz inorgánica.
- Materia muerta o de arribazón (o necromasa): compuesta principalmente por restos vegetales no vivos tanto autóctonos como alóctonos que quedan retenidos entre las plantas de marismas o haces de fanerógamas marinas.
- Macroalgas: fracción orgánica compuesta por la acumulación de macroalgas vivas que bien se desarrollen en la zona o queden atrapadas entre las plantas de marismas o haces de fanerógamas marinas (Fig. 3).
- **Carbono orgánico disuelto (COD)**: fracción de carbono orgánico producido y liberado a la columna de agua por estos ecosistemas y que no puede ser pesado o medido directamente, ya que es el que tiene un tamaño inferior a 0,7 μm. De este carbono orgánico producido sólo la fracción recalcitrante es la que es considerada como sumidero a largo plazo.

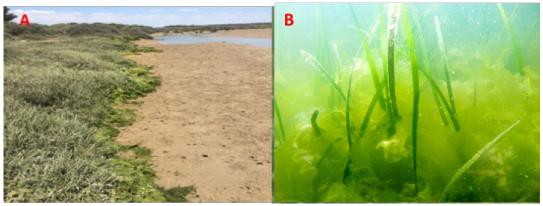


Figura 3. A) Franja de macroalgas (*Ulva* sp., *Blidingia marginata*, *Bostrychia scorpioides*) al pie de la marisma media. B) *Ulva rotundata* entrelazada entre haces de *Cymodocea nodosa*.

- **Producción primaria neta exportada:** compuesta principalmente por la biomasa epigea producida anualmente que no queda retenida en el lugar de proyecto, sino que se pierde del sistema de referencia al ser arrastrada por las corrientes y quedar atrapada en otras comunidades. Este sumidero a pesar de su importancia en estos sistemas, debido a la dificultad de su cuantificación, no será considerado actualmente como sumidero a la hora de calcular las absorciones/emisiones de

carbono debidas a la puesta en marcha de un proyecto. Sin embargo, es importante aumentar la investigación en el mismo debido a su relevancia y a su importancia.

2.3. El muestreo en la zona de proyecto

Para la estimación de las existencias de carbono orgánico en cado uno de estos sumideros será necesario proceder a muestrear en la zona del proyecto. El número de estaciones de muestreo representa un compromiso entre el tiempo de muestreo, el presupuesto asignado y el nivel de precisión en las estimaciones para cada sumidero. Idealmente deberían seleccionarse parcelas ¹ permanentes que sean periódicamente muestreadas más que parcelas temporales que cambien a lo largo del periodo de seguimiento del proyecto. En cualquier caso, cada una de estas dos estrategias presenta ventajas e inconvenientes.

La manera de identificar parcelas de muestreo puede basarse en criterios de homogeneidad una vez reconocido el terreno. Esta homogeneidad suele estar determinada por las especies dominantes de flora identificadas en las distintas zonas del proyecto, de manera que se garantice un número mínimo de parcelas de muestreo en cada tipo de unidad ambiental homogénea identificada (por ej. marisma alta o media, zona intermareal o submareal, etc). Este número dependerá del presupuesto asignado al proyecto y debe ser determinado por el responsable del mismo. En marismas o praderas de fanerógamas marinas no existen reglas fijas ni sobre el número mínimo de muestras a tomar en cada parcela de cada zona homogénea identificada (por ej. un mínimo de 3 a 6), ni en la superficie requerida para cada muestra (por ej. diámetro interno de los cilindros para el análisis del carbono orgánico en sedimento, superficie de las cuadrículas para biomasa, etc), que dependerá además del sumidero de carbono que se esté analizando y de las características de la vegetación que allí se encuentre (figura 4). Valores típicos empleados son cilindros de 5-15 cm de diámetro y 1 metro de profundidad para el suelo o sedimento, y áreas de hasta 50 x 50 cm para los sumideros de biomasa, necromasa o macroalgas (ej. Sousa et al. 2008, García-Marín et al. 2013, Mateo et al. 2019, Morant et al. 2020; UICN 2021). A la hora de seleccionar las zonas de muestreo dentro de cada unidad homogénea se puede partir de un transecto lineal desde la lámina de agua hacia fuera o considerar los puntos de muestreo al azar, pero siempre garantizando que se cubre razonablemente bien la homogeneidad de la zona de proyecto (figura 5). Para más detalle sobre estrategias de muestreo se puede consultar el manual de The Blue Carbon Initiative (Howard et al. 2019).

Las estimaciones de los sumideros de carbono se deben repetir en el tiempo, desde las estimaciones iniciales hasta el periodo de vigencia del proyecto, con frecuencias que generalmente incrementan el lapso de tiempo entre sucesivos muestreos y con el objetivo de recoger en los periodos iniciales desviaciones significativas en el desarrollo del proyecto que pudieran requerir la puesta en marcha de medidas correctoras urgentes. Una recomendación de referencia puede ser muestrear a tiempo cero, al año, a los 2 años, a lo 5 años, a los 10 años, a los 25 años y a los 50 años, aunque cada proyecto va a necesitar de un diseño particularizado que se prolongará durante su vigencia. Sí es

¹ El término parcela se refiere en el documento a cada una de las zonas de referencia para los muestreos en cada unidad homogénea.

recomendable tomar las muestras siempre en la misma estación del año y durante el periodo de máximos valores de la biomasa aérea, el cual suele ser durante la época estival.



Figura 4. Obtención de un core de sedimento en marisma media (praderas de Spartina maritima).

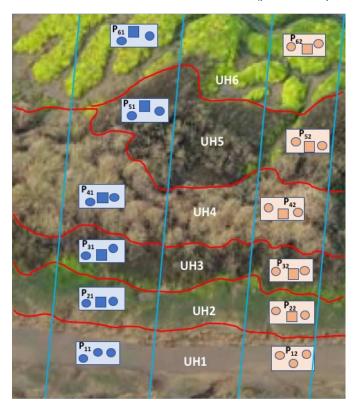


Figura 5. Esquema sencillo de un diseño de muestreo para las estimaciones de carbono azul. En la zona de muestreo se han identificado 6 unidades ambientales homogéneas (UH) y se han trazado 2 transectos. En cada unidad homogénea se han seleccionado 2 parcelas (P) y en cada parcela se han tomado 3 muestras, bien introduciendo un cilindro de diámetro conocido en el sedimento (círculo) o tomando muestras de biomasa en una cuadrícula (cuadrado). Con ayuda de un programa informático se podrá conocer la superficie de cada unidad homogénea identificada.

2.4. La biomasa como sumidero de carbono orgánico: biomasa vegetal, necromasa y macroalgas en marismas mareales y praderas de fanerógamas marinas

Para cada sumidero, ya sea la biomasa vegetal, la necromasa o la biomasa de macroalgas, se estimará tanto el peso como su contenido medio en carbono orgánico en cada una de las cuadrículas de muestreo seleccionadas, que una vez referido a la superficie de cada zona homogénea considerada, se irán sumando para así poder obtener el valor global de cada uno de los reservorios. La manera de estimar la biomasa dependerá de la especie considerada.

2.4.1. Marismas mareales

Para la estimación de la biomasa vegetal en marismas mareales se debe trazar un transecto perpendicular a la línea de costa o caño mareal. Para cada unidad homogénea identificada (figura 6) se selecciona una o varias parcelas paralelas a la línea de costa que se tomarán como parcelas fijas de referencia. Dentro de cada parcela del transecto, se deben elegir varias réplicas (de 3 a 6) de cuadrículas dispuestas al azar. Las parcelas fijas suelen ser rectangulares y pueden tener dimensiones de varias decenas de metros de lado, mientras que las dimensiones de las cuadrículas de muestreo suelen ser inferiores a 1 m de lado, desde 10 cm (ej. Curado et al 2013) hasta 1 m (ej. Castillo et al. 2008). Lo esencial es seguir siempre la misma estrategia de muestreo en cada ocasión en la que se vaya a muestrear cada transecto, ya que el tamaño elegido de la cuadrícula influye en los valores finales de biomasa normalizada por superficie y, por ende, en el valor de C para el sumidero (Castillo et al. 2008). Lo mismo es válido para la estación del año en que se toman las muestras. Como indicamos anteriormente, se recomienda muestrear en el periodo estival, que es cuando la biomasa aérea suele presentar los valores máximos en las marismas de la Península Ibérica (ej. Benito y Onaindia 1991, Palomo y Niell 2009, Sousa et al. 2017).



Figura 6. Franjas fácilmente observables en un ecosistema de marisma mareal: lámina de agua, sedimento sin vegetación, franja de *Spartina maritima* y franja de *Halimione portulacoides*.

Para la determinación de la biomasa aérea, la estrategia utilizada dependerá de la especie a analizar, y podrá consistir bien en la recolección de toda la biomasa viva aérea dentro de la cuadrícula de muestreo seleccionada, que posteriormente será secada hasta peso seco constante en una estufa a 60 °C y normalizada por la superficie de la cuadrícula (kg PS m⁻²); o bien en la estimación de dicha biomasa a través de metodologías indirectas (por ej. relaciones alométricas), lo que evitará la destrucción de la vegetación existente en la cuadrícula. Si a continuación se estima el contenido medio de carbono en la biomasa seca de cada especie utilizando un analizador elemental de CNH (%C; ver el procesado de muestras en el apartado 2.2.) podemos calcular el contenido en carbono orgánico en la biomasa aérea por superficie de referencia (kg C m⁻²), multiplicando la biomasa existente en cada cuadrícula de muestreo por su contenido en carbono. En los casos en los que haya más de una especie de planta se debe considerar la proporción de biomasa por especie en la biomasa total de la cuadrícula por el contenido medio de carbono medido en cada especie (tabla 1).

Tabla 1. Ejemplo de cálculo para una muestra analizada con dos especies de quenopodiáceas en la marisma media. El contenido de C para la cuadrícula muestreada sería de 0,127 kg C m⁻².

Especie en la muestra	Biomasa aérea (Kg PS m ⁻²)	% Biomasa en la biomasa total	% C	Contenido relativo en C (Kg m ⁻²)
Halimione portulacoides	0,364	58,6	41,1	0,150
Sarcocornia fruticosa	0,257	41,4	37,2	0,096

Para el caso de que no se disponga de un autoanalizador de CNH se debe acudir a un laboratorio de referencia. Hoy en día hay numerosas empresas y universidades que prestan este servicio de análisis externo certificado a un precio muy razonable; unos 5 € por muestra, incluyendo las medidas de N total.

La estimación de la biomasa aérea a través de relaciones alométricas dependerá principalmente de la especie y del tamaño de la misma, y hay que tener en cuenta que siempre tiene un margen de error al ser estimaciones del valor real en cada cuadrícula. Por ejemplo, en el caso de juncos y ciperáceas, se puede contar el número de tallos de cada especie junto con su altura en cada cuadrícula. Posteriormente se calcula el sumatorio de longitudes por especies, teniendo en cuenta que en aquellos tallos parcialmente senescentes se considera únicamente la parte verde. Posteriormente, se recolectan un número amplio de tallos de distintas longitudes y se pesan de un modo individual (en fresco -PF- y en seco -PS-), y se construye una curva patrón abarcando un amplio rango de valores de longitudes (L, cm o m) de fragmentos verdes con su biomasa asociada (B, kg PS). La ecuación del tipo B = a + bL, o bien $B = aL + bL^2$ que mejor se ajuste a la nube de puntos de la curva patrón permitirá la estimación de los valores de biomasa para la cuadrícula de referencia (kg PS m⁻²) teniendo en cuenta el sumatorio de las longitudes hecho anteriormente. También podría medirse la longitud media del tallo para cada especie presente y utilizando la recta patrón estimar el peso medio de cada tallo, el cual se multiplicaría por el número de tallos contados en cada cuadrícula (tallos m⁻²). La suma de la biomasa resultante para cada especie proporcionará de nuevo la biomasa aérea en la cuadrícula de muestreo (kg PS m⁻²).

Para especies como *Spartina*, se puede contar el número de haces en cada cuadrícula (haces m⁻²) y al igual que antes, recolectar un número amplio de haces que sean representativos de la población, que se pesan de un modo individual (en PF y en PS) y se mide la longitud del haz (L, cm o m). A partir de este momento bien se puede estimar el peso medio del haz calculando el valor medio de los pesos obtenidos (kg PS haz⁻¹), valor que posteriormente se multiplicará por la densidad media de haces en la cuadrícula (haces m⁻²), obteniendo la biomasa media en la cuadrícula (kg PS m⁻²). Otra posibilidad indirecta pasa por medir *in situ* la longitud de un conjunto de haces para obtener un tamaño medio de haz (cm haz⁻¹). A partir de una ecuación que relacione valores de L y PS, se multiplica el valor medio obtenido de peso seco del haz por la densidad de haces en la cuadrícula (haces m⁻²), obteniéndose así la biomasa media en la cuadrícula (kg PS m⁻²).

Otra posibilidad consiste en calcular la biomasa aérea a partir de ecuaciones que relacionen el porte de una planta o la circunferencia de su copa con su biomasa. Ello puede ser útil para especies de plantas con un porte más arbustivo como Limoniastrum monopetalum (figura 7). En estos casos se deben muestrear plantas de distinto porte, estimar tanto su altura como su biomasa en peso seco y calcular posteriormente el valor de la biomasa como variable dependiente de la ecuación. Afortunadamente, las diferentes zonas homogéneas de una marisma suelen estar dominadas por pocas especies, lo que permite la unificación de las metodologías en cada una de estas unidades homogéneas. Además, se sugiere que en el momento de inicio de proyecto se utilicen las metodologías directas para el cálculo de la biomasa aérea en las distintas unidades homogéneas, ya que servirán para construir las diferentes relaciones alométricas o relaciones L-PS que permitan aplicar metodologías indirectas en seguimientos sucesivos para la estimación de dichos valores. Los valores de biomasa por unidad de superficie obtenidos (kg PS m⁻²) deberán finalmente multiplicarse por el contenido medio de carbono en la biomasa seca de cada especie (% C), lo que permite calcular el contenido en carbono orgánico en la biomasa aérea por superficie de referencia (kg C m⁻²). Algunos autores diferencian entre tallos verdes, tallos leñosos y tallos muertos (ej. Palomo y Niell 2009) o entre hojas y tallos (ej. Sousa et al. 2008). Esto puede afinar un poco más los valores de C en el sumidero aéreo. Sin embargo, a efectos de simplificación, se puede reunir toda la biomasa aérea de una especie en una parcela y estimar el contenido de carbono de todo ese conjunto de biomasa seca.



Figura 7. Imagen de *Limoniastrum monopetalum*, especie presente en la marisma alta que puede llegar a presentar un aspecto arbustivo.

En cuanto a la biomasa subterránea, existen algunas ecuaciones que relacionan los valores de biomasa aérea con los valores de biomasa subterránea (ej. Gross et al. 1991 para Spartina alterniflora). Sin embargo, dada la variabilidad de ambos compartimentos, es mucho más conveniente estimar los valores de biomasa directamente a través del uso de cilindros cuyo diámetro dependerá del tamaño de la especie considerada. En marismas ibéricas, la mayor parte de la biomasa subterránea está en los primeros 30 cm (Caçador et al. 2003, Castillo et al. 2008, Sousa et al. 2008, Palomo y Niell 2009), aunque otros autores muestrean la biomasa subterránea hasta los 50 cm de profundidad (Curcó et al. 2002). Los cores obtenidos se deben separar en fragmentos horizontales para trabajar con mayor facilidad. Cada fragmento se puede lavar en un tamiz para separar los fragmentos atribuibles a raíces, rizomas y detritus. De la parte más superficial se debe eliminar la fracción correspondiente a la hojarasca (necromasa) o macroalgas, que serán estimadas por separado. Posteriormente se secan los fragmentos a 60 $^{\circ}$ C en una estufa hasta que alcancen peso constante (kg PS m⁻²) y se estima el contenido de carbono en la biomasa seca subterránea (% C), lo que permitirá calcular el contenido medio de carbono orgánico para ese compartimento en cada unidad homogénea (kg C m⁻²). Se pueden utilizar factores de conversión de valores de carbono medios en la biomasa subterránea, pero siempre es mejor calcular estos valores para cada zona de muestreo, de forma que aumente el grado de confianza en los resultados. De esta manera podremos disponer de un valor medio de carbono para los cores analizados en cada parcela con una estimación del error (desviación típica o error estándar).

Para la estimación de la materia muerta (o necromasa) y macroalgas, los valores se obtienen a partir de muestreos en cuadrículas (por ejemplo de 50 x 50 cm), separando los restos vegetales muertos (hojas, ramitas, etc) y las macroalgas. En ambos casos se seca el material y se pesa (kg PS m⁻²), analizando posteriormente el contenido medio en carbono del tejido seco (% C) en ambos compartimentos. La multiplicación de ambos valores nos proporcionará finalmente el contenido en carbono orgánico (kg C m⁻²) de cada uno de los dos compartimentos. Con los valores en cada parcela se puede determinar el valor medio por área homogénea junto con una estimación del error.

Por último, es posible que en la marisma nos encontremos con restos de palos, ramas y y otros materiales de mayor tamaño arrastrados por las mareas o los temporales. Este es un componente que suele ser muy minoritario y que se puede muestrear a lo largo de un transecto en cada parcela elegida. En este caso podemos recoger estos fragmentos en varias cuadrículas en una banda de 0,5 m de ancho y 50 m de largo perpendicular al caño en cada parcela. De esta manera podemos obtener un valor medio de biomasa en peso seco para este compartimento y un valor medio de C de la biomasa para el compartimento de forma similar a los cálculos anteriores.

2.4.2. Praderas de fanerógamas marinas

La biomasa de las fanerógamas marinas puede tener variaciones estacionales significativas, casi desapareciendo incluso en las especies más pequeñas durante el periodo invernal. Por tanto, es recomendable realizar las estimaciones de biomasa en el momento del año de su máxima

producción; a principios de verano en las costas españolas (Ruiz et al. 2015) y repitiendo el muestreo, para la misma época del año en los periodos sucesivos. En las zonas someras e intermareales los muestreos pueden hacerse a pie durante la bajamar en los días de marea con mayor coeficiente. Para zonas submareales será necesario un equipo específico de buceo apoyado por una embarcación. Las praderas de fanerógamas marinas en zonas templadas suelen ser monoespecíficas o estar limitadas a un número reducido de especies (2 especies, a lo sumo 3), aunque siempre suele dominar una de ellas. La selección de unidades ambientales homogéneas en el área de proyecto se realizará principalmente atendiendo al gradiente batimétrico, el cual suele determinar en un área tanto la distribución de las especies como las características estructurales de las praderas, elementos que afectan a su capacidad para capturar carbono (Serrano et al. 2014). En consecuencia, las unidades homogéneas de muestreo se deben alinear con la profundidad atendiendo a la clasificación proporcionada anteriormente. En cada una de ellas se determinará la biomasa aleatoriamente en diferentes cuadrículas.

La biomasa aérea (epigea) y subterránea (hipogea) se recolectará con la ayuda de muestreador (un paralepípedo o un cilindro) de área conocida (figura 8), que es insertado en el sedimento (con cuidado de no cortar las hojas) hasta llegar a profundidades de unos 40 cm que garanticen la recogida de la biomasa subterránea. El tamaño del muestreador será variable y dependiente de las características de la población (por ej. densidad de haces y tamaño del dosel), utilizándose áreas menores (por ej. 100 cm²) en el caso de poblaciones muy densas o con reducido tamaño de dosel, e incrementando el área de muestreo (1.600 cm²) para las especies con un mayor tamaño de dosel. Una vez extraído el muestreador y recogido el material interior del área muestreada, tras una primera limpieza *in situ* para eliminar los restos de sedimento con ayuda de una malla o tamiz (0,5 mm de luz de malla), el material se conserva en frío y se transporta al laboratorio donde se separan las diferentes fracciones para su análisis: biomasa epigea (haces), hipogea (raíces y rizomas), material muerto (necromasa) y macroalgas. En todos los casos, cada una de las fracciones separadas se seca en una estufa a 60 °C hasta peso constante (kg PS m²). Una vez debidamente molturadas, las muestras se procesan para analizar el contenido en C orgánico del tejido seco (%C), lo que permitirá calcular el contenido en C orgánico en cada cuadrícula analizada (kg C m²).



Figura 8. Toma de muestras de biomasa en praderas submareales poco profundas de la bahía de Cádiz. La biomasa recogida se introduce en una red para su lavado y su procesamiento posterior.

En la mayoría de especies de fanerógamas marinas, los haces pueden albergar una importante carga de algas epífitas que se deben extraer y analizar por separado. Para ello, hay dos técnicas: lavar con ácido en el caso de algas calcáreas incrustantes o raspar suavemente las hojas con un escalpelo en el caso de otras algas epifitas. La biomasa de macroalgas epifitas recolectada se seca y se pesa (kg PS m²) y una fracción se procesa para determinar el contenido en C orgánico del tejido seco (%C). Si entre las algas epífitas predominan las calcáreas (por ej. *Hidrolithon farinosum, Titanoderma pustulatum*), como puede ser habitual en hojas de *Posidonia oceanica*, el contenido en carbono total ha de ser corregido tras el análisis del carbono inorgánico, tal como veremos posteriormente (apartado 2.2).

Por último, una fracción de la producción primaria bruta de las praderas de fanerógamas marinas o de las macroalgas puede liberarse al sistema como carbono orgánico disuelto (COD), parte del cual es altamente refractario y daría por tanto lugar a un sumidero adicional de carbono, sumidero que a largo plazo puede representar una cantidad significativa pues es el resultado de un porcentaje de la producción anual de la biomasa aérea (Egea et al. 2019, Egea et al. 2020).

La estimación del COD es compleja y se basa en la filtración de muestras de agua procedentes de una cámara bentónica que alberga la comunidad objeto de análisis (figura 9). Las muestras de agua deben tomarse a tiempo inicial y en varios momentos de un ciclo de 24 horas para obtener mediciones diarias integradas de la producción o consumo de COD en la comunidad dominada por la angiosperma marina (Egea et al. 2019). Las muestras se filtran por filtros precombustionados (0,7 µm) y el agua filtrada se guarda en viales con ácido fosfórico diluido para someterlos a una oxidación catalítica a altas temperaturas en un analizador de carbono orgánico total de alta sensibilidad. Los valores obtenidos representan flujos diarios de DOC (mmol C m⁻² dia⁻¹) que deben transformarse a t C ha⁻¹ que cada año se libera al medio como DOC, parte del cual quedará en el medio acuático como un sumidero de carbono refractario. En importante reseñar que la producción de COD depende del estado de conservación en el que se encuentran las praderas, llegando incluso en algunos sistemas muy poco vegetados a comportarse como consumidores de COD (Egea et al. 2019).

Ejemplo: Una pradera de *C. nodosa* produce un valor de 30 mmol C m⁻² dia⁻¹ como COD. El valor en unidades de t C ha⁻¹ año⁻¹ se obtiene como:

30 mmol C m^{-2} dia⁻¹ x 10⁻³ mol μ mol⁻¹ x 12,011 g mol C x 10⁻⁶ t g⁻¹ x 10⁴ m² ha⁻¹ x 365 días año⁻¹ = 1,315 t C ha⁻¹ año⁻¹.

Si consideráramos que un 35% de este carbono es altamente refractario, la pradera de referencia secuestraría cada año 0,46 t C ha⁻¹ o lo que es lo mismo 1,69 t CO₂ ha⁻¹.

Conviene tener siempre en cuenta que un valor puntual es poco representativo del sistema pues la producción de COD sigue una dinámica estacional (Egea et al. 2020). La extrapolación de un solo valor tomado en un mes del año está sujeta a una gran incertidumbre ya que las producción de COD varían tanto estacionalmente como en función de la biomasa aérea de la pradera o las condiciones ambientales. Es por tanto aconsejable la medición al menos una vez en cada estación del año para así presentar estimaciones más fiables del flujo anual de COD.

Para más detalles sobre la metodología general en marismas y praderas de fanerógamas marinas se puede consultar el manual elaborado por *The Blue Carbon Initiative* (Howard et al. 2019), el entregable A2 disponible en la página del proyecto Life Blue Natura (http://life-bluenatura.eu/es/resultados/), el manual desarrollado para el sudoeste asiático

(Rahmawati et al. 2019), el manual para la creación de proyectos de carbono azul recientemente publicado por la UICN (UICN 2021), o el documento sobre técnicas en praderas elaborado para el proyecto ECOLAGUNES (Hernández et al. 2011). En éste último, hay además valores máximos de referencia para la biomasa y rangos de valores de carbono para fanerógamas marinas.



Figura 9. Ejemplo de cámara bentónica utilizada para la estimación de los flujos de COD en una pradera dominada por *Cymodocea nodosa*.

2.5. El suelo o sedimento como sumidero de carbono orgánico

El carbono orgánico de suelos o sedimentos constituye la mayor fracción del total de las existencias de carbono en marismas mareales y praderas de fanerógamas marinas. Proviene en último término de la biomasa y está formado por fragmentos vegetales en distintos grados de descomposición provenientes de raíces, rizomas, restos vegetales, etc. así como material orgánico sedimentado de origen diverso. Para minimizar la doble contabilidad del carbono orgánico asociado a biomasa subterránea viva, conviene estimar dicho carbono en cilindros introducidos en el sedimento en pequeños claros observables entre la marisma o la pradera de angiosperma marina.

En general, para tener datos comparables entre sí, en estos ecosistemas la información sobre el contenido de carbono orgánico se circunscribe al primer metro de profundidad, aunque en algunas ocasiones, especialmente en praderas de fanerógamas marinas (figura 10), se pueden muestrear cores de hasta 5-6 m de profundidad, tal como se ha realizado en el proyecto Life Blue Natura (http://life-bluenatura.eu/es/resultados/). Para la obtención del material edáfico a través de cilindros insertados en el suelo o sedimento, cuya metodología no es objeto de este documento, se recomienda consultar el manual de The Blue Carbon Initiative (Howard et al. 2016), los entregables disponibles A3 en la página del proyecto Life Blue (http://life-bluenatura.eu/es/resultados/) o el manual recientemente publicado por la UICN (UICN 2021).

Es muy importante recordar que los suelos o sedimentos se pueden compactar en el interior de los cilindros durante su extracción, por lo que es necesario calcular el factor de corrección de la compactación en cada caso, factor que se calcula dividiendo la longitud de la muestra obtenida dentro del cilindro (*core*) entre la longitud de penetración del mismo. Este factor, de valor ≤1, divide al valor de longitud del *core* (desde la parte más superficial) sobre el que quisiéramos conocer la profundidad de la muestra de suelo o sedimento para análisis.

Por ejemplo: si la longitud de penetración del cilindro es de 1,2 m y la del *core* obtenido es de 85 cm, el factor de corrección es de 0,708. Eso significa que una submuestra de los primeros 20 cm desde la superficie del *core*, en realidad representan 28,25 cm de suelo o sedimento.



Figura 10. Recolección de cores de sedimento en praderas de *Posidonia oceanica*.

2.5.1. Análisis de los cores de suelo o sedimento

Una vez que se recolectan los cilindros en el suelo o sedimento, se deben transportar al laboratorio para su análisis. Si ello no es posible se tomarán muestras de cada cilindro directamente sobre el terreno a distintos intervalos de profundidad. Idealmente se deben tomar submuestras a lo largo de todo el core, aunque por dificultad, coste o por ser prácticos se suelen tomar más muestras de la parte superficial y menos de las partes más profundas. En marismas mareales y praderas de fanerógamas marinas las mayores variaciones en carbono orgánico suele estár en los primeros 20-50 cm superficiales por lo que estas profundidades son las que se deben muestrear más. De hecho, en algunos trabajos desarrollados en marismas se han muestreado cilindros de menos de 1 m de profundidad (ej. Sousa et al. 2017, Jiménez-Árias et al. 2020). Es fundamental anotar siempre el volumen cogido de la submuestra para los cálculos posteriores.

La manera más habitual y práctica de muestrear los cilindros de suelo o sedimento es estimar primero la **densidad aparente** a cada intervalo de profundidad analizado, homogeneizar cada submuestra y determinar el contenido en carbono orgánico en dicha submuestra. Una posibilidad

consiste en tomar submuestras directamente a profundidades específicas, generalmente en el punto medio de cada rango de profundidad considerado. Por ejemplo: si queremos estimar el contenido en carbono orgánico entre los 15 y 30 cm de profundidad, tomamos la submuestra a 22,5 cm de profundidad.

Una vez introducida la submuestra en una bolsa o caja, debe quedar debidamente etiquetada, tanto en su contenedor como en una libreta: código, lugar, profundidad, aspecto, color, fecha y cualquier otro detalle relevante. Esta información debe quedar debidamente registrada en un archivo del ordenador con copia en la nube. Las muestras se deben almacenar en frío y ser analizadas lo antes posible (al día siguiente). En caso contrario deben congelarse hasta su posterior análisis.

Una vez en el laboratorio se procederá a calcular la densidad de carbono edáfico. Para ello se deben estimar tanto la densidad aparente del suelo o sedimento como su contenido en carbono orgánico.

2.5.1.1. Estimación de la densidad aparente

La densidad aparente (dimensiones M·L⁻³) se calcula como resultado del peso seco de cada muestra o submuestra que se tomó (g) dividido por su volumen (cm⁻³). En este punto no se deben eliminar de la muestra conchas o fragmentos que estén presentes. El peso seco de la muestra se obtiene tras secar la muestra a 60 °C durante un mínimo de 24 h o el tiempo suficiente que garantice un peso constante, algo que va a depender del tamaño de la muestra. Se puede trocear la muestra para así disminuir el tiempo de secado. Antes de pesar cada muestra es conveniente mantenerla en un desecador durante un tiempo suficiente para que alcance la temperatura ambiente. Los valores de densidad aparente suelen estar entre 0,1 y 0,9 g cm⁻³.

2.5.1.2. Estimación del carbono orgánico.

Estimar el contenido en carbono orgánico de una muestra de suelo o sedimento es un proceso laborioso ya que en cada una de ellas habrá una fracción orgánica de carbono y otra inorgánica. En primer lugar hemos de molturar la muestra para homogeneizarla. Para ello retiramos previamente las piedrecillas, ramitas, conchas, etc. La molturación se puede realizar manualmente en un mortero o de forma automática en un molino de bolas.

Como hemos apuntado anteriormente, el contenido en carbono se suele determinar en un autoanalizador de CNH. Sin embargo, es importante recordar que el autoanalizador proporciona el valor del contenido en carbono total de la muestra, por lo que, como veremos más adelante, en suelos y sedimentos tendremos que estimar el contenido en la misma que es inorgánico (y que no computa como carbono azul) para poder sustraerlo del carbono total de la muestra. Otro método sencillo de análisis del carbono orgánico menos utilizado consiste en la combustión de la muestra en un horno mufla y el uso posterior de relaciones empíricas entre el contenido en materia orgánica y el contenido en C orgánico de la muestra. Por último, el método de Walkley-Black de digestión húmeda de la muestra es el menos recomendado por requerir un laboratorio específico y presentar diversas limitaciones.

La metodología basada en la combustión de la muestra y el cálculo de relaciones empíricas entre el carbono orgánico y la materia orgánica es relativamente sencilla. Sin embargo, este método generalmente es poco utilizado ya que no es el más recomendable por sus estimaciones indirectas y

porque los costes para analizar muestras en un autoanalizador de CNH se han ido ajustando a la baja con los nuevos equipos.

En cualquier caso, esta técnica, conocida como porcentaje de pérdida por ignición (LOI, en sus siglas en inglés) consiste en estimar la masa de la muestra que se pierde (oxidada y emitida como gas, volatilizada, etc) cuando se calienta a altas temperaturas, generalmente a unos 450-550 °C durante varias horas (hasta 8). Esta temperatura asegura que toda la fracción orgánica de la muestra se oxida y lo que queda es la fracción inorgánica. Ahora bien, esta pérdida por ignición representa la materia orgánica de la muestra, donde hay C, N, H, P, S, etc., por lo que es necesario calcular una relación entre porcentaje de materia orgánica y porcentaje de carbono orgánico. Ello se puede hacer construyendo una recta (o curva) patrón a partir de suelos o sedimentos del lugar con diferente materia orgánica, en la que estimamos por una parte el carbono orgánico (por el primer método descrito basado en el autoanalizador de CNH) y la materia orgánica mediante la pérdida por ignición. Esto es mucho mejor que apoyarse en relaciones descritas en la literatura científica para lugares concretos del tipo:

Para suelos de marismas:

```
%C orgánico = 0,40 \text{ %LOI} + 0,0025 \text{ (%LOI)}^2 \text{ (Craft et al. 1991; Carolina del Norte)}
%C orgánico = 0,52 \text{ %LOI} - 1,17 \text{ (Ouyang y Lee 2020; valores globales)}
```

Aunque esta segunda ecuación se basa en mediciones en numerosos ecosistemas diferentes siempre es mejor trabajar con relaciones entre ambas variables construidas para el lugar de proyecto.

Para sedimentos en praderas de fanerógamas marinas:

```
%C orgánico = 0,298% LOI - 0,25 (Postlethwaite et al. 2018; Zostera marina; Canadá) %C orgánico = 0,43% LOI - 0,33 (Fourqurean et al. 2012; valores globales; LOI >20%) %C orgánico = 0,40% LOI - 0,21 (Fourqurean et al. 2012; valores globales; LOI <20%)
```

De nuevo, aunque las ecuaciones se basan en mediciones en praderas de fanerógamas marinas de todo el globo, siempre es mejor trabajar con relaciones entre ambas variables construidas para el lugar de proyecto (por ej. Marbá et al. 2015 o las calculadas para marisma mareales, praderas de fanerógamas marinas y salinas calculadas en los distintos informes elaborados en el proyecto Life Blue Natura, http://life-bluenatura.eu/en/results/).

En cualquier caso, este método, además de basarse en una relación entre variables, tiene algunas limitaciones que se han descrito en la bibliografía, de manera que, en muestras con alto contenido en carbono inorgánico o arcillas, puede sobreestimar el contenido en carbono orgánico.

2.5.1.3. Estimación de carbono inorgánico

El carbono inorgánico de los suelos y sedimentos costeros está generalmente en forma de carbonatos como el carbonato cálcico (CaCO₃) de algunas algas calcáreas o de conchas de moluscos. La estimación del CaCO₃ se puede llevar a cabo mediante la acidificación de la muestra o en un analizador elemental.

Si optamos por la acidificación para la descalcificación, lo más recomendable es utilizar una acidificación suave. En primer lugar, se toma una pequeña fracción de la muestra a analizar (ya

homogeneizada), se coloca en una placa de Petri o en un vidrio de reloj y se le añaden unas cuantas gotas de ácido clorhídrico (HCl) 1N. Si en la submuestra aparecen burbujas de CO₂ a modo de efervescencia, ello es indicativo de una presencia de carbono inorgánico significativa. En ese caso, el procedimiento a seguir es el siguiente:

- Pesar 1-5 g de submuestra del suelo o sedimento seco que se va a analizar. Anotar el peso ajustado al miligramo. Recordemos que en la muestra original ya conocemos el contenido en carbono total.
- Añadir la submuestra en un matraz de 125 ml o en un tubo de vidrio de centrífuga de 50 ml (para el caso de que vayamos a separar la muestra de la disolución por centrifugación).
- Cubrir la submuestra con HCl 1N y agitar durante unos 15 min, bien manualmente o mediante un baño o una sonda de ultrasonidos para provocar la evaporación del C inorgánico como CO₂. Dejar reposar durante un día.
- Añadir un poco más de la disolución de HCl. Dejar reposar unas horas hasta que la submuestra sedimente.
- Separar el HCl de la submuestra mediante decantación, centrifugación o con ayuda de una pipeta, dependiendo del aspecto de la fracción líquida.
- Cubrir la submuestra con agua destilada. Agitar suavemente.
- Volver a separar las dos fracciones como antes.
- Repetir el lavado de la submuestra con agua destilada dos veces más.
- Secar la submuestra a 60 °C durante 24 h y pesarla.

La diferencia de peso de la submuestra antes y después de la acidificación es una estimación del contenido en carbono inorgánico. Sin embargo, únicamente el 12% de la diferencia de peso se puede atribuir al carbono ya que este porcentaje es el que representa este elemento en el CO₃Ca. Por este motivo, la diferencia de peso se multiplica por 0,12 y representaría, ahora sí, el valor de carbono inorgánico en la submuestra. Finalmente, se resta este valor del obtenido anteriormente para el carbono total, lo que proporciona el contenido en carbono orgánico de una muestra.

Por ejemplo: supongamos que hemos analizado una muestra de sedimento en la que el 40% de su peso seco es carbono. Hemos analizado su contenido en carbono inorgánico, que resulta de restar 3.5 - 3.1 = 0.4 g; $0.4 \times 0.12 = 0.048 \text{ g} = 48 \text{ mg}$. Esto significa que el 1.37% de esa muestra [$(0.048/3.5) \times 100$] sería carbono inorgánico, por lo que el carbono orgánico de la muestra será el 38.63% del peso seco.

Si optamos por el analizador elemental, el procedimiento obliga necesariamente a eliminar todo el C orgánico de manera previa. Para ello se debe hacer lo siguiente:

- Pesar aproximadamente 1-5 g de submuestra del suelo o sedimento seco que se va a analizar. Anotar el peso ajustado al miligramo. Recordamos que la muestra original ya conocemos el contenido en carbono total.
- Colocar la submuestra en un crisol de cerámica (previamente pesado) y llevarla a un horno mufla para ser calentada a 500 °C durante un mínimo de 3 h y así conseguir la volatilización de los compuestos orgánicos.
- Enfriar la muestra a temperatura ambiente en un desecador y pesar el crisol con la muestra (ajustar el peso al miligramo).

- Llevar la muestra a un autoanalizador CNH. La lectura ahora corresponderá únicamente al carbono inorgánico de la muestra original.

De esta manera, si partimos de una muestra de sedimento en la que el 35% de su peso seco es carbono, hemos analizado ahora una muestra de 4,352 g de ese mismo sedimento, que llevada a la mufla deja un residuo en cenizas de 1,124 g. De este residuo analizamos su carbono inorgánico y resulta ser del 13%. Por lo tanto, el contenido en carbono inorgánico de la muestra será 13 x 1,124/4,352 = 3,36%. El contenido en carbono orgánico de la muestra será entonces de 31,64%.

3. CÁLCULO DE LAS EXISTENCIAS DE CARBONO ORGÁNICO TOTAL

El carbono orgánico total (COT) almacenado en el sistema de referencia es el resultado del sumatorio de los distintos reservorios de la biomasa y del suelo o sedimento:

$$\cot_{sistema} = \cot_{biomasa} + \cot_{suelo}$$

Dado que hemos estimado cada uno de los reservorios, es posible el cálculo de las existencias tanto en la biomasa como en el suelo o el sedimento de las marismas o las praderas de fanerógamas marinas.

3.1. Existencias de carbono orgánico total asociado a la biomasa

Una vez obtenidas todas las medidas y estimaciones necesarias de las variables involucradas en el cálculo de las existencias de carbono en los diferentes sumideros o compartimentos de la biomasa (aérea, subterránea, necromasa y macroalgas) podemos proceder a calcular el contenido en C orgánico de cada una de ellas y su incertidumbre asociada.

Para cada fracción:

- Se determinará el contenido medio de carbono (kg C m⁻²) de cada una de las fracciones de biomasa (F_i) en cada una de las parcelas de referencia (P_i) de cada unidad homogénea (UH) de marisma mareal o pradera de angiosperma marina (ver figura 5).
- 2. Se convierten las unidades (kg C m⁻²) a t C ha⁻¹, por lo que tendremos que multiplicar el valor anterior por 10.

$$Kg C m^{-2} \times 10 = t C ha^{-1}$$

3. Sumar todos los valores de t C ha⁻¹ obtenidos para las distintas fracciones F₁ en cada parcela de referencia de cada unidad homogénea. Con esto ya obtendremos cuántas t C ha⁻¹ hay en cada parcela.

$$C$$
 orgánico $P_i = \sum_{F=1}^{F=n} tC \times ha^{-1}$

4. Hallar el valor medio de carbono orgánico y el error (desviación típica; σ o error estándar; EE) de las n parcelas muestreadas en cada unidad homogénea UH.

$$\frac{1}{t \, C \, orgánico \times ha^{-1}} UH_{i} = \frac{\sum_{P=1}^{P=n} Carbono \, P_{i}}{n} \pm Error$$

5. Calcular la superficie S en hectáreas que ocupa cada unidad homogénea (por ejemplo a través de la información suministrada por un sensor remoto, un dron, una fotografía aérea tratada digitalmente, información disponible en mapas, etc). Multiplicar la superficie que ocupa cada unidad homogénea por su contenido en C y sumar todos los valores para así conocer las toneladas de C orgánico que representan todos estos compartimentos en la zona de proyecto.

$$t \cot_{biomasa} = \sum_{i=1}^{i=n} \overline{tC \times ha^{-1}} UH_i \times S_i$$

6. El cálculo de la incertidumbre asociada a esta estimación en la zona de proyecto se obtiene como la raíz cuadrada del sumatorio del producto al cuadrado del valor de la desviación típica de cada zona homogénea (o en su defecto el error estándar) calculado en el paso 4 por su superficie en hectáreas:

$$\sigma_{\text{total}} = [(\sigma_{\text{UH1}}S_1)^2 + (\sigma_{\text{UH2}}S_2)^2 + (\sigma_{\text{UH3}}S_3)^2 + \dots + (\sigma_{\text{UHn}}S_n)^2)]^{\frac{1}{2}}$$

donde σ_{UH1} ... σ_n y S_1 ... S_n indican las desviaciones típicas y las superficies en hectáreas, respectivamente, de cada una de las unidades homogéneas identificadas en el área de proyecto.

- 7. Presentar los resultados como t C orgánico ± σ_{total} o t C orgánico ± EE_{total} .
- 8. Para expresar el valor en términos de emisiones potenciales de CO_2 , convertir el valor anterior a t $CO_2 \pm \sigma_{total}$ o t $CO_2 \pm EE_{total}$, mutiplicando dicho valor y la estimación del error por el factor de conversión de 3,67 que es la ratio entre el peso molecular del CO_2 (44) y el carbono (12).

$$tCO_{2biomasa} = t \cot_{biomasa} \times 3,67$$

3.2. Existencias de carbono orgánico total asociado al suelo o sedimento

Dado que ya tenemos todas las medidas y estimaciones necesarias de las variables involucradas en el cálculo de las existencias de carbono podemos proceder a los siguientes cálculos:

- 1. Para cada intervalo (I) del core (Co) de suelo o sedimento analizado, la densidad de carbono orgánico (dimensiones M·L⁻³) se calcula como:
 - Densidad de carbono orgánico (g C cm⁻³) = densidad aparente (g cm⁻³) x % C orgánico/100.
- 2. Multiplicar este valor por la longitud del intervalo de core (L; en cm) del que proviene la muestra anterior (intervalo l_i del core Co).

$$gCcm^{-3}xL_{i}=(gCcm^{-2})_{Ii}$$

3. Sumar todos los valores obtenidos en intervalos de un mismo core, indicando siempre la longitud total de cada core, ya que este es un dato fundamental para comparar las estimaciones entre zonas o durante la vigencia de un proyecto. Las unidades de carbono orgánico por tanto estarán ahora en g C cm⁻².

$$g C \operatorname{orgánico} \operatorname{cm}^{-2} = \sum_{I=1}^{I=n} (g C \times \operatorname{cm}^{-2})_{Ii}$$

4. Convertir las unidades a t C ha⁻¹, por lo que tendremos que multiplicar este valor por 10².

$$a C cm^{-2} \times 100 = t C ha^{-1}$$

5. Realizar el mismo cálculo para cada cilindro de una misma unidad homogénea UH y calcular la media y una estimación del error (error estandar; EE o desviación típica; σ) de los valores de carbono orgánico en cada unidad homogénea.

$$\frac{\sum_{Co=1}^{Co=n} C_{Coi}}{t \, C \, orgánico \times ha^{-1} \, UH_i} = \frac{\sum_{Co=1}^{Co=n} C_{Coi}}{n} \pm Error$$

6. Calcular la superficie (S; en ha) de la unidad homogénea para obtener los datos de toneladas de C orgánico en dicha zona.

$$t \cot_{suelo} = \sum_{i=1}^{i=n} \overline{t \, C \, orgánico \times ha^{-1}} \, UH_i \times S_i$$

- Realizar estas mismas operaciones en el resto de unidades homogéneas. Sumar todos los valores y obtener la estimación total de las toneladas de C orgánico en el suelo o sedimento en la zona de proyecto.
- 8. El cálculo de la incertidumbre asociada a esta estimación en la zona de proyecto se obtiene como sumatorio del producto del valor de la desviación típica de cada unidad homogénea, o en su defecto el error estándar (calculada en el paso 5) por su superficie en hectáreas.

$$\sigma_{\text{total}} = [(\sigma_{A}S_{A})^{2} + (\sigma_{B}S_{B})^{2} + (\sigma_{C}S_{C})^{2} + \dots + (\sigma_{D}S_{D})^{2}]^{\frac{1}{2}}$$

donde σ_A ... σ_N y S_A ... S_n indican las desviaciones típicas y las superficies en hectáreas, respectivamente, de cada una de las unidades homogéneas identificadas en el área de proyecto.

- 9. Presentar los resultados como t C orgánico $\pm \sigma_{total}$ o t C orgánico $\pm EE_{total}$.
- 10. Para expresar el valor en términos de emisiones potenciales de CO₂, convertir el valor anterior a t CO₂ ± σ_{total} o t CO₂ ± EE_{total}, mutiplicando dicho valor y la estimación del error por el factor de conversión de 3,67 que es la ratio entre el peso molecular del CO₂ (44) y el carbono (12).

$$tCO_{2suelo} = t \cot_{suelo} \times 3,67$$

.

4. ESTIMACIÓN DE LAS EMISIONES DE DIÓXIDO DE CARBONO

Para comprender cómo los ecosistemas de carbono azul contribuyen a mitigar el cambio climático, es necesario conocer no solamente qué cantidad de carbono es secuestrado en el suelo o sedimento sino aquel que es emitido a la atmósfera en una unidad de tiempo y en cada sistema de referencia. Este valor resultante del secuestro o emisión neto de CO₂ se puede calcular directamente mediante métodos que evalúan el intercambio de gases o, más comúnmente, a partir de los intercambios en las existencias de carbono como un indicador del intercambio gaseoso. Sin embargo, otros gases de efecto invernadero (GEI) como el metano (CH₄) o el óxido nitroso (N₂O) solamente se pueden estimar mediante el intercambio gaseoso. El cálculo de los cambios en las existencias de carbono y las emisiones de GEI sirve para establecer la línea de base para el seguimiento tanto de las tasas de secuestro como de la tendencia de las emisiones de dichos gases.

Sobre qué enfoque seguir para la medición de emisiones de carbono y GEI nos referimos a las recomendaciones del documento de *The Blue Carbon Initiative* (Howard et al. 2019). Sin embargo, es probable que los proyectos sigan la metodología basada en la diferencia de las existencias de carbono orgánico en dos momentos distintos: en el escenario preoperacional o cero (evaluación inicial) y a distintos intervalos temporales medidos a escala de años hasta la vigencia del proyecto. En estas mediciones posteriores conviene asegurarse de que el suelo o sedimento no ha modificado su potencia (o altura) por acreción o erosión. Ello puede determinarse estableciendo un nivel de referencia en los cilindros de suelo o sedimento tomados en el estado cero (por un cambio neto de color, por ejemplo, a una profundidad determinada), a través de mediciones por medio de una tabla de elevación de la superficie (Cahoon et al. 2002, Callaway et al. 2013), por información suministrada por agencias gubernamentales o por trabajos de investigación donde se analice directamente las tasas de erosión/acreción.

En marismas o praderas de fanerógamas marinas en buen estado de conservación las emisiones de N₂O son en general muy reducidas. Pueden alcanzar mayor importancia en sistemas degradados o en zonas en las que haya entradas importantes de nitrato en el sistema, como por ejemplo a través de actividades como la acuicultura o debido a escorrentías. La producción de CH₄ está condicionada por la salinidad, de forma que se suele asumir que a salinidades mayores que 18 psu las emisiones de este gas son nulas (IPPC 2014). No obstante, la importancia de las emisiones de estos dos GEI en marismas mareales y praderas de fanerógamas marinas quizás no sea tan despreciable y requiera una valoración en mayor profundidad tal y como diversas revisiones y trabajos recientes han apuntado (Garcías-Bonet & Duarte 2017, Alongi 2020, Oreska et al. 2020, Rosentreter et al. 2021).

La estimación de las emisiones de CH_4 o N_2O se realizan a través de mediciones de flujo. Esto se consigue en unas cámaras bentónicas que encierran una superficie del sistema en cuyo interior se estiman los incrementos de estos gases disueltos en el aire interior por medio de un cromatógrafo de gases. La utilización de estas cámaras bentónicas requiere la estandarización de diversos parámetros como el volumen, la superficie y el tiempo de incubación. El flujo (dimensiones $M \cdot L^{-2} \cdot T^{-1}$) se puede expresar en μ mol gas m^{-2} min- $^{-1}$ y luego convertirlo a mg gas ha^{-1} año $^{-1}$.

Por ejemplo, si la tasa de incremento de N_2O en la cámara de incubación según la lectura del cromatógrafo ha sido de 4,56 μ moles min⁻¹ y la superficie de la cámara es de 0,5 m², la tasa será de 9,12 μ moles m⁻² min⁻¹. Y ahora:

 $9,12 \times 10^4 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1} \times 10^{-6} \text{ mol } \mu\text{mol}^{-1} \times 44,013 \text{ g mol } N_2\text{O}^{-1} \times 10^{-6} \text{ t g}^{-1} \times 5,256 \ 10^5 \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ t g}^{-1} \times 5,256 \ 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ t g}^{-1} \times 5,256 \ 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ t g}^{-1} \times 5,256 \ 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ t g}^{-1} \times 5,256 \ 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ t } N_2\text{O} + 20^{-1} \times 10^{-6} \text{ min } año^{-1} = 2,109 \text{ min }$

Queda convertir este valor a equivalentes de CO_2 liberados a la atmósfera. Para ello se utiliza el factor de conversión propuesto por el Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPPC) que es de 265 Kg CO_2 Kg N_2O^{-1} (IPPC 2014, www. climatechangeconnection.org/emissions/co2-equivalents/).

Por lo tanto 2,109 t N_2O ha⁻¹ año⁻¹ equivalen a 558,89 t CO_2 ha⁻¹ año⁻¹.

Para el caso del CH₄, el valor de conversión de potencial de calentamiento global propuesto por este organismo para un periodo de 20 años es de 84 Kg CO₂ Kg CH₄-1. Este factor de conversión para un periodo de 100 años es aproximadamente 28 Kg CO₂ Kg CH₄-1, que, a pesar de que el CH₄ persiste en la atmósfera durante algo más de una década, es el que se utiliza para calcular los equivalentes de CO₂ (www. climatechangeconnection.org/emissions/co2-equivalents).

Hemos de tener en cuenta en todo caso que el valor extrapolado al año está sujeto a una gran incertidumbre ya que las tasas de emisión varían tanto estacionalmente como en función de las condiciones ambientales por lo que sería aconsejable la medición en distintos momentos del año para así presentar valores medios de emisiones a lo largo del año.

También es importante tener en cuenta la forma en que se pierde el carbono ya que tanto en marismas como en praderas de fanerógamas marinas sumergidas una parte se puede perder en forma de carbono inorgánico disuelto, carbono orgánico disuelto o particulado que se exporta a otros ecosistemas adyacentes y que por tanto no es captado por las mediciones de flujo. El grado de importancia de estas fracciones adicionales es uno de los temas de interés en investigación sobre la dinámica del carbono en marismas y praderas de fanerógamas marinas (Egea et al. 2019).

5. REFERENCIAS

- Alongi DM (2020) Carbon Balance in Salt Marsh and Mangrove Ecosystems: A Global Synthesis. Journal of Marine Science and Engineering. 8(10):767.
- Benito I, Onaindia M (1991). Biomass and aboveground production in four angiosperms in Cantabrian (N. Spain) salt marshes. Vegetatio 96: 166-175.
- Biogeos (2016). Caracterización de la marisma mareal de la bahía de Cádiz. Proyecto LIFE 14 CCM/ES/000957 Blue Natura Andalucía.
- Caçador I, Costa AL, Vale C (2003). Carbon storage in Tagus salt marsh sediments. Water, Air and Soil Pollution: Focus 4: 701-714.
- Cahoon DR, Lynch JC, Perez BC, Segura B, Holland RD, Stelly C, Stephenson G, Hensel P (2002). High-precision measurements of wetland sediment elevation: II. The rod surface elevation table. Journal of Sedimentary Research 72: 734–739.
- Callaway JC, Cahoon DR, Lynch JC (2013). The surface elevation table—marker horizon method for measuring wetland accretion and elevation dynamics. Methods in Biogeochemistry of Wetlands, capitulo 46. Editores: DeLaune RD, Reddy KR, Richardson CJ, Megonigal JP. Soil Science Society of America.
- Castillo JM, Leira-Doce P, Rubio-Casal AE, Figueroa E (2008). Spatial and temporal variations in aboveground and belowground biomass of *Spartina maritima* (small cordgrass) in created and natural marshes. Estuarine, Coastal and Shelf Science 78: 819-826.
- Craft CB, Seneca ED, Broome SW (1991). Loss on ignition and Kjeldah digestion for estimating organic carbon and total nitrogen in estuarine marsh soils: calibration with dry combustions. Estuaries 14: 175-179.
- Curado G, Rubio-Casal AE, Figueroa E, Grewel BJ, Castillo JM (2013). Native plant restoration combats environmental change: development of carbon and nitrogen sequestration capacity using small cordgrass in European salt marshes. Environmental Monitoring and Assessment 185: 8439–8449.
- Curcó A, Ibáñez C, Day JW, Prat N (2002). Net primary production and decomposition of salt marshes of the Ebre Delta (Catalonia, Spain). Estuaries 25: 309-324.
- Egea LG, Jiménez-Ramos R, Hernández I, Brun FG (2020). Differential effects of nutrient enrichment on carbon metabolism and dissolved orgánic carbon (DOC) fluxes in macrophytic benthic communities. Marine Environmental Research 162: 105179.
- Egea LG, Barrón C, Jiménez-Ramos R, Hernández I, Vergara JJ, Pérez-Lloréns JL, Brun FG (2019). Coupling carbon metabolism and dissolved organic carbon fluxes in benthic and pelagic coastal communities. Estuarine, Coastal and Shelf Science 227: 106336.

- Fourqurean JW, Duarte CM, Kennedy H, Marbá N, Holmer M, Mateo MA, Apostolaki ET, Kendrick GA, Krause-Jensen D, McGlathery JJ, Serrano O (2012). Seagrass ecosystems as a globally significant carbon stock. Nature Geoscience 5: 505-509.
- Garcias-Bonet N & Duarte CM (2017) Methane Production by Seagrass Ecosystems in the Red Sea. Front. Mar. Sci. 4:340.
- García-Marín P, Cabaço S, Hernández I, Vergara JJ, Silva J, Santos R (2013). Multi-metric index based on the seagrass *Zostera noltii* (ZoNI) for ecological quality assessment of coastal and estuarine systems in SW Iberian Peninsula. Marine Pollution Bulletin 68: 46-54.
- Gross MF, Hardisky MA, Wolf PL Klemas V (1991). Relationship between aboveground and belowground biomass of *Spartina alterniflora* (smooth cordgrass). Estuaries 14: 180–191.
- Hernández I, Peralta G, Garcia-Marin P, De los Santos CB, Brun FG, Perez-Llorens JL. Morris EP, Lara M, Gonzalez-Ortiz V, Olive I, Villazan B, Vergara JJ (2011). Técnicas para la estimación de variables de interés en el análisis del estado ecológico de las praderas de fanerógamas marinas. Documento técnico-científico del proyecto ECO-LAGUNES. Tomado de http://hdl.handle.net/10498/11044.
- Howard J, Hoyt S, Isensee K, Pidgeon E Telszewski M (eds.) (2019). Coastal blue carbon. Methods for assessing carbon stocks and emissions factors in mangroves, tidal salt marshes, and seagrass meadows. The Blue Carbon Initiative, http://thebluecarboninitiative.org.
- IPPC (2007). Climate Change 2007: The physical science basis. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- IPCC (2014). 2013 Supplement to the 2006 IPCC guidelines for national greenhouse gas inventories: Wetlands. Hiraishi T, Krug T, Tanabe K, Srivastava N, Baasansuren J, Fukuda M, Troxler TG (eds). IPCC, Switzerland.
- Jiménez-Árias JL, Morris E, Rubio-de-Inglés MJ, Peralta G, García-Robledo E, Corzo A, Papaspyrou S (2020). Tidal elevation is the key factor modulating burial rates and composition of organic matter in a coastal wetland with multiple habitats. Science of the Total Environment 724: 138205.
- Life Blue Natura (2016). deliverable A3: results of the sampling during the field mission in Andalusian coastal saltmarshes. Descargable en: life-bluenatura.eu/wp-content/uploads/2017/01/ANEJO-A3_DELIVERABLE_RESULTADOS-MUESTREOS-EN-MARISMAS-ANDALUZAS def red.pdf. Descargado el 15 de marzo de 2021.
- Marbá N, Arias-Ortiz A, Masqué P, Kendrick GA, Mazarrasa I, Bastyan GO, García-Orellana J, Duarte CM (2015). Impact of seagrass loss and subsequent revegetation on carbon sequestration and stocks. Journal of Ecology 103: 296-302.
- Morant D, Picazo A, Rochera C, Santamans AC, Miralles-Lorenzo J, Camacho-santamans A, Ibáñez C, Martínez-Eixarch M, Camacho A (2020). Carbon metabolic rates and GHG emissions in different wetland types of the Ebro Delta. PloS ONE 15: e0231713.
- Ouyang X, Lee SY (2020). Improved estimates on global carbon stock and carbon pools in tidal wetland. Nature Communications 11: 317.

- Oreska, M.P.J., McGlathery, K.J., Aoki, L.R. et al. (2020) The greenhouse gas offset potential from seagrass restoration. Sci Rep 10, 7325.
- Palomo L, Niell FX (2009). Primary production and nutrient budgets of *Sarcocornia perennis* ssp. *alpini* (Lag.) Castroviejo in the salt marsh of the Palmones River estuary (Southern Spain). Aquatic Botany 91: 130-136.
- Postlethwaite VR, McGowan AE, Kohfeld AE, Robinson CLK, Pellat MG (2018). Low blue carbon storage in eelgrass (*Zostera marina*) meadows on the Pacific Coast of Canada. PloS ONE 13: e0198348.
- Rahmawati S, Hernawan UE, McMahon K, Prayuda B, Prayitno HB, Wahyudi AL, Vanderklift M (2019).

 Guideline for the assessment of carbon stock and sequestration in Southern Asia. Gadjah Mada University Press.
- Resentreter JA, Al-Haj AN, Fulweiler RW, Williamson P (2021). Methane and nitrous oxide emissions complicate coastal blue carbon assessments. Global Biogeochemical Cicles 35: e2020GB006858
- Ruiz JM, Guillén JE, Ramos-Segura A, Otero MM (eds). Atlas de las praderas marinas de España. IEO/IEL/UICN.
- Serrano O, Mateo MA, Renom P, Julià R. (2012). Characterization of soils beneath a *Posidonia* oceanica meadow. Geoderma 185–186: 26–36.
- Sousa AI, Lillebo AI, Caçador I, Pardal MA (2008). Contribution of *Spartina maritima* to the reduction of eutrophication in estuarine systems. Environmental Pollution 156: 628-635.
- Sousa Al, Santos DB, Ferreira da Silva E, Sousa LP, Cleary DFR, Soares AMVM, Lillebo Al (2017). Blue Carbon' and Nutrient Stocks of Salt Marshes at a Temperate Coastal Lagoon (Ria de Aveiro, Portugal). Scientific Reports 7: 41225.
- UICN (2021). Manual para la creación de proyectos de carbono azul en Europa y en el Mediterráneo. Otero MM (ed). 144 pp.