

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS



**EFFECTO DE LA OSTRICULTURA EN LOS PROCESOS
SEDIMENTARIOS DE REDUCCIÓN DESASIMILATORIA DE
NITRATO EN UNA LAGUNA COSTERA: USO DE LA TÉCNICA DE
EMPAREJAMIENTO ISOTÓPICO REVISADA (R IPT-DNRA) EN UN
SISTEMA DE FLUJO CONTINUO.**

PROYECTO DE T E S I S

PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

PRESENTA

WILSON ALBERTO SOLIS TUBERQUIA

Ensenada, Baja California, México

Octubre - 2023

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
POSGRADO EN OCEANOGRAFIA COSTERA

EFFECTO DE LA OSTRICULTURA EN LOS PROCESOS
SEDIMENTARIOS DE REDUCCIÓN DESASIMILATORIA DE
NITRATO EN UNA LAGUNA COSTERA: USO DE LA TÉCNICA DE
EMPAREJAMIENTO ISOTÓPICO REVISADA (R IPT-DNRA) EN UN
SISTEMA DE FLUJO CONTINUO.

T E S I S


QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA
OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

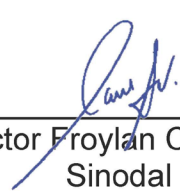
PRESENTA

WILSON ALBERTO SOLIS TUBERQUIA


Aprobada por:




Dr. Guillermo Alberto Samperio Ramos
Director de tesis



Dr. Víctor Froylán Camacho Ibar
Sinodal



Dra. Silvia Pajares Moreno
Sinodal



Dr. Carlos Orión Norzagaray López
Sinodal

Este trabajo está dedicado primero a mi madre Alba Rosa Tuberquia, quien siempre ha tenido fe en mí y quien es fiel creyente de lo que todos sus hijos pueden lograr. A mis hermanos, por ser un pilar fuerte en toda mi carrera y por ser ellos quienes también me ayudaron cuando lo necesite.

El sumo resultado del esfuerzo y la dedicación.

Agradecimientos

A mi director de tesis Dr. Guillermo Samperio, por ser un apoyo incondicional durante mis estudios y por todos los conocimientos que me ha podido brindar. A mis sinodales, Dr. Víctor Camacho, Dra. Silvia Pajares y Dr. Orión Norzagaray por su guía y sus consejos para la realización plena de todo este trabajo. Al compañero Dr. Oscar Gabriel Hernández, por su ayuda en toda la logística de experimentación y apoyo en los análisis de laboratorio.

A el Instituto de Investigaciones Oceanológicas y a la Universidad Autónoma de Baja California por permitirme cursar una maestría y por brindar sus instalaciones para todos nuestros trabajos y clases. A la Facultad de Ciencias Marinas y a sus profesores, por el esfuerzo de mejorar y educar correctamente a quienes se encuentran en el programa de oceanografía costera. Al CONAHCYT, por brindarme el apoyo económico para realizar mis estudios en México. Al proyecto de CONAHCYT ciencia frontera “Nitrogen cycling in marine sediments: Canonical processes and ‘new’ players assessed in an upwelling influenced coastal lagoon with oyster aquaculture” a cargo del Dr. Guillermo Samperio, por su aporte tanto investigativo como económico para esta investigación.

A nuestro grupo de investigación CiNeMa, por compartir todas sus experiencias y brindar mucho conocimiento y correcciones a este su servidor, como estudiante y como persona. A mis amigos y compañeros de la universidad, Jorge Velásquez mi estimado y respetado mentor, a mis amigos en Colombia, y todos aquellos profesores de la Universidad de Antioquia que siempre creyeron en mí y me aconsejaron tomar este camino.

Y finalmente a todos los que hicieron parte de este proceso de manera directa e indirecta, ya que no hay papel lo suficientemente extenso para nombrarlos a todos.

Muchas gracias.

Tabla de contenido

Índice de figuras	IV
Índice de tablas	V
1.	Resumen
.....	1
2.	Introducción
.....	3
3.	Objetivos
.....	11
3.1. Objetivo general.....	11
3.1.1. Objetivos específicos	11
3.2. Preguntas de investigación.....	11
4.	Hipótesis
.....	12
5.	Materiales y métodos
.....	13
5.1. Descripción de la zona de estudio.....	13
5.2. Recolección de muestras.....	16
5.3. Incubación de los núcleos mediante un sistema de flujo continuo	18
5.4. Análisis en las muestras de agua.....	21

5.5. Características geoquímicas del sedimento	22
5.6. Cálculo de los flujos bentónicos	23
5.7. Aplicación de la técnica revisada de emparejamiento isotópico (R-IPT DNRA en sus siglas en inglés).....	23
5.8. Análisis estadísticos	25
6.	Resultados
.....	26
6.1. Características geoquímicas del sedimento y el agua de mar	26
6.2. Flujos de O ₂ , DOC, NO ₂ ⁻ y NH ₄ ⁺	28
6.3. Tasas de DNF, ANX, DNRA y N ₂ O-DNF.	32
7.	Discusión
.....	36
7.1. Flujos bentónicos	36
7.2. Aplicación de la R IPT-DNRA	39
7.3. Reducción desasimilatoria de nitrato en la Bahía de San Quintín	43
7.4. Efecto de los biodepositos en el ciclo del N	48
7.5. Producción de N ₂ O	50
7.6. Limitaciones metodológicas para evaluar los procesos del ciclo del N.....	51
8.	Conclusiones
.....	53

9.	Referencias
.....	55
10.	Material suplementario
.....	75

Índice de figuras

Figura 1. Ciclo del N en hábitats de ostiones (Ray et al., 2021).....	7
Figura 2. Modelo R IPT-DNRA, el cual adiciona la habilidad de cuantificar la producción de N ₂ O vía DNF y la producción de NH ₄ ⁺ vía DNRA de la R-IPT mientras simultáneamente se distingue el ANX canónico y el acoplamiento entre DNRA-ANX. Tomado de (Salk et al., 2017).....	9
Figura 3. Esquema adaptado de Miller-Way & Willey (1996) sobre los componentes de un microcosmos conectado a un sistema de flujo para un núcleo individual de sedimento.....	10
Figura 4. Mapa de la Bahía de San Quintín donde se muestran las estaciones 1 y 2, las cuales están situadas en Bahía Falsa (BF) y el Brazo de San Quintín (BSQ), respectivamente.	14
Figura 5. Esquema experimental de un sistema de flujo continuo (microcosmo).....	19
Figura 6. Montaje del sistema de flujo continuo.....	20
Figura 7. Flujos de O ₂ (A), NH ₄ ⁺ (B), DOC (C) y NO ₂ ⁻ (D), las barras de error representan la desviación estándar. Flujos determinados para cada muestreo bajo tres tratamientos (sedimentos de Bahía falsa (BF), sedimentos del Brazo de San Quintín impactados (BSQI) y sedimentos del Brazo de San Quintín Prístinos - control (BSQP)) con n = 3. Los recuadros corresponden a las concentraciones de los reservorios de cada sedimento (BF, BSQI y BSQP) durante el tiempo de experimentación, con n = 27.	30
Figura 8. Tasas de DNF (A), ANX (B), óxido nitroso (N ₂ O-DNF) (C) y DNRA (D). Valores reportados en μmol N m ⁻² h ⁻¹ , excepto para N ₂ O-DNF (nmol m ⁻² h ⁻¹). Las barras corresponden a la media por tipo de sedimento más la desviación estándar (barras de error), con n = 3.....	34
Figura 9. Contribución a la pérdida de N (A) como N ₂ y N ₂ O, y contribución a la reducción total de NO ₃ ⁻ (B) via DNF, ANX, N ₂ O via DNF y DNRA, para los sedimentos evaluados en BF, BSQI y BSQP.....	35

Figura 10. DNF calculada a partir del balance de [Nielsen \(1992\)](#) (A). Las barras de error representan la desviación estándar, con $n = 3$. (B) Sobrestimación de las tasas DNF generadas con el balance de [Nielsen \(1992\)](#) con respecto al balance de [Salk et al. \(2017\)](#) para BF, BSQI y BSQP... 42

Índice de tablas

Tabla 1. Tratamientos a emplear durante la incubación de los núcleos de sedimento.	17
Tabla 2. Parámetros y ecuaciones usados en R IPT-DNRA (Salk et al., 2017).	24
Tabla 3. Valores iniciales promedio (\pm errores estándar) de porosidad, humedad (%), permeabilidad (m^2), contenido en C orgánico total (C_T) (%) y N total (N_T) (%), y C:N en los sedimentos de los tres tratamientos considerados en el presente estudio: Bahía falsa (BF), Brazo de San Quintín prístinos (BSQP), Brazo de San Quintín impactados (BSQI) y los biodepositos recolectados. El tamaño de partícula fue determinado siguiendo la clasificación de Folk & Ward (1957) . $n = 3$	26
Tabla 4. Concentraciones de NH_4^+ y COD (dado en $\mu mol g^{-1}$ de sedimento seco \pm errores estándar), para los tratamientos antes de iniciar (sedimentos de Bahía Falsa (BF) y sedimentos del brazo de San Quintín (BSQ)), después de finalizar las incubaciones (sedimentos de Bahía Falsa (BF), sedimentos del brazo de San Quintín Prístinos (BSQP) y sedimentos del brazo de San Quintín impactados (BSQI)) en dos profundidades (de 0 a 5 cm y de 5 a 15 cm). Para todos los tratamientos, $n = 3$	27
Tabla 5. Flujos bentónicos promedio (\pm error estándar) de O_2 ($mmol m^{-2} h^{-1}$), COD ($mmol m^{-2} h^{-1}$), NO_2^- ($\mu mol m^{-2} h^{-1}$) y NH_4^+ ($mmol m^{-2} h^{-1}$) para BF, BSQI y BSQP. $n = 27$	31
Tabla 6. Mediciones de flujos de nutrientes en diferentes ecosistemas (núcleos intactos y slurry). Los flujos de nutrientes se encuentran en $mmol m^{-2} h^{-1}$. (-) = sin medida.	40
Tabla 7. Tasas de oxidación y reducción de N en diferentes ecosistemas (núcleos intactos y slurry). Las tasas aquí mostradas (media \pm desviación estándar) se encuentran en $\mu mol N m^{-2} h^{-1}$. (-) = sin medida.	46

1. Resumen

En este trabajo se ha evaluado el efecto de los biodepositos generados por el ostión japonés (*Crassostrea gigas*) sobre los procesos microbianos del ciclo del nitrógeno (N) y los flujos bentónicos de oxígeno y nutrientes en sedimentos de una laguna costera, con el fin de cuantificar el potencial de eliminación o reciclado del N en dichos sedimentos. Para ello se han utilizado núcleos intactos de sedimento recolectados en dos emplazamientos de la Bahía de San Quintín (Baja California): uno situado bajo cultivos de ostión en Bahía Falsa (BF) y otro sin influencia cercana de la actividad ostrícola en el Brazo de San Quintín, el cual fue considerado como un ambiente prístino de referencia. En este último, además, se fijaron dos tratamientos contrastantes: un control (BSQP) y otro adicionando biodepositos (BSQI) de *C. gigas*. Los núcleos fueron incubados por 14 días utilizando un sistema de flujo continuo. Las tasas de desnitrificación (DNF), anammox (ANX) y reducción desasimilatoria de nitrato a amonio (DNRA) se midieron mediante una técnica revisada de emparejamiento isotópico que, además, permitió cuantificar la producción de óxido nitroso (N₂O) a través de la DNF. No se detectaron diferencias significativas en el metabolismo bentónico entre BF y BSQP. Sin embargo, los flujos de O₂ y NH₄⁺ en BSQI sugieren que las comunidades microbianas superficiales responden eficientemente a la disponibilidad de la materia orgánica (MO). La ANX fue la principal ruta (~ 60%) que remueve el N reactivo en la Bahía de San Quintín. Las tasas de DNF en BF oscilaron entre 0.82 y 1.04 μmol N m⁻² h⁻¹ y, aunque en el transcurso de la incubación fueron ligeramente inferiores a las de BSQP (0.92 y 1.26 μmol N m⁻² h⁻¹), no se detectaron diferencias significativas. La contribución de N₂O-DNF fue inferior al 1% del total de N removido, lo que refleja una alta eficiencia de la DNF. Aunque la Bahía de San Quintín se comportó como fuente neta de N₂O (15.03 kg de N₂O año⁻¹), su impacto relativo

de emisión fue muy reducido en comparación con otros ecosistemas costeros. No se encontraron evidencias de que la biodeposición asociada a la ostricultura afecte significativamente a la eliminación de N reactivo, ya que las contribuciones de DNF y ANX no variaron entre tratamientos. Se detectaron mayores tasas de DNRA en BSQP ($0.78 \pm 0.43 \mu\text{mol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) que en BF ($0.54 \pm 0.33 \mu\text{mol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) y BSQI, lo que sugiere que las zonas internas de la bahía reciben MO de naturaleza más refractaria y la comunidad microbiana responsable de la DNRA está adaptada a ello. Mientras que la DNRA contribuyó en promedio cerca del 20% del $^{15}\text{NO}_3^-$ reducido, el acople DNRA-ANX no alcanzó el 0.5% del total de la ANX, lo que demuestra que el NH_4^+ que sustenta la ANX proviene principalmente de la remineralización aerobia de la MO. Nuestros resultados evidencian que la mayor parte de la MO lábil, incluyendo los biodepositos de *C. gigas* que logran asentarse en el sedimento, no alcanza la zona anóxica donde se produce la reducción desasimilatoria del nitrato, sino que son respirados activamente en la interfaz sedimento-agua. Esta barrera física que se genera influiría en la biodisponibilidad de la MO, lo que podría explicar la preponderancia de ANX como ruta preferente para la producción de N_2 en la Bahía de San Quintín.

2. Introducción

El nitrógeno (N) es uno de los elementos químicos más importantes en la naturaleza, debido a que es un componente estructural de biomoléculas esenciales para el desarrollo de la vida, tales como proteínas, ácidos nucleicos, o pigmentos (Zhang et al., 2020). Por lo tanto, su influencia alcanza diversos procesos autotróficos y heterotróficos necesarios para el funcionamiento de los ecosistemas marinos (Elser et al., 2007). Por ejemplo, la baja disponibilidad del N inorgánico fijado en amplias zonas del océano abierto limita la producción primaria (Falkowaki, 1997; Moore et al., 2013). Por el contrario, en las zonas costeras una carga excesiva de nutrientes, puede desencadenar eventos de eutrofización, que dan lugar a la proliferación de algas oportunistas, algunas nocivas para la salud humana (Voss et al., 2013). Consecuencias de estos “*blooms*” masivos son el agotamiento de Oxígeno (O_2) y la acidificación asociada a la degradación de la materia orgánica (MO), la muerte masiva de organismos y a una pérdida generalizada de la biodiversidad en los hábitats afectados (Le Moal et al., 2019). Es por ello que resulta de vital importancia estudiar los procesos que regulan el inventario de N reactivo (i.e., especies/compuestos del N que forman o son productos del metabolismo celular microbiano) en los sistemas costeros.

A través de diferentes transformaciones el N reactivo participa activamente en la química redox de los sedimentos costeros y estuarinos. Debido a que la mayoría de estas reacciones son catalizadas por microorganismos como parte de su requerimiento metabólico, el ciclo del N a menudo se denomina ciclo del N microbiano (Kuypers et al., 2018). Así, en los estratos superiores del sedimento, el amonio (NH_4^+) y el nitrito (NO_2^-) pueden actuar como agentes reductores del O_2 . Este proceso, conocido como nitrificación, mayoritariamente lo llevan a cabo grupos especializados de bacterias y arqueas quimioautótrofas que utilizan esta

transferencia de electrones para fijar carbono (C) inorgánico (Daims et al., 2016; Wright & Lehtovirta-Morley, 2023). Aunque generalmente menos comprendido que el mecanismo autotrófico, también se ha reportado que diversos hongos y bacterias heterótrofas pueden oxidar especies inorgánicas y orgánicas de N a NO_3^- (Marie Booth et al., 2019; Jin et al., 2017).

Cuando se profundiza en el sedimento y se presentan condiciones subóxicas o anóxicas, el NO_3^- tiende a comportarse como aceptor final de electrones durante la diagénesis temprana de la MO. En la desnitrificación (DNF), el NO_3^- se reduce secuencialmente a NO_2^- , óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) y N molecular (N_2) (Devol, 2015). En contraste con la DNF, la reducción desasimilatoria de nitrato a amonio (DNRA) tiene como producto final el NH_4^+ , que es la especie de N reactivo más fácilmente asimilable por los productores primarios (Giblin et al., 2013). Por lo tanto, mientras la DNF es un proceso que remueve N reactivo del sedimento, la DNRA es considerada como una ruta de reciclado que puede repercutir de forma crítica en el estado trófico del ecosistema. Ambos procesos se han identificado en una gran variedad de microorganismos heterótrofos que compiten por el NO_3^- como aceptor de electrones durante la respiración de la MO (Babbin & Ward, 2013; Salk et al., 2017). Sin embargo, algunos reductores de NO_3^- también pueden recurrir a formas reducidas de azufre, hierro y manganeso como donantes de electrones, generándose así rutas quimioautótrofas sustitutivas (Bonaglia et al., 2016; Otte et al., 2019; Li et al., 2022).

La oxidación anaeróbica del NH_4^+ o anammox (ANX) también representa un proceso de producción alternativa de N_2 utilizando NO_2^- como aceptor final de electrones (Risgaard-Petersen et al., 2003). A pesar de ser autótrofas estrictas, las bacterias ANX siguen dependiendo de la actividad heterótrofa para disponer de un sustrato reducido (Francis et al.,

2007). Durante la mineralización de la MO, el N orgánico particulado comienza a descomponerse a formas disueltas mediante la desintegración física, solubilización y ruptura en los enlaces débiles C-C. A continuación, la desaminación de proteínas y nucleótidos en la fracción disuelta del N orgánico (NOD) da como resultado la liberación de aminoácidos, urea y NH_4^+ al medio sedimentario (Burdige & Zheng, 1998), el cual puede ser utilizado por las bacterias ANX.

El ciclo microbiano del N también tiene una influencia directa en el clima global (a escala geológica) a través de la producción de gases que afectan al balance radiativo de la Tierra (Myhre et al., 2013). El N_2O , un subproducto de la nitrificación y DNF microbiana, es un potente gas de efecto invernadero de larga duración (114 años de vida media), con un potencial de calentamiento 300 veces mayor al del CO_2 , y que contribuye hasta en un 10% al forzamiento radiativo global (Prather et al., 2015). Además, el N_2O participa en reacciones fotoquímicas que destruyen el ozono estratosférico, el principal escudo del planeta frente a la radiación ultravioleta procedente del sol (Portmann et al., 2012). Según estimaciones recientes, las emisiones anuales de N_2O relacionadas con actividades antropogénicas (i.e., agricultura intensiva) han aumentado hasta un 40% ($\sim 8 \text{ Tg N año}^{-1}$) desde la revolución industrial del siglo XIX (Thompson et al., 2019). Aunque se ha sugerido que los sedimentos costeros pueden comportarse como fuentes de N_2O (Otte et al., 2019), su contribución real a los flujos globales de N_2O presenta gran incertidumbre. Por lo tanto, es necesario llevar a cabo estudios que permitan dilucidar de forma precisa la magnitud de los flujos de N_2O por parte de los sedimentos costeros, así como el potencial efecto de las actividades antropogénicas que ejercen impacto sobre ellos.

Durante los últimos 20 años ha habido un rápido desarrollo y expansión de la acuicultura debido a que la demanda humana de proteínas ha aumentado significativamente y a que ciertos *stocks* pesqueros se encuentran cerca del colapso por sobreexplotación (FAO, 2022). Entre los diferentes sectores de esta industria, el cultivo de bivalvos destaca por ser una de las formas más sostenibles de acuicultura, ya que su alimentación se sustenta en microalgas y otros detritos orgánicos presentes en el medio de forma natural (Emery et al., 2016). Al tratarse de filtradores eficientes, que además producen importantes cantidades de biodepositos (heces y pseudoheces), los bivalvos pueden modificar sustancialmente el ciclo de los nutrientes (Fig. 1) en los ecosistemas costeros (Erler et al., 2017; Hoellein et al., 2015). Por ello, durante la última década se ha llevado a cabo un gran esfuerzo de investigación para cuantificar posibles cambios en los procesos microbianos bentónicos por la acumulación de biodepositos (Ray & Fulweiler, 2021). En el caso de los ostiones, este tópico presenta un gran interés socio-ambiental, pues se ha planteado a la ostricultura como una nueva herramienta de mitigación de la eutrofización y que podría incluirse dentro de los planes de gestión costera (Rose et al., 2021).

Aunque la disponibilidad de MO puede conducir a mayores tasas de DNF en los hábitats (naturales o acuícolas) dominados por ostiones (Humphries et al., 2016), también se han observado casos donde se observa una caída de la DNF promoviendo en su lugar la DNRA (Lunstrum et al., 2018), o incluso no observarse un efecto apreciable sobre la DNF (Higgins et al., 2013). Además, estas respuestas contrastantes pueden variar sustancialmente espacial y temporalmente. Por lo tanto, si se pretende considerar a la ostricultura como una herramienta de mitigación a la sobrecarga de N (i.e., estrategia de biorremediación de ambientes eutrofizados), se deben comprender mejor los factores ambientales que impulsan

los diferentes procesos del ciclo del N microbiano en estos hábitats. La incapacidad a la hora de predecir qué rutas dominan los hábitats influenciados por la presencia de ostiones se debe, en gran parte, a la dificultad de medir conjuntamente las tasas de los procesos anteriormente mencionados (Ray et al., 2021). Este problema se ve agravado por la variedad de métodos analíticos empleados y las diferentes aproximaciones experimentales realizadas.

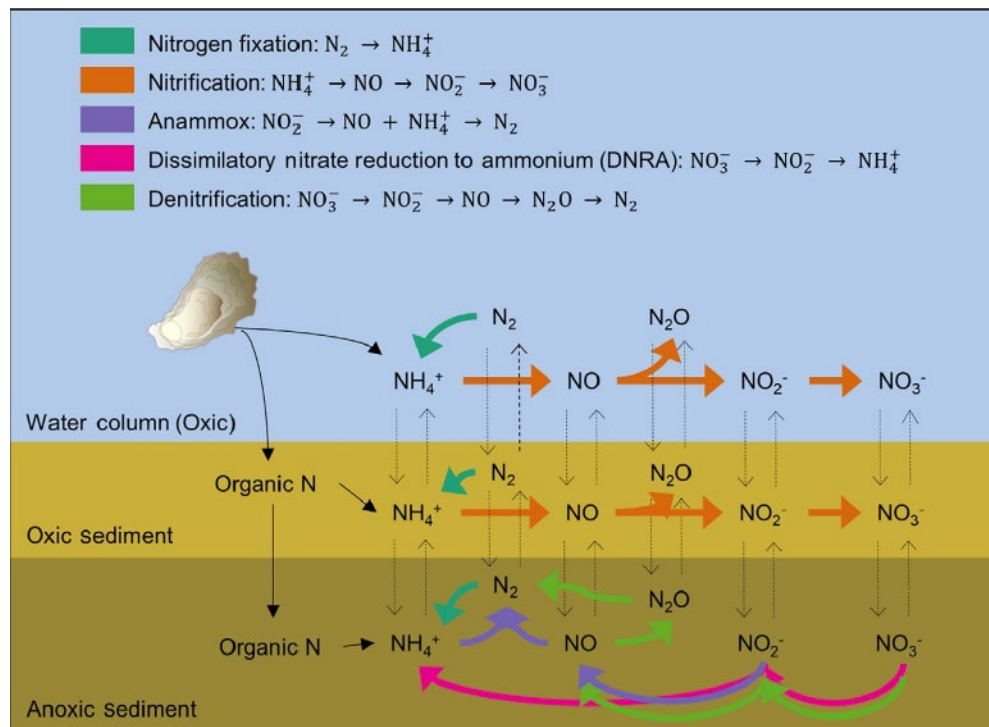


Figura 1. Ciclo del N en hábitats de ostiones (Ray et al., 2021).

Otra preocupación ambiental emergente dentro de los sistemas ostrícolas está asociada con la liberación de N_2O durante los procesos de la nitrificación y DNF. Mientras la agricultura se considera la principal fuente antropogénica de emisión de N_2O (McCarl & Schneider, 2001; Smith et al., 2008), hasta la fecha los flujos de N_2O en la acuicultura no han sido suficientemente investigados (Zhou et al., 2021). Williams & Crutzen (2010) estimaron tentativamente la emisión global anual de N_2O en el conjunto de la actividad acuícola,

entorno a las 9×10^4 t, lo que representa el 0.51 % de las emisiones globales de N_2O . Por su parte, [Ray et al. \(2019\)](#) y [Erler et al. \(2017\)](#) también reportaron que la emisión de gases de efecto invernadero, entre ellos N_2O , por parte de la ostricultura era considerablemente menor respecto a otras actividades antropogénicas, tales como la agricultura o la ganadería. Sin embargo, en base a las proyecciones de crecimiento de la actividad ostrícola para las próximas décadas, parece necesario que se realicen mediciones en diferentes ambientes y con diferentes especies comerciales.

Las lagunas costeras son sistemas de transición entre el océano y el continente, que brindan gran variedad de servicios ecosistémicos, entre los cuales se encuentra la actividad ostrícola ([Hillman et al., 2020](#)). Cuantificar las tasas de las rutas de retención y eliminación de N reactivo en estos entornos resulta fundamental para estimar la capacidad de carga del ecosistema. La técnica de emparejamiento de isótopos estables (IPT) de ^{15}N ha sido uno de los métodos más utilizados para evaluar los procesos desasimilatorios de reducción de NO_3^- bentónico desde su implementación hace más de 30 años ([Nielsen, 1992](#)). El IPT ha pasado por varias iteraciones desde su primera aplicación debido al descubrimiento de nuevos procesos ([Risgaard-Petersen et al., 2003](#); [Song et al., 2013, 2016](#); [Trimmer et al., 2006](#)). La última revisión de la IPT realizada por [Salk et al. \(2017\)](#) (R-IPT-DNRA), enriquece los procedimientos anteriores al contabilizar la producción de N_2O y distinguir el ANX canónico del ANX acoplado a DNRA (Fig. 2). Los autores también señalan que la R-IPT-DNRA está especialmente diseñado para ambientes donde coexistan las principales rutas de reducción de NO_3^- (i.e., DNF, ANX y DNRA) y que el modelo mejora sensiblemente la aplicación clásica de la IPT en entornos que reciben aportes de MO rica en C (i.e., C:N altos) y de naturaleza relativamente refractaria, como los sistemas costeros dominados por pastos marinos.

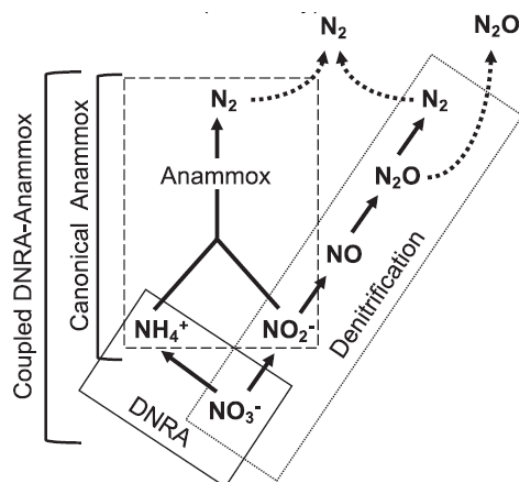


Figura 2. Modelo R IPT-DNRA, el cual adiciona la habilidad de cuantificar la producción de N_2O vía DNF y la producción de NH_4^+ vía DNRA de la R-ITP mientras simultáneamente se distingue el ANX canónico y el acoplamiento entre DNRA-ANX. Tomado de (Salk et al., 2017).

La IPT se ha implementado tanto en incubaciones con lodos (*slurries*) como en núcleos intactos de sedimento. Las incubaciones con lodos brindan tasas potenciales de los procesos de reducción de NO_3^- y pueden proporcionar información relevante sobre los factores ambientales que controlan dichas rutas (An & Gardner, 2002; Lunstrum et al., 2018; Nielsen, 1992). Sin embargo, no se pueden extrapolar de forma fiable para reflejar las tasas *in situ*, debido a que la preparación del *slurry* conlleva una disrupción de la zonación geoquímica del sedimento (Robertson et al., 2019). Por su parte, la IPT en núcleos intactos sellados debe aplicarse en incubaciones por lotes de corta duración (series temporales de pocas horas), dado que el consumo de O_2 dentro de los núcleos produce importantes alteraciones en los procesos biogeoquímicos (Dalsgaard et al., 2000). Sin embargo, los experimentos con la IPT en núcleos intactos también pueden realizarse en cámaras de flujo continuo, las cuales presentan una serie de ventajas a la hora de estudiar el acople pelágico-bentónico. Esta configuración mantiene cuasi-estables las condiciones iniciales de la incubación, permite muestrear la

misma área durante periodos de tiempo (relativamente) prolongados, evitar artefactos asociados con la reducción de O_2 dentro de los núcleos e incrementar el rigor de las mediciones (Robertson et al., 2019; Steingruber et al., 2001). Además, la naturaleza modular del sistema de flujo continuo (Fig. 3) facilita las manipulaciones experimentales para el estudio de las relaciones causa-efecto (Miller-Way & Willey, 1996).

En este estudio se aplicó por primera vez el enfoque revisado de la IPT-DNRA (Salk et al., 2017) en núcleos intactos de sedimentos costeros, dispuestos en un sistema de flujo continuo, con el fin de cuantificar las tasas de los procesos desasimilatorios de NO_3^- . Los sedimentos fueron recolectados en una laguna costera del Noroeste de Baja California (Bahía de San Quintín), donde la ostricultura (*Crassostrea gigas*), tiene lugar. Por ello se plantea investigar el efecto de los biodepositos generados por la actividad ostrícola en los procesos del ciclo del N microbiano.

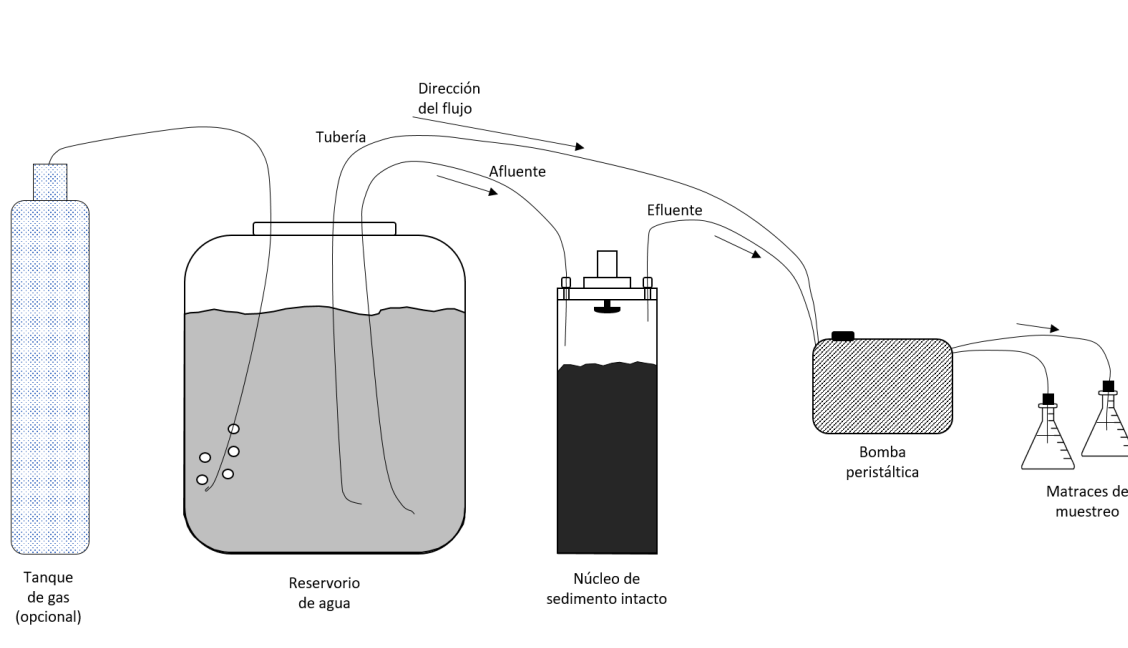


Figura 3. Esquema adaptado de Miller-Way & Willey (1996) sobre los componentes de un microcosmos conectado a un sistema de flujo para un núcleo individual de sedimento.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Investigar los efectos de los biodepósitos ostrícolas en los procesos microbianos de reducción desasimilatoria de NO_3^- en sedimentos de una laguna costera.

3.1.1. Objetivos específicos:

- Dilucidar si la producción y acumulación de biodepósitos por *C. gigas* altera la contribución relativa de las diferentes rutas microbianas que reducen nitrato.
- Examinar si los sedimentos de Bahía de San Quintín se comportan como fuente de N_2O y si la presencia de la ostricultura tiene algún tipo de incidencia en la magnitud de dichos flujos.
- Determinar en qué medida la presencia de los biodepósitos estimula el metabolismo béntico en general, y la regeneración de nutrientes en particular.

3.2. Preguntas de investigación

- ¿Cuál es el efecto de los biodepósitos de *C. gigas* en los procesos del ciclo del N microbiano en los sedimentos de Bahía de San Quintín?
- ¿Cuál es el impacto en los flujos de N_2O asociados a la DNF en los sedimentos de Bahía de San Quintín expuestos a la descarga, tanto continua como puntual, de biodepósitos producidos *C. gigas*?
- ¿La MO generada por la ostricultura puede alterar los flujos bentónicos de nutrientes en Bahía de San Quintín?

4. Hipótesis

Los procesos microbianos del ciclo del N en los sedimentos de Bahía de San Quintín son alterados por la presencia de cultivos de ostiones (*Crassostrea gigas*) a través de la biodeposición de MO.

5. Materiales y métodos

5.1. Descripción de la zona de estudio

La Bahía de San Quintín (Fig. 4) es una laguna costera poco profunda (~ 2 m de profundidad media) con forma de Y, ubicada en la costa noroeste de la península de Baja California, México (30°25' N, 115°59' W). El sistema se extiende sobre un área de aproximadamente 42 km², con un brazo oriental, conocido como Brazo de San Quintín (BSQ), y un brazo occidental denominado como Bahía Falsa (BF). La región presenta un clima de tipo mediterráneo con predominio de condiciones semiáridas durante todo el año (Caso et al., 2007). La intensa evaporación (~1400 mm año⁻¹), los aportes esporádicos de agua dulce, y el constante intercambio con el Océano Pacífico, dan como resultado una inversión general del gradiente de salinidad (34 - 38) en la laguna (Camacho-Ibar et al., 2003; Melaku Canu et al., 2016).

El principal forzamiento externo de los procesos biogeoquímicos en el interior de la Bahía de San Quintín es oceánico. La masa de agua adyacente a la laguna se encuentra influenciada por el sistema de surgencias de la corriente de California (Largier, 2019). Los afloramientos presentan mayor intensidad y frecuencia entre febrero y julio; sin embargo, las condiciones que promueven los eventos de surgencia frente a la costa de Baja California pueden presentarse durante todo el año (Jacox et al., 2018). Durante las surgencias se transporta al interior de la laguna concentraciones relativamente altas de nutrientes inorgánicos (Aveytua-Alcazar et al., 2020). Esto sustenta una alta productividad y biomasa en las praderas de pastos marinos (*Zostera marina*), las cuales ocupan alrededor del 45% del área total de la laguna, y en las macroalgas oportunistas como *Ulva* spp (Sandoval-Gil et al., 2019; Ward et al., 2003; Zertuche-González et al., 2009). La combinación de corrientes de marea y surgencias

también promueve importación de C fitoplanctónico generado en el océano adyacente durante el afloramiento y, en menor medida, la producción de C fitoplanctónico *in-situ* (Gracia-Escobar et al., 2014, 2015). Estos aportes de MO lábil estimulan la heterotrofia en el ecosistema cuando las condiciones de *upwelling* se relajan o cesan (Ribas-Ribas et al., 2011). Además, el reciclado de la MO en los sedimentos y los flujos de nutrientes asociados parecen desempeñar un papel clave en el sostenimiento de la productividad de la columna de agua dentro de la bahía (Ávila-López et al., 2017).

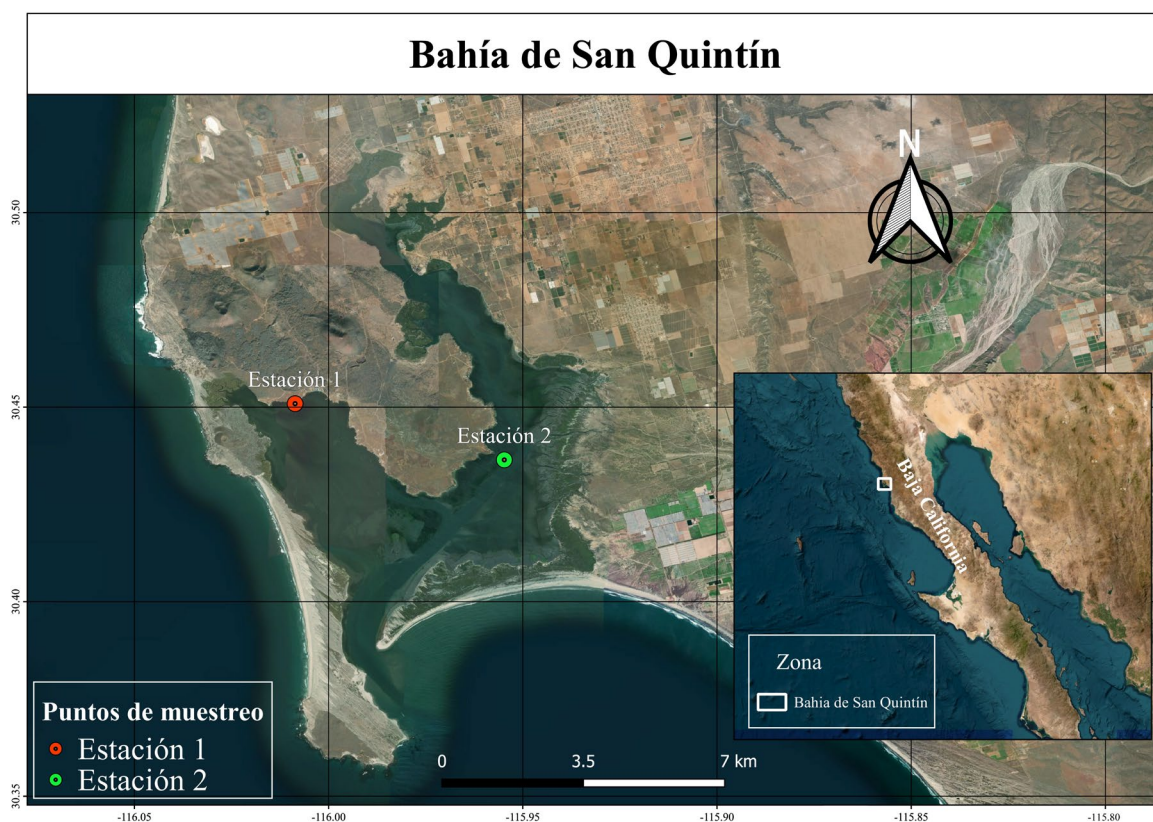


Figura 4. Mapa de la Bahía de San Quintín donde se muestran las estaciones 1 y 2, las cuales están situadas en Bahía Falsa (BF) y el Brazo de San Quintín (BSQ), respectivamente.

Los sedimentos de Bahía de San Quintín están compuestos principalmente por limos arenosos y presentan contenidos de C orgánico relativamente bajos (0.07 – 2.1 %) (Daesslé

et al., 2009). Resultados sobre valores isotópicos del sedimento ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{34}\text{S}$) han señalado patrones espaciales respecto al metabolismo lagunar (i.e., equilibrio entre DNF y fijación), en el procesamiento de macronutrientes y en la profundización de las zonas subóxicas-anóxicas (Watson et al., 2020).

El ostión japonés (*C. gigas*) es una especie comercial de creciente importancia socio-económica en México (Chávez-Villalba, 2014). En el año 2019, el cultivo de ostión se posicionó en décimo lugar en lo que respecta la producción acuícola a nivel nacional. Baja California representa un 6% de la producción de ostión en el país con alrededor de 1,755 toneladas anuales (CONAPESCA, 2019). Las zonas de producción de ostión en Baja California comprenden El Rincón de las Ballenas, Laguna Manuela y Bahía de San Quintín. *C. gigas* fue introducido en San Quintín en 1972 a través de plantas piloto financiadas por el área de acuicultura de la Secretaría de Recursos Hidráulicos. A escala comercial, en la década de los 80's se constituyó la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Bahía, lográndose implementar de forma progresiva diferentes estructuras de cultivo, siendo las principales: el sistema de cultivo francés, el sistema de cultivo *Long Line*, el sistema flotante de flujo ascendente y, más recientemente, las canastas australianas. Sin embargo, el procedimiento de cultivo más extendido entre los productores de San Quintín fue el sistema por sartas. En este, los ostiones se cultivan en racks de plástico o de madera, de 1.2 m de ancho por 6 m de largo aproximadamente, con 5 tramos de tubería equiespaciados, que se encuentran fijados al fondo en áreas intermareales y submareales poco profundas. En esta área de 7.2 m² es sobre la que se suspenden por lo general 110 paquetes o sartas de ostiones (Tapia Vázquez et al., 2013).

Más allá de la ostricultura, la influencia humana en la laguna es escasa, ya que no se localizan otras actividades económicas importantes y los asentamientos urbanos están relativamente alejados de la misma. Además de ser unos de los polos ostrícolas más relevantes de la región, la Bahía de San Quintín se integra en la red de Humedales Costeros de Baja California con importancia biológica internacional ([Secretaría de la Convención de Ramsar, 2013](#)) y ha sido considerada como Región Prioritaria para la conservación por la CONABIO, pues la laguna alberga importantes poblaciones reproductoras de aves amenazadas, tales como el rascón picudo californiano (*Rallus obsoletus*), la polluela negra (*Laterallus jamaicensis*), el charrán mínimo (*Sternula antillarum*), el gorrión sabanero (*Passerculus sandwichensis beldingi*), la perlita bajacaliforniana norteña (*Polioptila californica atwoodi*) y el chorlo nevado occidental (*Charadrius nivosus*) ([Massey & Palacios, 1994](#)).

5.2. Recolección de muestras

Los núcleos se recolectaron en octubre de 2022. Se seleccionaron dos sitios de muestreo en función de su exposición a la actividad ostrícola. Con ayuda de equipos autónomos de buceo en cada punto se extrajeron a ~1.5 m de profundidad núcleos intactos de sedimento utilizando nucleadores de policarbonato (10 cm de diámetro y 30 cm de altura). Se tomaron 3 núcleos en BF (Estación 1) y 6 núcleos en BSQ (Estación 2) para un total de 9 núcleos (Fig. 4). La extracción de los sedimentos se realizó debajo de racks de ostión en sartas en la Estación 1, mientras que la Estación 2 se consideró como un ambiente prístino con influencia de pastos marinos. Adicionalmente, se recolectaron 3 núcleos (5 cm de diámetro por 20 cm de altura) en cada estación para la caracterización geoquímica del sedimento (ver sección 1.3). Los núcleos se transportaron (4 h de lapso) hasta el laboratorio en condiciones refrigeradas.

El diseño experimental de este estudio tuvo como finalidad evaluar el impacto de los biodepósitos generados por la ostricultura sobre los procesos microbianos que controlan el ciclo del N en el sedimento. Para ello se presenta dos estudios diferenciados, cada uno de ellos unifactorial con dos niveles. Es decir, los resultados se analizarán específicamente en función de la presencia de la actividad ostrícola (BF vs BSQP) y en función de la adición de biodepósitos (BSQP vs BSQI). Cada nivel o tratamiento experimental se realizó por triplicado ($n = 3$), como se muestra en la Tabla 1. El tratamiento 1 (BF) corresponde a los sedimentos impactados por cultivos de ostión en BF. El tratamiento 2 (BSQP), que corresponde a los sedimentos prístinos del BSQ, el cual fue establecido como control para este experimento. El tratamiento 3 (BSQI) corresponde a los sedimentos prístinos del BSQ, a los cuales se les añadió 0.6 g (en peso seco) de biodepósitos de ostión liofilizados. La recolección de los biodepósitos, para realizar la fertilización de los tratamientos se realizó en el laboratorio de cultivo de ostiones de la UABC (INCAPESM).

Tabla 1. Tratamientos a emplear durante la incubación de los núcleos de sedimento.

Tratamientos	Detalle	Isótopos
T 1 (BF)	100 μM de $^{15}\text{NO}_3^-$ en núcleos de sedimentos de BF.	Gases: $^{29}\text{N}_2$, $^{30}\text{N}_2$, $^{45}\text{N}_2\text{O}$ y $^{46}\text{N}_2\text{O}$.
T 2 (BSQP)	100 μM de $^{15}\text{NO}_3^-$ en núcleos de sedimentos del brazo de BSQ.	
T 3 (BSQI)	100 μM de $^{15}\text{NO}_3^-$ más 0.6 gramos de biodepósitos secos de ostión en núcleos de sedimentos del brazo de BSQ.	Compuestos disueltos: $^{15}\text{NO}_3^-$, $^{15}\text{NH}_4^+$.

5.3. Incubación de los núcleos mediante un sistema de flujo continuo

El experimento se llevó a cabo, en el laboratorio de Microalgas, en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la UABC. Los núcleos se dispusieron en cámaras de incubación individuales bajo condiciones de oscuridad y temperatura controlada (~ 20 °C). Se utilizó un sistema de flujo continuo (Fig. 5) para determinar, en condiciones de estado cuasi-estacionario, los flujos de nutrientes (NH_4^+ , NO_2^- y COD) y O_2 en el interfaz sedimento-agua y los procesos de reducción desasimilatoria de NO_3^- (Miller-Way & Willey, 1996). Cada cámara de incubación se conectó a un reservorio de agua de mar mediante una manguera de entrada (afluente) y una de salida (efluente), por donde fluía agua de mar pretratada con radiación UV y filtrada (Fig. 6). El reservorio se mantuvo con aireación constante durante todo el experimento. Cada cámara tenía un mecanismo de agitación por rotación (60 rpm) que homogeneizaba el agua suprayacente (~ 0.708 L).

Los núcleos se pre-incubaron durante 48 h hasta alcanzar condiciones de equilibrio, lo cual se dictaminó a partir de las concentraciones de O_2 disuelto, en muestras recolectadas del reservorio y los efluentes. La medición de O_2 se realizó, con un sensor de inmersión conectado a sonda de medición PreSens (Oxygen Dipping Probe, PreSens, Alemania, límite de detección 15ppb, 0 - 100% O_2). Las muestras de agua se tomaron directamente de los reservorios y de la salida de cada núcleo, e inmediatamente se realizó la lectura con el equipo. Se emplearon bombas peristálticas multicanal (BT100M, Baoding Chuangrui Precision Pump CO. Ltd, China) para generar un caudal mínimo (~ 5.6 ml min^{-1} y tiempo de residencia ~ 2.11 h) que mantuviese la saturación de $[\text{O}_2] > 80\%$. Una vez alcanzado el estado de equilibrio, se agregaron biodepositos de ostión (0.6 g en peso seco) en los núcleos del tratamiento BSQI, los cuales se homogeneizaron con la capa más superficial del sedimento

(menos de 1 cm). La adición de 0.6 g de biodepositos representa un contenido de 67 g m^{-2} , lo que equivale a una producción estimada de entre 2 y 6 días para *C. gigas* en BF ($12\text{-}31 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, Samperio-Ramos et al. *En revisión*). A continuación, se inició el tratamiento isotópico añadiendo $^{15}\text{NO}_3^-$ ($\geq 98 \text{ atom } \% ^{15}\text{N}$; Sigma-Aldrich) en el reservorio, con una concentración final de $100 \mu\text{M}$.

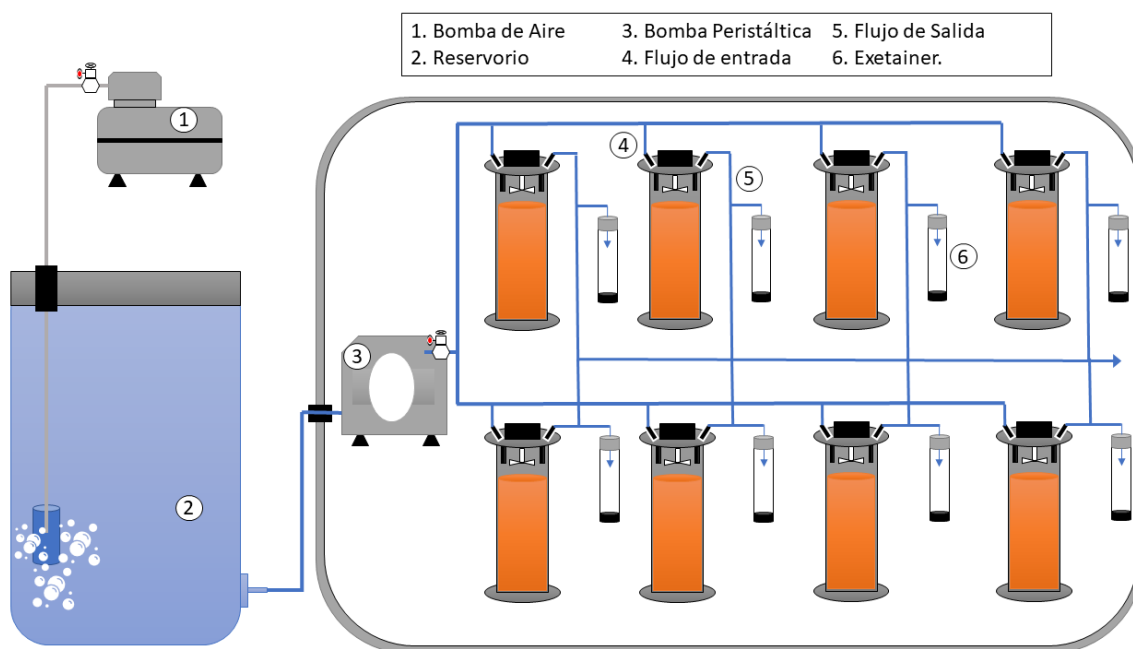


Figura 5. Esquema experimental de un sistema de flujo continuo (microcosmo).

A las 6 h de agregar el $^{15}\text{NO}_3^-$ al reservorio se recolectaron muestras de agua del afluente y del efluente, como muestreo inicial (0). Teniendo en cuenta el caudal constante de 5.6 mL min^{-1} , en este momento en cada microcosmos se alcanzó más del 90% de la concentración de $^{15}\text{NO}_3^-$ ($100 \mu\text{M}$) requerida para la experimentación (ver anexo 1). El diseño temporal del muestreo incluyó la recolecta a las 6 h, 12 h, 48 h, 36 h, 120 h, 168 h, 216 h y 288 h. Las muestras de agua se filtraron inmediatamente a través de filtros GF/F de 25 mm (retención

de partículas de 0,7 μm) precalcinados y se almacenaron congeladas hasta su análisis (ver sección 5.4).

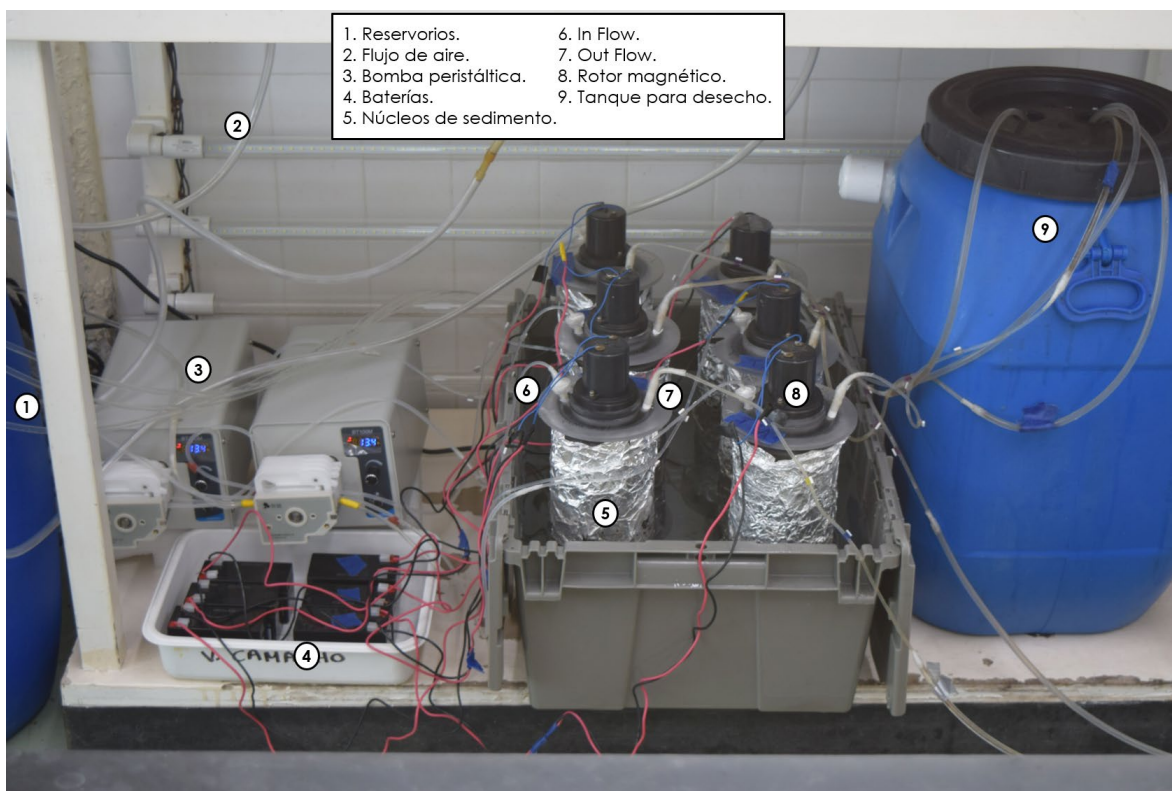


Figura 6. Montaje del sistema de flujo continuo.

Para las muestras de gases se tomaron 12 ml de agua en viales *gas-tight* (Exetainers, Labco, Reino Unido) del reservorio y los efluentes de cada núcleo. La recolección de las muestras de agua se llevó a cabo permitiendo el desbordamiento de la misma en el vial para evitar dejar espacio en la cabeza. Para el análisis de la composición isotópica de las muestras ($^{29}\text{N}_2$, $^{30}\text{N}_2$, $^{45}\text{N}_2\text{O}$, $^{46}\text{N}_2\text{O}$ y $^{15}\text{NH}_4^+$) los viales se empacaron y enviaron a la Instalación de Isótopos Estables de la Universidad de California, Davis (EUA) (ver sección 5.4). Para la medición de $^{15}\text{NH}_4^+$ se utilizó la técnica explicada por Yin et al. (2014), añadiendo hipobromito de yodo (200 μL) para oxidar el $^{15}\text{NH}_4^+$ a $^{29}\text{N}_2$ y/o $^{30}\text{N}_2$. Posteriormente, la concentración de

estos gases en el espacio en cabeza de cada vial fue analizada con un GC-IRMS en el laboratorio de UC Davis (California, EUA).

5.4. Análisis en las muestras de agua

Las relaciones de isótopos estables de N (^{15}N) se midieron utilizando un sistema de concentración de gas ThermoScientific GasBench + Precon interconectado con un espectrómetro de masas de relaciones de isótopos ThermoScientific Delta V Plus. Los viales se purgaron con un muestreador de doble aguja en una corriente portadora de helio. Luego, se aislaron el N_2 y N_2O y se concentraron para el análisis isotópico. Los materiales de referencia fueron mezclas de N_2 y N_2O (3 % de N_2 + 1 ppm de N_2O con el resto de He o 1 ppm de N_2O con el resto de N_2). El N_2 estuvo calibrado con respecto a un estándar Oztech N_2 (Oztech Trading Co., $\delta^{15}\text{N}$ vs aire = -0.61 ‰). La calibración del N_2O es problemática ya que no existen estándares internacionales homologados. Por lo tanto, se calibra el ^{15}N descomponiendo térmicamente N_2O en un tubo de oro calentado (800 °C) para convertir N_2O en $\text{N}_2 + \text{O}_2$. El N_2 resultante se calibró frente al estándar Oztech N_2 , como se mencionó anteriormente. Los límites de cuantificación fueron 150 nanomoles y 150 picomoles para N_2 y N_2O respectivamente.

Las concentraciones de NO_2^- de los filtrados se determinaron con un analizador de flujo segmentado (SEAL 3HR, SEAL Analytical, Alemania), siguiendo el protocolo del Manual de Hidrografía GO-SHIP, (Hydes et al., 2010). Las concentraciones de NH_4^+ se cuantificaron a partir del uso de espectrofotometría UV-VIS usando el método indofenol optimizado. Para ello a 25 mL de muestra se le agregan secuencialmente, 4 mL de citrato, 1 mL de solución o-fenilfenol, 1 mL de solución dicloroisocianurato de sodio alcalino y 1 mL de solución nitroprusiato de sodio alcalino. La mezcla se homogeniza, se deja reposar por 20 minutos en

oscuridad. Y finalmente se mide la absorbancia a 700 nm (Ma et al., 2018). El C orgánico disuelto (COD) se determinó mediante un analizador de C orgánico total (TOC-LCSH, Shimadzu, Japón), que adopta el método de oxidación catalítica de combustión a 680° C. La exactitud y la precisión de los análisis se evaluó utilizando material de referencia certificado proporcionado por Kanso Technos Company (Japón) y el laboratorio del Dr. Hansell de la Universidad de Miami (EUA). Para COD el límite de detección y coeficiente de variación fue de 1.3 µM y del 1.69%, para NO₂⁻ fue de 0.09 µM y 1.6% y para NH₄⁺ fue de 0.47 µM y 11.38%, respectivamente.

Al finalizar las incubaciones, se sacrificaron los núcleos de sedimentos y se tomaron muestras de sedimentos de 0 a 5 cm y de 5 a 15 cm de profundidad para determinar los contenidos de DOC, NO₂⁻ y NH₄⁺. Así como también muestras de sedimentos específicas para análisis moleculares que no serán discutidas en esta tesis.

5.5. Características geoquímicas del sedimento

El porcentaje de humedad de los sedimentos y la porosidad (Φ), se determinó por diferencia de peso en muestras que fueron liofilizadas. La granulometría se determinó mediante la clasificación de Folk & Ward (1957) utilizando un analizador de tamaño de partícula HORIBA LA-910 Particle Size (HORIBA, Japón). La permeabilidad (m^2 , k) se calculó proporcionalmente al cuadrado del diámetro (mediana, d_m) del grano (Kamann et al., 2007):

$$k = \frac{d_m^2}{180} \frac{\Phi^3}{(1-\Phi)^2} \quad \text{Ec. 1}$$

Los nutrientes inorgánicos (i.e., NO₂⁻, NH₄⁺) y la MO disuelta (i.e., COD) presentes en el sedimento se extrajeron con una solución de 2M de KCl en una proporción 1:5 masa:volumen) durante una hora (Jones & Willett, 2006). El sobrenadante se centrifugó a

8000 rpm por 5 minutos. Los sobrenadantes se filtraron usando filtros Whatman GF/F precalcinados (450° C, 4 h). Para cada variable se siguieron los procedimientos analíticos mencionados anteriormente para las muestras de agua de mar.

El contenido total de C (orgánico) y N, de las muestras liofilizadas de sedimento, biodepósitos y sedimentos enriquecidos con biodepósitos, se midieron utilizando un analizador elemental Elementar Vario EL Cube o Micro Cube (Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, Alemania) conectado a un Isoprime VisION IRMS (Elementar UK Ltd, Cheadle, Reino Unido) en el laboratorio UC Davis, California. Para el contenido en C orgánico, las muestras fueron pretratadas con HCl (fumigación), con el fin de eliminar los carbonatos presentes (Harris et al., 2001).

5.6 Cálculo de los flujos bentónicos

Los flujos bentónicos (J) de O_2 , NO_2^- , NH_4^+ , y COD se determinaron mediante la siguiente ecuación (Li & Twilley, 2021).

$$J = (C_e - C_r) \cdot f \cdot A^{-1} \quad \text{Ec. 2}$$

donde, C_e y C_r son las concentraciones ($\mu\text{mol L}$) de cada analito en los efluentes de cada incubador y el reservorio, respectivamente, f es la tasa de renovación de la columna de agua impuesto en el sistema de flujo continuo (0.312 L h^{-1}) y A es el área superficial del sedimento ($7.088 \times 10^{-3} \text{ m}^2$).

5.7. Aplicación de la técnica revisada de emparejamiento isotópico (R IPT-DNRA en sus siglas en inglés)

Los cálculos de las tasas de DNF, N_2O -DNF y ANX, se realizaron a partir de la metodología de R IPT-DNRA, cuyas ecuaciones y parámetros se muestran en la Tabla 2 (Salk et al., 2017).

Tabla 2. Parámetros y ecuaciones usados en R IPT-DNRA (Salk et al., 2017).

Parámetro	Detalle	R IPT-DNRA
P ₂₉	Producción de ²⁹ N ₂ (medida directamente)	
P ₃₀	Producción de ³⁰ N ₂ (medida directamente)	
P ₄₅	Producción de ⁴⁵ N ₂ O (medida directamente)	
P ₄₆	Producción de ⁴⁶ N ₂ O (medida directamente)	
r ₁₄	Relación ¹⁴ N/ ¹⁵ N en NO ₃ ⁻	
r _{14a}	Relación ¹⁴ N/ ¹⁵ N en NH ₄ ⁺	
D ₂₈	Producción de ²⁸ N ₂ vía DNF	$r_{14}^2 \times (P_{30} - A_{30})$
D ₂₉	Producción de ²⁹ N ₂ vía DNF	$2r_{14} \times (P_{30} - A_{30})$
D ₃₀	Producción de ³⁰ N ₂ vía DNF	$P_{30} - A_{30}$
A ₂₈	Producción de ²⁸ N ₂ vía ANX	$\frac{r_{14} \times A_{29}}{r_{14}/r_{14a} + 1}$
A ₂₉	Producción de ²⁹ N ₂ vía ANX	$P_{29} - D_{29}$
A _{29-DNRA}	Producción de ²⁹ N ₂ vía acople DNRA-ANX	$\frac{A_{29}}{1 + r_{14a}/r_{14}}$
A _{29-ana}	Producción de ²⁹ N ₂ vía ANX canónico	$A_{29} - A_{29-DNRA}$
A ₃₀	Producción de ³⁰ N ₂ vía ANX	$\frac{P_{29} - 2P_{30} \times r_{14}}{r_{14a} - r_{14}}$
D ₁₄	Producción genuina de N ₂ vía DNF	$2D_{28} + D_{29}$
A ₁₄	Producción genuina de N ₂ vía ANX	$2A_{28} + A_{29-DNRA}$
A _{14-DNRA}	Producción genuina de N ₂ vía acople DNRA-ANX	$A_{29-DNRA} + 2A_{28} \times (A_{29-DNRA}/A_{29})$
A _{14=ana}	Producción genuina de N ₂ vía ANX canónico	$2A_{28} \times (A_{29-ana}/A_{29})$
D _{14-N2O}	Producción genuina de N ₂ O vía DNF	$r_{14} \times (2P_{46} + P_{45})$
P ₁₄	Producción total genuina de N ₂ + N ₂ O	$D_{14} + A_{14} + D_{14-N2O}$

Las tasas de DNRA, se calcularon a partir de la siguiente ecuación:

$$DNRA = r_{14} \times (P_{15NH4+} + A_{30}) \quad \text{Ec. 3}$$

donde $P_{15NH_4^+}$ representa la producción de $^{15}NH_4^+$ tras el periodo de incubación y A_{30} representa la producción de N_2 vía ANX (Salk et al., 2017). El cálculo de la relación r_{14a} , la cual representa la relación entre $^{14}N/^{15}N$ en NO_3^- , se realizó asumiendo la aproximación mostrada por Trimmer et al. (2006) a partir de las especies $^{45}N_2O$ y $^{46}N_2O$:

$$r_{14a} = \frac{p^{45}N_2O}{2 \times p^{46}N_2O} \quad \text{Ec. 4}$$

5.8. Análisis estadísticos

Para el análisis y comparación de las variables entre tratamientos (BF vs BSQP y BSQP vs BSQI), se aplicaron pruebas estadísticas de tipo paramétrico (*t-Student*) y no paramétrico (Wilcoxon-Wilcoxon). Los datos fueron tratados para extraer *outlayers*. Los supuestos de normalidad y homocedasticidad se verificaron mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y pruebas de Bartlett, respectivamente. Cuando fue necesario, los datos se transformaron con Box-Cox. Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de significación de 0.05 utilizando R Studio acoplado a R versión 4.2.2v2021 (R Development Core Team).

6. Resultados

6.1. Características geoquímicas del sedimento y el agua de mar

La concentración de NO_3^- , NO_2^- y PO_4^{3-} en las muestras de agua de mar con la que se realizó las incubaciones fueron $5.05 \pm 0.08 \mu\text{M}$ de NO_3^- , $0.19 \pm 0.15 \mu\text{M}$ de NO_2^- y $0.14 \pm 0.04 \mu\text{M}$ de PO_4 . Los sedimentos de ambas estaciones del estudio se clasificaron como limos gruesos o arenosos, coincidiendo con la textura encontrada en San Quintín por [Daesslé et al. \(2009\)](#). Sin embargo, BF presentó un sedimento significativamente ($p < 0.05$) más poroso que BSQP (Tabla 3). Con una permeabilidad de $1.31 \times 10^{-11} \text{ m}^2$, los procesos de transporte molecular entre la columna de agua y el sedimento en el horizonte superficial de BF son dominados por el transporte advectivo. Por su parte, en BSQ el flujo difusivo molecular contribuye de forma más significativa en el transporte en la interfase sedimento-agua ($k = 6.48 \times 10^{-12} \text{ m}^2$).

El CT, NT y el C:N mostraron valores similares entre los sedimentos de BF y BSQP. El CT y el NT de los biodepositos recolectados fue de $48.62 \pm 3.20\%$ y $7.95 \pm 1.00\%$, respectivamente, y su adición supuso un incremento del 9% en CT y 20% en NT en el tratamiento BSQI (Tabla 3).

Tabla 3. Valores iniciales promedio (\pm errores estándar) de porosidad, humedad (%), permeabilidad (m^2), contenido en C orgánico total (C_T) (%) y N total (N_T) (%), y C:N (mol C:mol N) en los sedimentos de los tres tratamientos considerados en el presente estudio: Bahía falsa (BF), Brazo de San Quintín prístinos (BSQP), Brazo de San Quintín impactados (BSQI) y los biodepositos recolectados. El tamaño de partícula fue determinado siguiendo la clasificación de [Folk & Ward \(1957\)](#). $n = 3$.

	<i>BF</i>	<i>BSQP</i>	<i>BSQI</i>	<i>Biodepositos</i>
<i>Tipo</i>	Limo Grueso	Limo Grueso	Limo Grueso	-
<i>Porosidad</i>	0.57 ± 0.03	0.47 ± 0.03	0.47 ± 0.03	-
<i>Humedad</i>	56.63 ± 2.69	47.43 ± 3.09	47.43 ± 3.09	-

<i>Permeabilidad</i>	1.31 x 10 ⁻¹¹	6.48 x 10 ⁻¹²	6.48 x 10 ⁻¹²	-
<i>C_T</i>	1.01 ± 0.07	0.99 ± 0.11	1.07 ± 0.00	48.62 ± 3.20
<i>N_T</i>	0.13 ± 0.00	0.10 ± 0.01	0.12 ± 0.00	8.40 ± 1.00
<i>C:N</i>	9.05 ± 0.43	10.20 ± 0.30	10.67 ± 0.00	6.80 ± 0.77

La concentración inicial de NH₄⁺ entre 0-5 cm y entre 5-15 cm fue de 0.59 (± 0.17) μmol g⁻¹ y 0.62 (± 0.34) μmol g⁻¹ en BF, de 0.44 (± 0.19) μmol g⁻¹ y 0.46 (± 0.22) μmol g⁻¹ en BSQP. Al finalizar el periodo de incubación, la concentración de NH₄⁺ en BF aumentó a 2.19 (± 1.55) μmol g⁻¹ en el horizonte más superficial y a 2.57 (± 0.92) μmol g⁻¹ entre 5-15 cm. Mientras en BSQP y BSQI la concentración de NH₄⁺ entre 0-5 cm fue de 0.54 (± 0.13) μmol g⁻¹ y 0.57 (± 0.32), la sección más profunda (5-15 cm) fue de 0.59 (± 0.14) μmol g⁻¹ y 0.89 (± 1.55) μmol g⁻¹, respectivamente. El NH₄⁺ en sedimentos mostró una clara tendencia a acumularse, probablemente como respuesta a procesos de respiración de la materia orgánica (i.e. amonificación) y del NO₃⁻ agregado. No se encontraron diferencias significativas entre tratamiento en el primer horizonte, pero si en el segundo horizonte ($p < 0.001$), entre los sedimentos de BF con respecto a BSQI y BSQP, pero no entre BSQP y BSQI.

Tabla 4. Concentraciones de NH₄⁺ y COD (dado en μmol g⁻¹ de sedimento seco ± errores estándar), para los tratamientos antes de iniciar (sedimentos de Bahía Falsa (BF) y sedimentos del brazo de San Quintín (BSQ)), después de finalizar las incubaciones (sedimentos de Bahía Falsa (BF), sedimentos del brazo de San Quintín Prístinos (BSQP) y sedimentos del brazo de San Quintín impactados (BSQI)) en dos profundidades (de 0 a 5 cm y de 5 a 15 cm). Para todos los tratamientos, n = 3.

<i>MUESTREO INICIAL</i>			<i>MUESTREO FINAL</i>		
<i>ID</i>	<i>NH₄⁺</i>	<i>COD</i>	<i>ID</i>	<i>NH₄⁺</i>	<i>COD</i>
<i>BF 0-5</i>	0.59 ± 0.17	9.02 ± 2.67	<i>BF 0-5</i>	2.19 ± 1.55	8.45 ± 5.79

<i>BSQ 0-5</i>	0.44 ± 0.19	7.51 ± 2.02	<i>BSQP 0-5</i>	0.57 ± 0.32	5.69 ± 4.18
			<i>BSQI 0-5</i>	0.54 ± 0.13	3.98 ± 0.75
<i>BF 5-15</i>	0.62 ± 0.34	5.42 ± 1.32	<i>BF 5-15</i>	2.57 ± 0.93	3.44 ± 0.43
<i>BSQ 5-15</i>	0.47 ± 0.22	7.28 ± 2.29	<i>BSQP 5-15</i>	0.59 ± 0.14	2.51 ± 0.70
			<i>BSQI 5-15</i>	0.89 ± 0.05	3.66 ± 1.04

La concentración de COD entre 0-5 cm fue de 9.02 ± 2.67 (BF) y 7.51 ± 2.02 (BSQ) mmol g^{-1} y disminuyó con el transcurso del experimento a 8.45 mmol g^{-1} en BF, 5.69 mmol g^{-1} en BSQP y de 3.98 mmol g^{-1} en BSQI, como se muestra en la Tabla 4. Aunque hay una ligera disminución en el contenido de COD en los diferentes tratamientos, estos nos mostraron, esta variación no fue significativa ($p > 0.05$). Por el contrario, para la profundidad de 5 a 15 cm, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, cuando comparamos entre los sedimentos al inicio y al final ($p < 0.05$), observándose un aparente agotamiento del COD en esta profundidad.

6.2. Flujos de O_2 , DOC, NO_2^- y NH_4^+

La demanda de O_2 del sedimento (i.e., flujos bentónicos de O_2 de la columna de agua al sedimento) varió de forma no lineal entre 1 y $4 \text{ mmol de O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, alcanzando a una aparente estabilización después del día 3, como se muestra en la figura 7A. Estos flujos de O_2 , fueron significativamente mayores ($p = 0.01$) para BSPI ($2.23 \pm 0.15 \text{ mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) que para BF y BSQP (1.64 ± 0.08 y $1.78 \pm 0.14 \text{ mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, respectivamente) (Tabla 5), tratamientos que a su vez no mostraron diferencias significativas entre sí ($p = 0.768$). El consumo de O_2 representa una medición de los procesos de degradación (vía aeróbica) en la interfaz del sedimento y estos resultados podrían reflejar la rápida respiración de la MO añadida en forma

de biodepositos, respaldando la idea de que una fracción muy pequeña de MO lábil podría ser responsable de una alta demanda de O₂. (Arnosti & Holmer, 2003).

En contraste con los flujos de O₂, todos los sedimentos evaluados se comportaron como fuente neta de NH₄⁺ como se observa en la figura 7B. Se midieron mayores flujos de NH₄⁺ al inicio del experimento (máximo en la hora 0) para BF (0.72 ± 0.24 mmol NH₄⁺ m⁻² h⁻¹) y BSQI (1.13 ± 0.21 mmol NH₄⁺ m⁻² h⁻¹), con una disminución y posterior estabilización de los flujos en ambos tratamientos a partir de las 48 h (0.16 mmol NH₄⁺ m⁻² h⁻¹ y 0.27 mmol NH₄⁺ m⁻² h⁻¹ en BF y BSQI, respectivamente). Por su parte, el tratamiento BSQP mostró un comportamiento más estable en los flujos de NH₄⁺ durante todo el transcurso de la incubación (Fig. 7B). En promedio, los mayores flujos medidos fueron para BSQI (0.49 ± 0.07 mmol NH₄⁺ m⁻² h⁻¹), seguidos de BSQP (0.32 ± 0.05 mmol NH₄⁺ m⁻² h⁻¹) y BF (0.30 ± 0.05 mmol NH₄⁺ m⁻² h⁻¹) y, comparativamente, se observaron diferencias significativas entre los sedimentos de BF y BSQI ($p < 0.001$), pero no entre BSQP y BSQI ($p = 0.069$), ni BF y BSQP ($p = 0.512$). De forma similar a la demanda de O₂ del sedimento, los mayores flujos iniciales de NH₄⁺ de BSQI y BF pueden atribuirse a la remineralización de los componentes orgánicos nitrogenados en la zona óxica o de la DNRA en la zona anóxica, lo cual podría generar una recirculación del NH₄⁺.

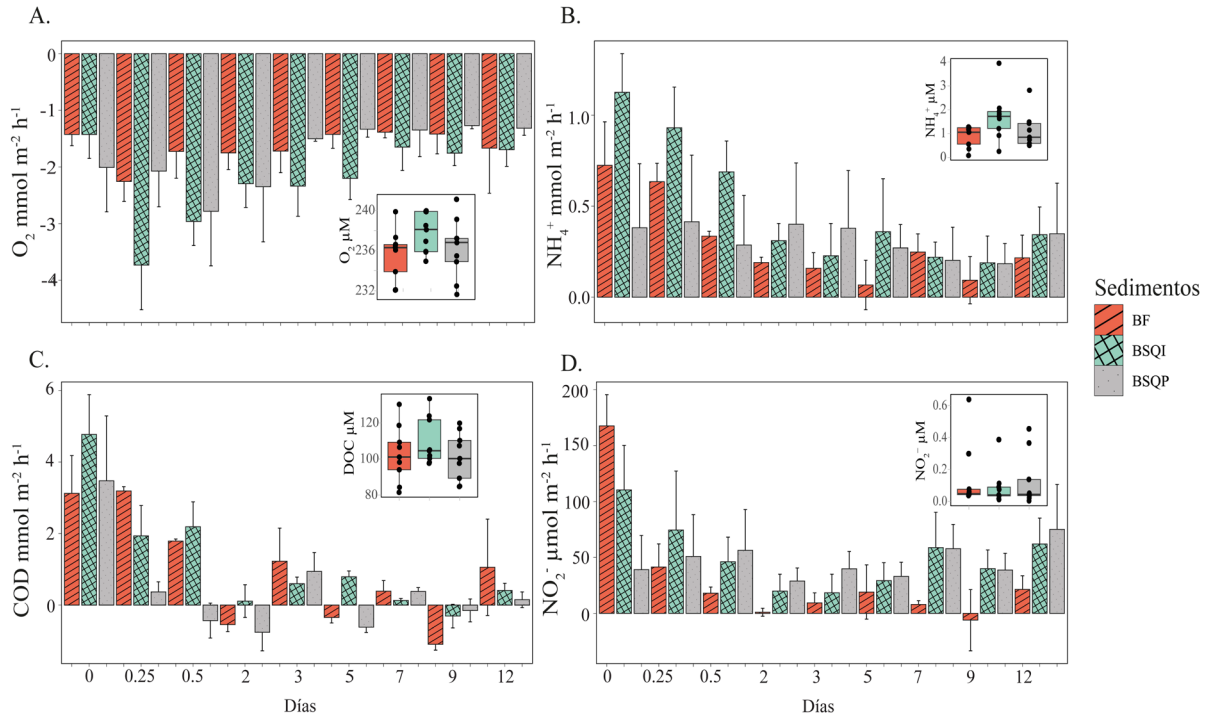


Figura 7. Flujos de O_2 (A), NH_4^+ (B), DOC (C) y NO_2^- (D), las barras de error representan la desviación estándar. Flujos determinados para cada muestreo bajo tres tratamientos (sedimentos de Bahía falsa (BF), sedimentos del Brazo de San Quintín impactados (BSQI) y sedimentos del Brazo de San Quintín Prístinos - control (BSQP)) con $n = 3$. Los recuadros corresponden a las concentraciones de los reservorios de cada sedimento (BF, BSQI y BSQP) durante el tiempo de experimentación, con $n = 27$.

Al igual que para el NH_4^+ , los flujos de NO_2^- en BF y BSQI mostraron su máximo al inicio del experimento, seguido de una acentuada disminución de los flujos bentónicos de NO_2^- , que adquirieron un comportamiento estable a partir de las 48 h ($8.77 \pm 3.98\ \mu mol\ NO_2^-\ m^{-2}\ h^{-1}$ y $38.07 \pm 5.88\ \mu mol\ NO_2^-\ m^{-2}\ h^{-1}$ en BF y BSQI, en promedio respectivamente). A diferencia de BF y BSQI, en los flujos de BSQP no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) con el transcurso del experimento. A nivel global, BSQI mostró los mayores flujos promedio con $51.05 \pm 7.12\ \mu mol\ NO_2^-\ m^{-2}\ h^{-1}$, seguido de BSQP con $46.62 \pm 5.09\ \mu mol\ NO_2^-\ m^{-2}\ h^{-1}$ y finalmente BF con $31.08 \pm 10.71\ \mu mol\ NO_2^-\ m^{-2}\ h^{-1}$. Se encontraron diferencias

significativas para BF con respecto a BSQI ($p = 0.006$) y BSQP ($p = 0.017$), pero no al comparar BSQI con BSQP ($p > 0.05$).

Tabla 5. Flujos bentónicos promedio (\pm error estándar) de O_2 ($mmol\ m^{-2}\ h^{-1}$), COD ($mmol\ m^{-2}\ h^{-1}$), NO_2^- ($\mu mol\ m^{-2}\ h^{-1}$) y NH_4^+ ($mmol\ m^{-2}\ h^{-1}$) para BF, BSQI y BSQP. $n = 27$.

<i>Tratamientos</i>	<i>O₂</i>	<i>COD</i>	<i>NO₂⁻</i>	<i>NH₄⁺</i>
<i>BF</i>	-1.64 ± 0.08	0.98 ± 0.30	31.08 ± 10.21	0.30 ± 0.05
<i>BSQI</i>	-2.23 ± 0.15	1.18 ± 0.31	51.05 ± 7.12	0.49 ± 0.07
<i>BSQP</i>	-1.78 ± 0.14	0.37 ± 0.26	46.62 ± 5.09	0.32 ± 0.05

Los flujos bentónicos de COD mostraron un comportamiento similar con los de NH_4^+ y NO_2^- al inicio de las incubaciones (Fig. 7C), ya que los valores máximos en los tres tratamientos se registraron en el tiempo 0 ($4.33\ mmol\ N\ m^{-2}\ h^{-1}$ en BF, $5.99\ mmol\ N\ m^{-2}\ h^{-1}$ en BSQI y $5.34\ mmol\ N\ m^{-2}\ h^{-1}$ en BSQP). Tras esa fase inicial, se produjo una drástica disminución de los flujos hasta valores cercanos a 0 que dio lugar a un aparente desacoplamiento entre la liberación-producción y la retención-consumo de $1.64\ mmol\ COD\ m^{-2}\ h^{-1}$, tal como se observa en la figura 7C. La MO en degradación presenta un equilibrio entre la fase particulada y la fase disuelta. Mecanismos abióticos reversibles, tales como el ensamblaje, la dispersión, la fragmentación y la coagulación de los polímeros que constituyen la MO (Verdugo, 2012) podrían estar sucediendo en los microcosmos, lo cual explicaría los cambios de dirección de los flujos observados a través del tiempo. A pesar de la gran variabilidad de los flujos promedio (Tabla 5), se encontraron diferencias significativas entre BSQP y BSQI ($p = 0.004$), pero no entre BF y BSQP ($p = 0.055$).

6.3. Tasas de DNF, ANX, DNRA y N₂O-DNF.

Las tasas de reducción de NO₃⁻ aquí reportadas fueron el resultado de la aplicación del balance del R IPT-DNRA desarrollado por [Salk et al. \(2017\)](#). Solo se pudieron calcular las tasas de los procesos hasta el muestreo del día 5, debido a que a partir de ese día las concentraciones de N₂O permanecieron por debajo del límite óptimo de cuantificación, y tanto el ⁴⁵N₂O como el ⁴⁶N₂O son variables necesarias para cuantificar el parámetro r14a (Tabla 2) en el balance de [Salk et al. \(2017\)](#).

Las tasas promedio de DNF fueron de 1.14 ± 0.62 , 1.29 ± 0.70 y 0.93 ± 0.57 $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$ para BSQP, BSQI y BF, respectivamente. Las tasas de ANX para BSQP, BSQI y BF, fueron de 2.03 ± 0.15 , 1.57 ± 0.18 y 1.54 ± 0.13 $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$. Las tasas de DNRA fueron de 0.78 ± 0.11 , 0.46 ± 0.12 y 0.54 ± 0.08 $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$, para BSQP, BSQI y BF, respectivamente. La producción de N₂O vía DNF (N₂O-DNF) para BSQP, BSQI y BF, fue de 1.7 ± 0.1 , 1.7 ± 0.2 y 1.7 ± 0.1 $\text{nmol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$.

Las tasas de DNF no presentaron un comportamiento uniforme a lo largo de la incubación. BF mostró un aumento de la actividad de DNF hasta las 48 h y una posterior estabilización en el tiempo, mientras que BSQP y BSQI mostraron un aumento de la DNF durante todo el transcurso del experimento. Además, no se observó un efecto significativo en la producción de N₂ vía DNF atribuible a la MO agregada en forma de biodepósitos (Fig. 8A, Fig. S2). Sin embargo, en promedio, la remoción de N vía DNF en estos dos tratamientos no mostró diferencias significativas con BF ($p > 0.05$). La contribución de la DNF a la pérdida de N en los sedimentos de BF varió entre el 12 y 44 %, en BSQI vario entre el 22 y 51%, y para BSQP vario entre 19 y 51%.

A diferencia de la DNF, la producción de N_2 a través de ANX fue estable en el tiempo que duraron las incubaciones de BF, BSQP y BSQI (Fig. 8B). En promedio, BSQP mostró mayores tasas de ANX con respecto a BF ($p < 0.001$) y BSQI ($p < 0.001$), pero no se detectaron diferencias entre BF y BSQI ($p > 0.05$) (Fig. S2). ANX fue el proceso más relevante en términos de contribución a la reducción total de NO_3^- (entre el 45% y el 50%) y a la pérdida de N reactivo (entre el 50% y el 65%) entre los diferentes tratamientos.

La salida de N en forma de N_2O , como ruta incompleta de la DNF, no mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos experimentales, con tasas menores a $2 \text{ nmol de N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ (Fig. 8C). El N_2O producido a través de la DNF representó $< 1 \%$ en la eliminación de N reactivo para los tratamientos aquí evaluados (Fig. 9B).

Las tasas de DNRA mostraron diferencias entre BSQP y BSQI ($p = 0.019$), pero no entre BF con respecto a BSQI y BSQP, siendo las tasas de DNRA menores a $1.5 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ en el conjunto de los diferentes tratamientos (Fig. 8D). La DNRA jugó un papel importante en la recirculación de N durante estos experimentos, ya que su contribución en la reducción de NO_3^- varió entre el 7 y 21 % en BF, entre 6 y 22 % en BSQI, y entre 5 y 34% para BSQP.

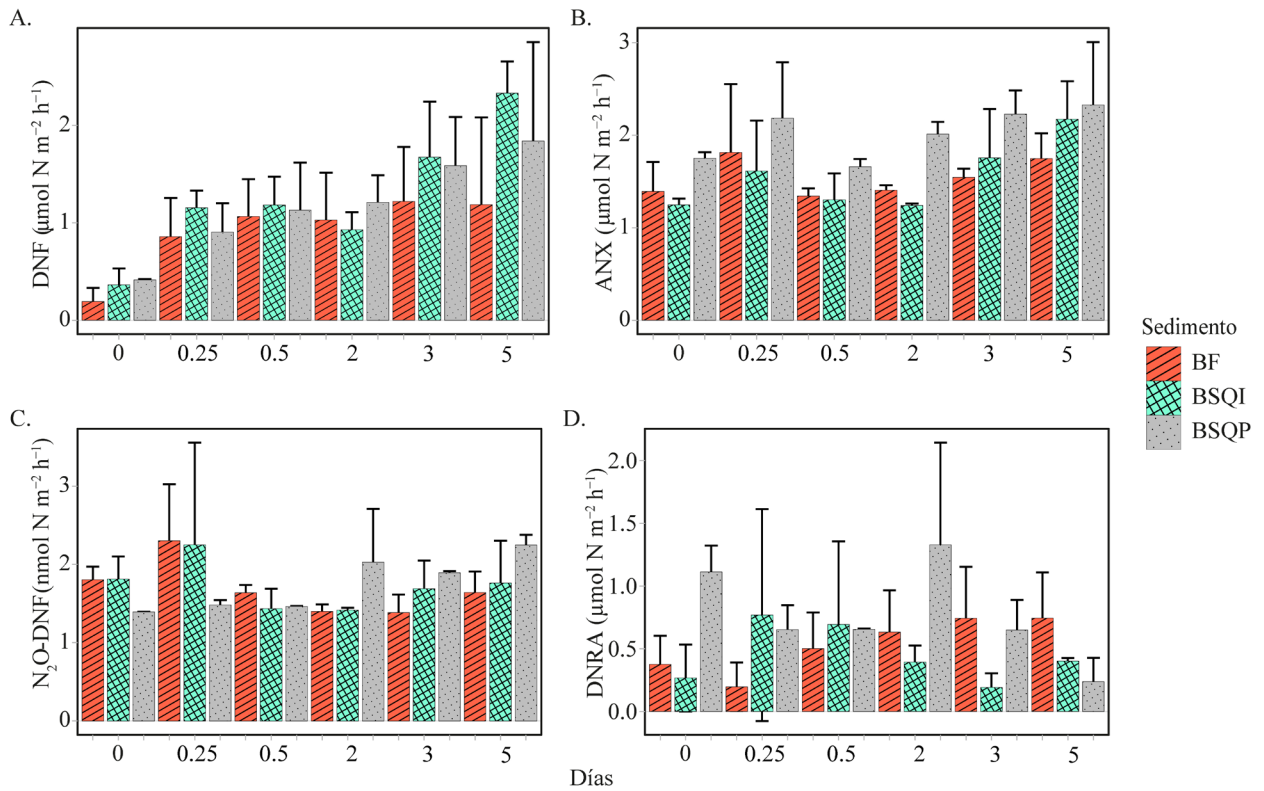


Figura 8. Tasas de DNF (A), ANX (B), óxido nitroso (N_2O -DNF) (C) y DNRA (D). Valores reportados en $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$, excepto para N_2O -DNF ($\text{nmol m}^{-2} \text{h}^{-1}$). Las barras corresponden a la media por tipo de sedimento más la desviación estándar (barras de error), con $n = 3$.

La producción de N_2 total de BF, BSQI y BSQP fue de $2.47 \pm 0.18 \mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$, $2.87 \pm 0.29 \mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$, y $3.17 \pm 0.22 \mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$, respectivamente. La producción de N_2 fue comparativamente menor en BF que en BSQP ($p = 0.031$), pero no se encontraron diferencias con respecto a BSQI ($p = 0.488$).

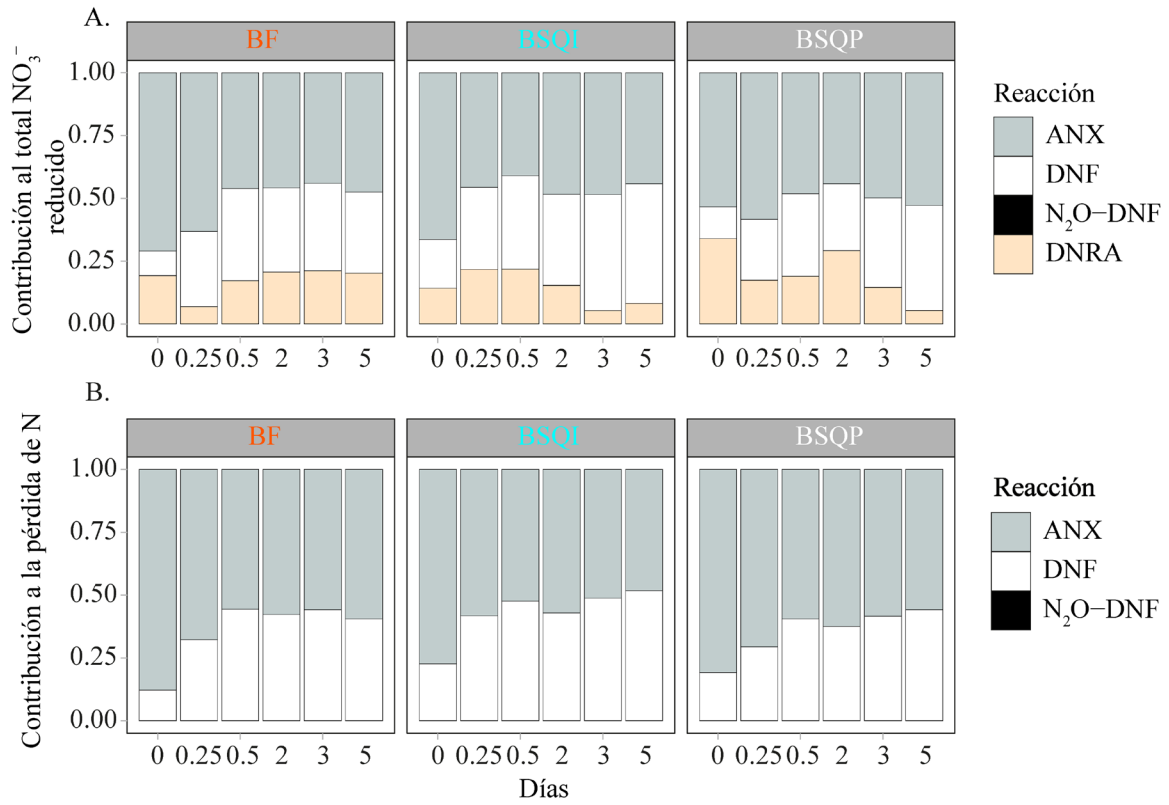


Figura 9. Contribución a la pérdida de N (A) como N_2 y N_2O , y contribución a la reducción total de NO_3^- (B) via DNF, ANX, N_2O via DNF y DNRA, para los sedimentos evaluados en BF, BSQI y BSQP.

7. Discusión

Este trabajo de investigación tuvo como finalidad evaluar el impacto de la MO de los biodepósitos generados por *C. gigas* sobre el ciclo de N en sedimentos de la Bahía de San Quintín, y observar si estas cargas de C tienen alguno efecto en los flujos bentónicos de nutrientes y en los procesos microbianos que transforman y/o eliminan el N reactivo en el sedimento.

7.1. Flujos bentónicos

Los flujos bentónicos de O₂ y nutrientes (COD, NO₂⁻ y el NH₄⁺) son indicadores del metabolismo microbiano en el sedimento. En contraste a la hipótesis planteada inicialmente, en nuestro estudio no encontramos que los flujos bentónicos fueran estimulados por la presencia de *C. gigas* en relación con los sedimentos prístinos. Estudios anteriores han evidenciado que el cultivo de bivalvos puede inducir cambios pronunciados en las características y el metabolismo sedimentario, debido a la elevada carga de MO que estos organismos filtradores producen. Así, un enriquecimiento orgánico de los sedimentos puede incrementar la actividad microbiana y potenciar la transformación de los nutrientes. Por ejemplo, [Nizzoli et al. \(2007\)](#) demostraron en una laguna costera micromareal poco profunda del Mar Adriático que el consumo de O₂ y el eflujo de NH₄⁺ en las zonas donde se cultivaban la almeja *Tapes philippinarum* eran hasta 5 veces superiores respecto a los medidos en la zona de control. Igualmente, [Smyth et al. \(2018\)](#) observaron un aumento considerable del consumo de O₂ y la liberación de NH₄⁺ a la columna de agua en sedimentos de la Bahía de Smith Island, Bahía Chesapeake (USA). Sin embargo, en este trabajo, a través de las mediciones de consumo de O₂ y flujo de NH₄⁺ no se observó una clara diferencia entre la zona expuesta a biodepósitos de *C.gigas* (BF) y la zona prístina (BSQP).

En promedio, los flujos de O_2 y NH_4^+ (Tabla 5) de este estudio, tanto en BF como BSQP, son similares a otros ecosistemas (Tabla 6) y fueron comparables con los reportados previamente en los sedimentos de esta bahía por [Ibarra-Obando et al. \(2004\)](#), quienes tampoco detectaron diferencias significativas entre sedimentos de ambos brazos de la laguna. Específicamente en BF, los sedimentos están altamente expuestos a la resuspensión y el transporte horizontal (advectivo), tanto por efecto de la marea como por el oleaje y las corrientes residuales generadas por el viento ([Melaku Canu et al., 2016](#)), lo que limita la acumulación de los biodepósitos generados por la actividad ostrícola. De forma similar, [Higgins et al. \(2013\)](#) observaron en la Bahía de Chesapeake que los sedimentos bajo la influencia de actividad ostrícola, pero sometidos a un intenso intercambio hidrodinámico, no mostraban un incremento significativo en la demanda de O_2 y los flujos de NH_4^+ , en relación a los sedimentos de referencia. Por el contrario, en los emplazamientos de mayor confinamiento y menos expuestos a la energía del oleaje y las corrientes de marea, la demanda de O_2 y los eflujos de NH_4^+ medidos bajo los cultivos de ostras eran de 2 a 3 veces superiores a las observadas en el sitio de referencia ([Higgins et al., 2013](#)). Estudios anteriores también encontraron esta misma discrepancia entre la transferencia de MO desde la columna de agua y el contenido orgánico en los sedimentos ([Gaertner-Mazouni et al., 2012](#)). Por lo tanto, es probable que, en San Quintín y especialmente en BF, la dispersión de los biodepósitos por la dinámica de las mareas produzca un enriquecimiento mínimo de los sedimentos subyacentes a las estructuras de cultivo, como sugiere el contenido relativamente bajo de C orgánico (Tabla 3). Además, basándonos en las incubaciones donde los sedimentos fueron enriquecidos con biodepósitos (BSQI), sugerimos que la fracción de MO (biodepósitos) liberada por los ostiones que, si alcanza el sedimento y no es transportada o depositada en otro lugar por las corrientes de marea, no logra almacenarse, sino que es

consumida rápidamente a través de procesos de remineralización aerobia y bioturbación en la interfaz sedimento-agua.

Mientras en BF y BSQI el pico máximo en los flujos de O_2 se observó a las 6 horas, en BSQP fue a las 12 horas (Fig. 7A), a lo que siguió un progresivo descenso que se estabilizó en flujos de $< 2 \text{ mmol de } O_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ tras el segundo día de incubación en los 3 tratamientos, el cual es un valor consistente con las observaciones obtenidas en diferentes sistemas estuarinos y costeros alrededor del mundo (Boynton et al., 2018). Este patrón no lineal en el tiempo también es esperado, ya que la disponibilidad y el progresivo agotamiento del C orgánico más lábil regulan la demanda de O_2 en el sedimento (Boynton et al., 2018; Taylor et al., 2011). Por lo tanto, otra consideración que puede explicar los resultados observados está ligada a los requerimientos experimentales del sistema de flujo continuo, los cuales exigen unos periodos de aclimatación y estabilización para los núcleos de sedimento que pueden acarrear un agotamiento parcial de la MO más lábil, como la de los biodepositos. Esto sería respaldado por los indicios de amonificación que presentó el agua intersticial de BF, dado que la acumulación de NH_4^+ al finalizar las incubaciones fue 4 veces superiores a las de BSQP.

La inusual producción de NO_2^- tanto en BF como para BSQ pudo ser el resultado de la adición de altas concentraciones de $^{15}NO_3^-$ dentro de los reservorios de agua de mar, como condición inicial para el experimento. La formación de NO_2^- suele ser resultado de los procesos de nitrificación en la zona con disponibilidad de O_2 (Stein, 2019). También es plausible que los eflujos de NO_2^- se deban a reacciones microbianas incompletas, como la DNRA o la DNF (Damashek & Francis, 2018) estimulados por la adición de $^{15}NO_3^-$. Por lo tanto, los flujos de este nutriente bajo condiciones de enriquecimiento se deben considerar como un trazador de

reacciones y no como un valor representativo de lo que sucede en el ecosistema de forma natural.

La MO que se recicla preferencialmente en el sedimento debería aproximarse a una relación molar C:N de 106:16. Por lo tanto, asumiendo un coeficiente respiratorio de 1, la relación entre liberación de NH_4^+ y el consumo de O_2 en toda la zona de estudio debería aproximarse a un valor de 0.15. Esto implican una elevada eficiencia de reciclado, y que la mayor parte del N, durante la diagénesis temprana de la MO, se liberaría en forma de NH_4^+ (amonificación oxigénica). Como nuestros valores fueron ligeramente superiores (~ 0.18), es plausible suponer que hasta un 20% de la producción de NH_4^+ en los sedimentos de la Bahía de San Quintín (Fig. S3) se generó a través de rutas anóxicas, como la DNRA o la sulfato reducción.

7.2. Aplicación de la R IPT-DNRA

Que tengamos conocimiento, este es el primer trabajo hasta la fecha en el que se determinan los procesos de DNRA, ANX y DNF utilizando R-IPT-DNRA en núcleos intactos de sedimento acoplados a un sistema de flujo continuo. Este diseño presenta varias ventajas: (1) Se mantiene la estructura del sedimento (núcleo intacto), (2) no se necesita ningún inhibidor y (3) se pueden controlar la disponibilidad de luz y O_2 disuelto (Robertson et al., 2019; Valiente et al., 2022). Además, la cuantificación conjunta de la DNRA, ANX y la DNF dio lugar a estimaciones de tasas más precisas en comparación con la cuantificación de dichas rutas por separado (Fig. 10A y 10B).

Tabla 6. Mediciones de flujos de nutrientes en diferentes ecosistemas (núcleos intactos y slurry). Los flujos de nutrientes se encuentran en $\text{mmol m}^{-2} \text{h}^{-1}$. (-) = sin medida.

Ecosistema	Detalle	Flujos de Nutrientes			Autor
		Demanda de O ₂ del sedimento	NO ₂ ⁻	NH ₄ ⁺	
Núcleos intactos					
Fiordo Horsens, Dinamarca	Sedimentos desnudos	~ 1.92	-	0.5	(Christensen et al., 2000)
Laguna costera Gold Coast	Sedimentos de referencia	~ 4.92	-	~ 0.30	(Jordan et al., 2009)
Broadwater, Australia	Sedimentos + baja densidad (40 ind)	~ 9.21	-	~ 1.82	
	Sedimentos + alta densidad (80 ind)	~ 14.88	-	~ 4.53	
Svalbard, Noruega	Fiordo Smeerenburgfjorden 2007 (211 m)	6.72 ± 0.78	-	-	(Gihring et al., 2010)
	Fiordo Smeerenburgfjorden 2008 (211 m)	6.77 ± 0.52	-	-	
	Fiordo Kongsfjorden 2008 (51 m)	4.04 ± 0.34	-	-	
Mar mediterráneo	Sedimentos desnudos 14.5 m profundidad	0.5 - 4.5	-	-	(Apostolaki et al., 2010)
Estrecho de Skagerrak, Suecia	sedimentos desnudos 19 m profundidad	0.417 - 0.625	-	-	(Carlsson et al., 2012)
Rio Choptank, USA	Arrecife restaurado de Ostiones ~ 4m	12.87 ± 1.61 - 38.82 ± 4.35	-	0.62 ± 0.10 - 3.51 ± 0.45	(Kellogg et al., 2013)
	Sitio de referencia ~ 4m	1.14 ± 0.32 - 1.54 ± 0.17	-	0.05 ± 0.07 - 0.12 ± 0.05	
Laguna costera, Brasil	Laguna Imboassica ~ 1 m	1.84 - 4.25	-	0.35 - 1.21	(Enrich-Prast et al., 2016)
	Laguna Cabiuna ~ 1 m	0.43 - 1.29	-	0.052 - 0.054	
Middle Marsh, USA	<i>Mudflat</i> referencia	-	-	0.01667 ± 0.0109	(Smyth et al., 2015)
	<i>Mudflat</i> + arrecife	-	-	0.01092 ± 0.0046	
	Marisma referencia	-	-	0.00747 ± 0.0039	
	Marisma + arrecife	-	-	0.0747 ± 0.0011	
	Pasto marino referencia	-	-	0.048 ± 0.0339	
	Pasto marino + arrecife	-	-	0.09867 ± 0.0959	
Laguna costera Gold Coast	Sedimentos de referencia	3.013 ± 0.693	-	-	(Welsh et al., 2015)
Broadwater, Australia	Sedimentos desnudos	1.48 ± 0.38	-	0.02045 ± 0.03997	(Erler et al., 2017)
Wallis Lake, Australia	Sedimentos impactados por ostiones	1.72 ± 0.36	-	0.06364 ± 0.05795	
	Sedimentos de referencia ~ 1.5 oscuridad	3.0 ± 0.6 - 21.8 ± 3.2	-	1.2587 ± 0.1735	(Murphy et al., 2018)
Estuario Sacca di Goro, Italia					
St. Joseph Bay, USA	Sedimentos desnudos (~ 1 m)	1.29 ± 0.16	0.00752 ± 0.00495	-	(Hoffman et al., 2019)
	Sedimentos con cobertura vegetal (~ 1 m)	0.85 ± 0.09	0.0265 ± 0.0161	-	
Estuario New England, USA	Sedimentos desnudos	3.02 ± 0.62	0.0 ± 0.00	0.00035 ± 0.00019	(Ayvazian et al., 2022)
	Sedimentos impactados por ostiones	19.80 ± 1.26	0.0001 ± 0.0000	0.0058 ± 0.0005	
Incubación con slurry					
Estuario Chesapeake Bay, USA	Sedimentos bajo racks de ostiones Spencer's	0.9 ± 0.24	-	0.12 ± 0.04	(Higgins et al., 2013)
	Sedimentos de referencia desnudos Spencer's	0.59 ± 0.16	-	0.08 ± 0.02	

Estuario Chesepeake Bay, USA	Sedimentos bajo racks de ostiones St. Jerome	1.44 ± 0.16		0.16 ± 0.05	(Lunstrum et al., 2018)
	Sedimentos de referencia desnudos St. Jerome	0.33 ± 0.03		0.04 ± 0.002	
	Sedimentos desnudos < 1m	~ 2.30	-	-	
	Sedimentos entre racks de Ostiones < 1m	> 3.10			
	Sedimentos bajo racks de Ostiones < 1m	> 5.00			

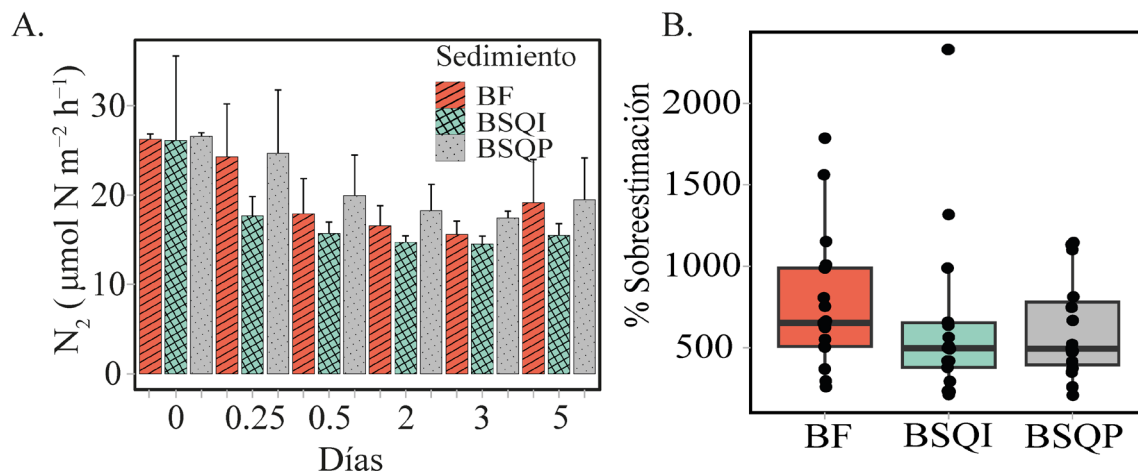


Figura 10. DNF calculada a partir del balance de Nielsen (1992) (A). Las barras de error representan la desviación estándar, con $n = 3$. (B) Sobreestimación de las tasas DNF generadas con el balance de Nielsen (1992) con respecto al balance de Salk et al. (2017) para BF, BSQI y BSQP.

En los sedimentos de la Bahía de San Quintín, la DNRA desempeñó un papel significativo en el ciclo del N. La relativamente alta contribución de DNRA dio como resultado una sobreestimación (300 – 1000 %) de las tasas de DNF (IPT clásico (Nielsen, 1992), Fig. 10A) en comparación con el modelo IPT-R-DNRA (Fig. 10B). Salk et al. (2017) demostraron que la estimación de la DNF a través de la IPT clásica se vuelve más inexacta a medida que la contribución de ANX al $^{30}\text{N}_2$ generado (i.e., A_{30}/P_{30}) aumenta. Esto también coincide con lo propuesto por Song et al. (2016), quienes sugirieron que las tasas de DNF se sobreestiman en mayor medida cuando la ANX es la principal vía de pérdida de N reactivo. En sedimentos donde la DNRA juega un papel importante, las tasas de ANX pueden superar a las de DNF (Salk et al., 2017). Aunque estudios previos han señalado que la DNF domina la mayor parte de la pérdida de N en los sedimentos marinos (Jiang et al., 2021; Trimmer et al., 2006) y que es poco probable que la sobreestimación de la DNF sea significativa en los sistemas costeros

(Song et al., 2016), nuestros resultados confirman lo adelantado por Salk et al. (2017) de que esta asunción tiene que ser cuestionada y reevaluada bajo diferentes condiciones ambientales.

7.3. Reducción desasimilatoria de nitrato en la Bahía de San Quintín

En este estudio, cuantificamos por primera vez la coocurrencia de DNRA, ANX y DNF en sedimentos influenciados por la actividad de ostrícola en Bahía de San Quintín (Tabla 7). El equilibrio entre estos procesos desasimilatorios que reducen NO_3^- depende de diferentes factores ambientales, entre los cuales la biodisponibilidad de donadores de electrones y la estequiometría de la MO suelen considerarse los más importantes (Babbin & Ward, 2013; Bu et al., 2017; Chen et al., 2023; Huang et al., 2021). Esto se debe en parte a que la DNF tiene un mayor rendimiento energético que la DNRA y, por lo tanto, en ambientes con aportes moderados de MO la DNF suele dominar la reducción de NO_x^- sobre la DNRA. Por el contrario, cuando la MO disponible presenta un C:N relativamente alto, la DNRA es metabólicamente más favorecida, reduciéndose la barrera energética entre ambos procesos (Hardison et al., 2015; Kraft et al., 2014; van den Berg et al., 2015). Así, la DNRA puede actuar reteniendo parcialmente N reactivo en el sedimento, que de otro modo podría eliminarse por DNF o ANX.

Además de la ostricultura, en San Quintín existen otras potenciales fuentes de MO para los sedimentos, que incluyen a los macrófitos (Ward et al., 2003; Zertuche-González et al., 2009) y el detritus fitoplanctónico importado del océano adyacente a través de las mareas (Gracia-Escobar et al., 2014; Watson et al., 2020). Que BSQP presente mayores tasas de DNRA que BF posiblemente se deba a que las zonas interiores de la laguna reciben material orgánico relativamente más refractario y con una mayor relación C:N (Watson et al., 2020), como el producido por los pastos marinos (Salk et al., 2017) que dominan los fondos de esta parte de

la bahía con densas praderas. Por el contrario, BF presenta un mayor intercambio con el océano y recibe más material alóctono lábil en forma de fitoplancton (Emery et al., 2016; Melaku Canu et al., 2016). Además, en momento en la que se llevó a cabo este estudio (i.e., Octubre), las praderas de *Z. marina* presentan una alta productividad vegetativa y mayores reservas de C en forma carbohidratos estructurales (Carreira et al., 2017; Sandoval-Gil et al., 2019), lo que acentuaría esta diferencia.

Las mediciones directas de DNRA potencial medidas en ecosistemas de lechos de *Zostera marina* en Virginia (~ 15 $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, Aoki & McGlathery (2017)) y *Thalassia testudinum* en Florida (~ 40 $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, Hoffman et al. (2019)) fueron notablemente superiores a las medidas en este estudio para BSQP y BF. Sin embargo, hay que tener en cuenta que las incubaciones potenciales requieren lodos anóxicos que destruyen los gradientes redox naturales e incrementan la accesibilidad de las bacterias a los potenciales donadores de electrones, ya sea por vía fermentativa (MO) o quimioautótrofa (Fe(II) o H₂S) (Jäntti et al., 2021). Así, nuestros resultados se alinean en rango con las tasas medidas (1-10 $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) en núcleos intactos, tanto aquellos recolectados en praderas de *Zostera muelleri* de Australia (Salk et al., 2017) como en lechos de *Thalassia* spp de estuarios del sur de Texas (Gardner et al., 2006). En dichos estudios, la DNRA dominó la DNF por un margen de hasta 10:1 (Gardner et al., 2006). Por el contrario, nuestros resultados sugieren que la MO está siendo utilizada más eficientemente por los organismos desnitrificantes que por los que realizan DNRA, como indica la relación DNF:DNRA de 2:1 de estos sedimentos. Tanto en BF como BSQP, la contribución de la DNRA a la reducción del NO₃⁻ fue similar a lo publicado por Smyth et al. (2013) en el Bogue Sound (North Carolina), donde esta ruta supuso entre el 0% y el 11.2%. Aunque la DNRA representó en promedio menos del 20%

del total de NO_3^- reducido, el acople DNRA-ANX supuso menos del 0.5% del total de ANX, lo que demuestra que el NH_4^+ que soporta el proceso de ANX, proviene principalmente de la remineralización aeróbica de la MO y no del acople con la DNRA. Los flujos de NH_4^+ y NO_2^- presentados anteriormente también apoyarían esta afirmación.

La ANX fue responsable, en promedio, de entre 64%, (BF) y 65% (BSQP) de la pérdida total de N reactivo. Esta contribución es inusualmente alta en comparación con otros sedimentos costeros (Fozia et al., 2020; Gihring et al., 2010; Higgins et al., 2013; Teng et al., 2022). Aunque contribuciones similares a las registradas en el presente trabajo ya han sido reportadas en lagunas costera y de agua dulce (Erler et al., 2017; Salk et al., 2017; Valiente et al., 2022), estas generalmente se relacionan con sedimentos de aguas profundas y se atribuyen a que la DNF se encuentra parcialmente limitada debido a la baja disponibilidad de C orgánico lábil (Thamdrup & Dalsgaard, 2002; Trimmer et al., 2013). Recientemente, también se ha especulado que el C:N sedimentario es una variable clave a la hora de explicar la importancia relativa de la DNF y la ANX en la eliminación de N reactivo, ya que la actividad de ANX en los sedimentos costeros está negativamente relacionada con el C:N (Fozia et al., 2020; Tan et al., 2019). En San Quintín, sin embargo, la competencia entre la DNRA y la DNF, así como una posible limitación por MO en la actividad de ambos procesos permite que la ANX sea la principal ruta de pérdida de N.

Tabla 7. Tasas de oxidación y reducción de N en diferentes ecosistemas (núcleos intactos y *slurry*). Las tasas aquí mostradas (media \pm desviación estándar) se encuentran en $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$. (-) = sin medida.

Ecosistema	Modelo	Detalle	Tasas oxidación y reducción de N				Autor
			DNF	DNRA	Anammox	N ₂ O-DNF	
Núcleos intactos							
Bahía de San Quintín, México	R-IPT-DNRA (Salk et al., 2017)	Sedimentos desnudos junto a pastos marinos	1.14 \pm 0.23	0.78 \pm 0.45	2.03 \pm 0.40	0.0017 \pm 0.0004	Este estudio
		Sedimentos bajo racks de Ostiones	0.93 \pm 0.11	0.54 \pm 0.33	1.54 \pm 0.34	0.0017 \pm 0.0004	
Fiordo Horsens, Dinamarca	IPT, Nielsen (1992) y DNRA, Risgaard-Petersen & Rysgaard (1995)	Sedimentos desnudos	0.83	291.67	-	-	(Christensen et al., 2000)
Laguna costera Gold Coast Broadwater, Australia	IPT, Nielsen (1992) y DNRA, Risgaard-Petersen & Rysgaard (1995)	Sedimentos de referencia	14.27 \pm 1.85	6.13 \pm 1.42	-	-	(Jordan et al., 2009)
		Sedimentos + baja densidad (40 ind)	13.94 \pm 2.45	5.60 \pm 1.85	-	-	
		Sedimentos + alta densidad (80 ind)	10.76 \pm 1.23	2.29 \pm 1.33	-	-	
Svalbard, Noruega	IPT, Risgaard-Petersen et al. (2003) y Thamdrup & Dalsgaard (2002)	Fiordo Smeerenburgfjorden 2007 (211 m)	294 \pm 23	-	26 \pm 2.0	-	(Gihring et al., 2010)
		Fiordo Smeerenburgfjorden 2008 (211 m)	289 \pm 4.6	-	15 \pm 0.2	-	
		Fiordo Kongsfjorden 2008 (51 m)	34 \pm 12	-	10 \pm 3.6	-	
Estrecho de Skagerrak, Suecia	IPT, Nielsen (1992)	sedimentos desnudos 19 m profundidad	< 83.33	-	-	-	(Carlsson et al., 2012)
		Río Choptank, USA	Regresiones con N:Ar	Arrecife restaurado de Ostiones ~ 4m	250 \pm 60 - 1590 \pm 220	-	
Laguna costera, Brasil	IPT, Nielsen (1992)	Laguna Imboassica ~ 1 m	40 \pm 10 - 110 \pm 20	-	-	-	(Enrich-Prast et al., 2016)
		Laguna Cabiuna ~ 1 m	0.21 - 1.7	-	-	-	
Middle Marsh, USA	Regresiones con N:Ar	Mudflat referencia	0.01 - 4.3	-	-	-	(Smyth et al., 2015)
		Mudflat + arrecife	55.63 \pm 24.65	-	-	-	
		Marisma referencia	218.3 \pm 37.32	-	-	-	
		Marisma + arrecife	175.4 \pm 59.15	-	-	-	
		Pasto marino referencia	210.6 \pm 13.38	-	-	-	
		Pasto marino + arrecife	123.2 \pm 53.52	-	-	-	
Laguna costera Gold Coast Broadwater, Australia	Balance de masas, Nizzoli et al. (2006)	Pasto marino + arrecife	210.6 \pm 7.75	-	-	-	(Welsh et al., 2015)
		Sedimentos de referencia	468 \pm 66	-	-	-	
Wallis Lake, Australia	R IPT-DNRA, Salk et al. (2017)	Sedimentos desnudos	1.3 \pm 0.5	83.8 \pm 28.2	2.4 \pm 0.9	0.030 \pm 0.006	(Erler et al., 2017)
		Sedimentos impactados por ostiones	1.2 \pm 0.4	169 \pm 45	1.6 \pm 0.4	0.070 \pm 0.016	
Estuario Shaws Bay, Australia	R IPT-DNRA, Salk et al. (2017)	Sedimentos desnudos	0.04 \pm 0.04	0.42 \pm 0.22	0.18 \pm 0.10	0.008 \pm 0.004	(Salk et al., 2017)
		Sedimentos + pastos marinos	0.16 \pm 0.13	0.88 \pm 0.60	0.60 \pm 0.52	0.018 \pm 0.018	
		Sedimentos + fitoplancton	0.08 \pm 0.08	1.03 \pm 0.90	0.26 \pm 0.10	0.012 \pm 0.014	
Estuario Sacca di Goro, Italia	IPT, Nielsen (1992) y DNRA, Risgaard-Petersen & Rysgaard (1995)	Sedimentos de referencia ~ 1.5 oscuridad	1.6 \pm 0.2 - 259.1 \pm 54.1	8.2 \pm 1.2 - 87.7 \pm 22.5	-	-	(Murphy et al., 2018)
St. Joseph Bay, USA	Análisis de gas disuelto (Ar, O ₂ y N ₂ marcado)	Sedimentos desnudos (~ 1 m)	89 - 221	-	-	-	(Hoffman et al., 2019)
		Sedimentos con cobertura vegetal (~ 1 m)	127 - 284	-	-	-	
Lago Petrola, España	R IPT-DNRA, Salk et al. (2017)	Oxígeno + luz	50 \pm 160	1540 \pm 1530	410 \pm 880	1760 \pm 2580	(Valiente et al., 2022)
		Oxígeno + oscuridad	410 \pm 1570	1350 \pm 1320	370 \pm 1220	2100 \pm 2240	
		Anoxia + oscuridad	800 \pm 2610	2800 \pm 2560	960 \pm 2400	1870 \pm 3990	
Incubación con <i>slurry</i>							

Fiordo Gullmarsfjorden, Suecia	r-IPT, Trimmer et al. (2006)	116 m de profundidad	6.08 ± 0.66	-	6.64 ± 1.17	-	(Trimmer et al., 2006)
Estuario Thames, Inglaterra		Southend	73.63 ± 2.85		-		
		Gravesend	192.90 ± 16.03		48.94 ± 4.40		
Estuario Cheseapeake Bay, USA	Regresiones con N:Ar	Sedimentos bajo racks de Ostiones Spencer's	40 ± 10	-	4.17 ± 0.83	-	(Higgins et al., 2013)
		Sedimentos de referencia desnudos Spencer's	70.83 ± 11.67		5 ± 0.42		
		Sedimentos bajo racks de Ostiones St. Jerome	28.75 ± 9.17		2.08 ± 0.83		
		Sedimentos de referencia desnudos St. Jerome	68.33 ± 7.5		3.33 ± 0.42		
Estuario Cheseapeake Bay, USA	IPT, Nielsen (1992) y DNRA, Risgaard-Petersen & Rysgaard (1995)	Sedimentos desnudos < 1m	2.1 ± 0.3	8.6 ± 1.1	-	-	(Lunstrum et al., 2018)
		Sedimentos entre racks de Ostiones < 1m	4.0 ± 0.4	14.7 ± 2.0			
		Sedimentos bajo racks de Ostiones < 1m	8.5 ± 0.6	25.4 ± 3.2			

7.4. Efecto de los biodepósitos en el ciclo del N

La adición de biodepósitos no estimuló las tasas de DNF y DNRA en los sedimentos de BSQP. Esto contrasta directamente con otros resultados que sugieren que la MO lábil activa la pérdida de N en los sedimentos costeros y estuarinos a través de la DNF, siendo los biodepósitos ostrícolas una potencial fuente de MO que permite aliviar la limitación por C en comunidades desnitrificadoras bentónicas (Hoellein et al., 2015; Labrie et al., 2023). Por lo tanto, es posible que la carga de biodepósitos que se acumulan en el sedimento en la bahía de San Quintín no alcance a cubrir los requerimientos metabólicos de las bacterias desnitrificantes. Por el contrario, Salk et al. (2017) demostraron que la remoción de N por DNF se incrementa en mayor grado por la presencia de MO de naturaleza refractaria que por la presencia de material más lábil. Esto sugiere que la comunidad microbiana de BSQP podría estar más adaptadas a respirar la MO autóctona (Babbin et al., 2014), como es el detritus de pastos marinos, que los biodepósitos de ostión.

La fuerte dependencia del DNRA por el C orgánico (Bu et al., 2017) se debe al alto coste energético que requiere la reducción de NO_3^- a NO_2^- , que es la misma etapa respiratoria que se lleva a cabo en la DNF (Canfield et al., 2010). Por lo tanto, una intensa biodeposición podría favorecerla frente a la DNF, según la hipótesis de Murphy et al. (2016). Así, Erler et al. (2017) reportaron una contribución de la DNRA de hasta el 98% al total de NO_3^- reducido en sedimentos impactados por biodepósitos de ostiones. Los autores de este estudio también señalaron que la acumulación de C orgánico lábil generaba un incremento en la demanda de O_2 que, a su vez, aumenta la biodisponibilidad de otros potenciales donadores de electrones (Fe^{2+} y H_2S) para la DNRA. Sin embargo, los sedimentos en BF y BSQP se caracterizan por presentar una baja concentración de MO ($< 1.01\% \text{ C}$; $< 0.13\% \text{ N}$), así como cierta naturaleza

permeable, especialmente los de BF (Watson et al., 2020). Se sugiere que la advección del agua sobrenadante a través del sedimento más poroso hace coincidir un mayor suministro de O_2 con C orgánico subsuperficial, maximizando así la respiración aeróbica y, por lo tanto, facilitando la amonificación, en zonas fotosintéticamente no activas (Huettel et al., 2014). Esto implica que la comunidad microbiana aerobia del sedimento respire activamente el C orgánico más lábil, incluyendo los biodepositos de la actividad ostrícola (BSQI), y que únicamente el material más refractario alcance la zona anóxica donde se llevan a cabo la DNF y la DNRA. Esta barrera física que se genera influiría en la biodisponibilidad de la MO (Tobias et al., 2001), lo que podría explicar la preponderancia de ANX como ruta preferente para producción de N_2 en la bahía de San Quintín.

En este estudio, las contribuciones de ANX y DNF a la pérdida de N no varían de forma significativa, independientemente del tratamiento. Esto podría parecer inesperado dado que la DNF utiliza preferentemente C orgánico como donador de electrones, mientras las bacterias ANX son quimioautótrofas (Devol, 2015). Sin embargo, también se ha confirmado que el C orgánico puede ser crucial para el acoplamiento de las bacterias ANX con ciertos consorcios microbianos heterótrofos, los cuales proporcionan sustratos inorgánicos (NH_4^+ y NO_2^-) para ANX (Chen et al., 2023). Además, existe evidencia de que las bacterias ANX son capaces de acoplar la oxidación de ciertos ácidos orgánicos y la reducción de NO_x^- , compitiendo de este modo con la DNF y la DNRA por ambos sustratos (He et al., 2023). Juntas, estas vías representan una explicación de cómo la contribución de ANX a la pérdida total de N puede permanecer constante a través de los tratamientos evaluados en el presente trabajo.

7.5. Producción de N₂O

Las tasas de N₂O-DNF (< 2 nmol m⁻² h⁻¹) fueron notablemente menores a otras reportadas en sedimentos impactados por cultivos de ostión (Erler et al., 2017) y similares a las encontradas en sedimentos arenosos con bajo contenido en MO (0.002–0.008 μmol N₂O m⁻² h⁻¹; Salk et al. (2017)) y en lechos de pastos marinos (0.007 – 1.3 μmol N₂O m⁻² h⁻¹, Murray et al. (2015)).

La contribución de N₂O-DNF fue inferior al 1% del total de N removido por la DNF, tanto en BF como en BSQP. Que los sedimentos de San Quintín tengan una producción de N₂O baja indica una alta eficiencia de la DNF (Carreira et al., 2017). Esto parece alinearse con la distribución y abundancia del gen *nosZ* en los sedimentos de San Quintín (Samperio-Ramos, comunicación personal). Este gen es el encargado de codificar el N₂O reductasa, la enzima que cataliza el último paso de la DNF al reducir el N₂O a N₂. Basándonos en las tasas de N₂O-DNF, se estimó que la actividad ostrícola (~ 750 ha; García-Esquivel et al. (2004)) y los pastos en el brazo de San Quintín (~1200 ha; Ward et al. (2003)) producen anualmente 5.78 ± 1.16 y 9.25 ± 1.85 kg de N₂O, respectivamente. A pesar de que la Bahía de San Quintín se comporta como fuente neta de N₂O (15.03 kg año⁻¹ de N₂O), nuestros resultados se alinean con Ray et al. (2019), quienes sostienen que la ostricultura es una actividad con un impacto reducido en lo referente a las emisiones de N₂O (0.00012 μmol N₂O gDW⁻¹ h⁻¹).

Mediciones en otros ambientes costeros como manglares, marismas y estuarios oscilaron entre 0.1 y 9.0 μmol N₂O m⁻² h⁻¹, respectivamente (Murray et al., 2015). Por lo tanto, si consideramos nuestros resultados como representativos de los sistemas dominados por praderas marinas, significaría que estos tienen comparativamente un impacto reducido en el

presupuesto global de N_2O , y resaltaría otro importante servicio ecosistémico de estos entornos costeros.

Sin embargo, la producción de N_2O , no es solo resultado de una DNF incompleta, sino que también puede generarse como subproducto de la nitrificación (Stein & Yung, 2003). Además, la técnica de emparejamiento isotópico no permite cuantificar la producción de N_2O por nitrificación (Salk et al., 2017). Por lo tanto, es importante en futuros trabajos, realizar la medición de este proceso y determinar el papel que desempeña la nitrificación en la producción N_2O dentro de la bahía de San Quintín.

7.6. Limitaciones metodológicas para evaluar los procesos del ciclo del N

Entre los supuestos necesarios para aplicar los cálculos que se sustentan en la IPT está que la generación de N_2 a partir de la nitrificación-DNF dentro de los núcleos sea mínima (Eyre et al., 2002). Por lo tanto, la presencia de zonas redox dinámicas en sedimentos permeables puede distorsionar los resultados obtenidos por la IPT (Robertson et al., 2019). Al mismo tiempo que la penetración de O_2 puede limitar la DNF, la sucesión recurrente entre microambientes aerobios y anaerobios pueden facilitar la nitrificación-DNF, una ruta que a menudo representa un importante sumidero de N en los sistemas costeros (Marchant et al., 2016), incluyendo aquellos influenciados por la presencia de la actividad ostrícola (Smyth et al., 2018). Por ejemplo, Hoffman et al. (2019) aplicando la IPT en sedimentos permeables de la costa de Florida, estimaron que la remoción de N por la DNF representaría entorno al 1% respecto al proceso acoplado. Por su parte, en el Golfo de México, esta vía representó entre el 86 y 95% de la DNF total (Gihring et al., 2010). Por lo tanto, es necesario llevar a cabo experimentos a futuro que permitan estimar la contribución de este acoplamiento en los sedimentos de la Bahía de San Quintín.

Junto con un suministro de NO_3^- , los desnitrificantes heterótrofos también dependen de la disponibilidad de MO lábil (Devol, 2015). La carga de MO aumenta el metabolismo de los sedimentos y, consecuentemente, la respiración aeróbica puede alterar la profundidad de penetración del O_2 (Hoffman et al., 2019). Esto, posiblemente, explique la evolución de la DNF en los sedimentos examinados (Fig. 8A), la cual fue favorecida a medida que transcurría el tiempo de incubación. Sin embargo, dada la alta eficiencia en la remineralización de la MO más lábil que ofrecen los sedimentos permeables (Ibarra-Obando et al., 2004), el uso de sistemas de flujo continuo en este tipo de sustrato podría subestimar los flujos bentónicos y las tasas de los procesos heterótrofos del ciclo del N en los primeros instantes de la incubación (Robertson et al., 2019).

8. Conclusiones

En este trabajo se ha empleado una técnica revisada de emparejamiento isotópico (R-IPT-DNRA), lo que ha permitido la medición simultánea de las tasas de DNF, N₂O-DNF, DNRA y ANX en núcleos de sedimentos intactos de la Bahía de San Quintín, utilizando un sistema de flujo continuo. Además, ha sido la primera vez que esta metodología se ha aplicado para evaluar el impacto de la ostricultura en los procesos del ciclo del N microbiano. Sin embargo, las restricciones metodológicas de la IPT (Robertson et al., 2019) ponen de relieve la necesidad de contrastar nuestros resultados con el proceso acoplado de la nitrificación-DNF, para una interpretación más amplia y consistente de los datos obtenidos.

Los flujos de nutrientes pueden considerarse como indicadores de procesos microbianos. Aunque en este trabajo no hubo diferencias en el metabolismo bentónico entre la zona expuesta a la ostricultura (BF) con respecto a zonas prístinas (BSQP), es claro, atendiendo a los flujos como O₂ y NH₄⁺, que las comunidades microbianas superficiales responden eficientemente a la disponibilidad de la MO.

En la bahía de San Quintín, un ecosistema costero dominado por pastos marinos, la ANX se presenta como la principal ruta que remueve el N reactivo, por encima de la DNF. La contribución de la DNRA sugiere que este proceso preserva parte del N en el sistema. La producción de N₂O representó una proporción típica de la DNF, pero las tasas absolutas fueron bajas en comparación con otros ecosistemas costeros debido a que la DNF presentó una baja actividad. Por lo tanto, aunque la Bahía de San Quintín se comportó como fuente neta de N₂O (9.25 ± 1.85 kg de N₂O año⁻¹), el ecosistema en su conjunto y la actividad ostrícola en particular (15.03 kg de N₂O año⁻¹), mostraron un impacto relativo muy reducido en lo referente a las emisiones de este gas de efecto invernadero.

La acumulación de biodepositos no produjo un cambio notorio en las tasas de recirculación/salida de N inorgánico en los sedimentos prístinos. La MO lábil depositada superficialmente es rápidamente respirada en la zona superficial de los sedimentos, por lo que solo una pequeña fracción de esta puede alcanzar los horizontes subóxicos y anóxicos. Por lo tanto, el potencial de eliminación de N reactivo a través de la producción de N₂ en los sedimentos analizados estuvo presumiblemente limitado por la biodisponibilidad de MO. Esto indica que estas comunidades, que se encuentran en los segmentos subsuperficiales, se adaptan para procesar la MO de naturaleza más refractaria de su entorno. En definitiva, este estudio aporta novedosas perspectivas sobre el ciclo del N microbiano en ecosistemas costeros que albergan la actividad ostrícola.

9. Referencias

- Aoki, L. R., & McGlathery, K. J. (2017). Push-pull incubation method reveals the importance of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in seagrass root zone. *Limnology and Oceanography: Methods*, *15*(9), 766–781. <https://doi.org/10.1002/lom3.10197>
- Apostolaki, E. T., Holmer, M., Marbà, N., & Karakassis, I. (2010). Degrading seagrass (*Posidonia oceanica*) ecosystems: a source of dissolved matter in the Mediterranean. *Hydrobiologia*, *649*(1), 13–23. <https://doi.org/10.1007/s10750-010-0255-2>
- An, S., & Gardner, W. (2002). Dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) as a nitrogen link, versus denitrification as a sink in a shallow estuary (Laguna Madre/Baffin Bay, Texas). *Marine Ecology Progress Series*, *237*, 41–50. <https://doi.org/10.3354/meps237041>
- Arnosti, C., & Holmer, M. (2003). Carbon cycling in a continental margin sediment: contrasts between organic matter characteristics and remineralization rates and pathways. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *58*(1), 197–208. [https://doi.org/10.1016/S0272-7714\(03\)00077-5](https://doi.org/10.1016/S0272-7714(03)00077-5)
- Aveytua-Alcazar, L., Melaku Canu, D., Camacho-Ibar, V. F., & Solidoro, C. (2020). Changes in upwelling regimes in a Mediterranean-type lagoon: A model application. *Ecological Modelling*, *418*, 108908. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.108908>
- Ávila-López, M. C., Hernández-Ayón, J. M., Camacho-Ibar, V. F., Bermúdez, A. F., Mejía-Trejo, A., Pacheco-Ruiz, I., & Sandoval-Gil, J. M. (2017). Air–Water CO₂ Fluxes and Net Ecosystem Production Changes in a Baja California Coastal Lagoon During the Anomalous North Pacific Warm Condition. *Estuaries and Coasts*, *40*(3), 792–806. <https://doi.org/10.1007/s12237-016-0178-x>
- Ayvazian, S. G., Ray, N. E., Gerber-Williams, A., Grabbert, S., Pimenta, A., Hancock, B., Cobb, D., Strobel, C., & Fulweiler, R. W. (2022). Evaluating Connections Between Nitrogen Cycling and

- the Macrofauna in Native Oyster Beds in a New England Estuary. *Estuaries and Coasts*, 45(1), 196–212. <https://doi.org/10.1007/s12237-021-00954-x>
- Babbin, A. R., Keil, R. G., Devol, A. H., & Ward, B. B. (2014). Organic Matter Stoichiometry, Flux, and Oxygen Control Nitrogen Loss in the Ocean. *Science*, 344(6182), 406–408. <https://doi.org/10.1126/science.1248364>
- Babbin, A. R., & Ward, B. B. (2013). Controls on nitrogen loss processes in Chesapeake Bay sediments. *Environmental Science and Technology*, 47(9), 4189–4196. <https://doi.org/10.1021/es304842r>
- Bonaglia, S., Klawonn, I., De Brabandere, L., Deutsch, B., Thamdrup, B., & Brüchert, V. (2016). Denitrification and DNRA at the Baltic Sea oxic–anoxic interface: Substrate spectrum and kinetics. *Limnology and Oceanography*, 61(5), 1900–1915. <https://doi.org/10.1002/lno.10343>
- Boynton, W. R., Ceballos, M. A. C., Bailey, E. M., Hodgkins, C. L. S., Humphrey, J. L., & Testa, J. M. (2018). Oxygen and Nutrient Exchanges at the Sediment-Water Interface: a Global Synthesis and Critique of Estuarine and Coastal Data. *Estuaries and Coasts*, 41(2), 301–333. <https://doi.org/10.1007/s12237-017-0275-5>
- Bu, C., Wang, Y., Ge, C., Ahmad, H. A., Gao, B., & Ni, S.-Q. (2017). Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium in the Yellow River Estuary: Rates, Abundance, and Community Diversity. *Scientific Reports*, 7(1), 6830. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06404-8>
- Burdige, D. J., & Zheng, S. (1998). The biogeochemical cycling of dissolved organic nitrogen in estuarine sediments. *Limnology and Oceanography*, 43(8), 1796–1813. <https://doi.org/10.4319/lo.1998.43.8.1796>

- Camacho-Ibar, V. F., Carriquiry, J. D., & Smith, S. V. (2003). Non-conservative P and N Fluxes and Net Ecosystem Production. *Estuarine Research Federation Estuaries*, 26(5), 1220–1237. <http://www>.
- Canfield, D. E., Glazer, A. N., & Falkowski, P. G. (2010). The Evolution and Future of Earth's Nitrogen Cycle. *Science*, 330(6001), 192–196. <https://doi.org/10.1126/science.1186120>
- Carlsson, M., Engström, P., Lindahl, O., Ljungqvist, L., Petersen, J., Svanberg, L., & Holmer, M. (2012). Effects of mussel farms on the benthic nitrogen cycle on the Swedish west coast. *Aquaculture Environment Interactions*, 2(2), 177–191. <https://doi.org/10.3354/aei00039>
- Carreira, C., Pauleta, S. R., & Moura, I. (2017). The catalytic cycle of nitrous oxide reductase — The enzyme that catalyzes the last step of denitrification. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 177, 423–434. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.09.007>
- Caso, M., González-Abraham, C., & Ezcurra, E. (2007). Divergent ecological effects of oceanographic anomalies on terrestrial ecosystems of the Mexican Pacific coast. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(25), 10530–10535. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701862104>
- Chávez-Villalba, J. (2014). Culture of the oyster *Crassostrea gigas*: Analysis of 40 years of activities in Mexico. *Hidrobiológica*, 24(3), 175–190. ISSN 0188-8897.
- Chen, X., Liu, L., Bi, Y., Meng, F., Wang, D., Qiu, C., Yu, J., & Wang, S. (2023). A review of anammox metabolic response to environmental factors: Characteristics and mechanisms. *Environmental Research*, 223, 115464. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115464>
- Christensen, P., Rysgaard, S., Sloth, N., Dalsgaard, T., & Schwærter, S. (2000). Sediment mineralization, nutrient fluxes, denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium

in an estuarine fjord with sea cage trout farms. *Aquatic Microbial Ecology*, 21, 73–84.
<https://doi.org/10.3354/ame021073>

Comisión Nacional De Acuicultura Y Pesca. (2019). In *Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2019*. https://nube.conapesca.gob.mx/sites/cona/dgppe/2019/ANUARIO_ESTADISTICO_DE_ACUACULTURA_Y_PESCA_2019.pdf

Daesslé, L. W., Rendón-Márquez, G., Camacho-Ibar, V. F., Gutiérrez-Galindo, E. A., Shumilin, E., & Ortiz-Campos, E. (2009). Geochemistry of modern sediments from San Quintín coastal lagoon, Baja California: Implication for provenance. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 26(1), 117–132.

Daims, H., Lücker, S., & Wagner, M. (2016). A New Perspective on Microbes Formerly Known as Nitrite-Oxidizing Bacteria. *Trends in Microbiology*, 24(9), 699–712.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.05.004>

Dalsgaard, T., Nielsen, L. P., Brotas, V., Viaroli, P., Underwood, G. J. C., Nedwell, D. B., Sundbäck, K., Rysgaard, S., Miles, A., Bartoli, M., Dong, L., Thomson, D. C. O., Ottosen, L. D. M., Castaldelli, G., & Risgaard-Petersen, N. (2000). *Protocol handbook for NICE-Nitrogen cycling in estuaries: A project under the EU research programme*.
<https://www.researchgate.net/publication/285706295>

Damashek, J., & Francis, C. A. (2018). Microbial Nitrogen Cycling in Estuaries: From Genes to Ecosystem Processes. *Estuaries and Coasts*, 41(3), 626–660. <https://doi.org/10.1007/s12237-017-0306-2>

Devol, A. H. (2015). Denitrification, anammox, and N₂ production in marine sediments. *Annual Review of Marine Science*, 7, 403–423. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010213-135040>

- Elser, J. J., Bracken, M. E. S., Cleland, E. E., Gruner, D. S., Harpole, W. S., Hillebrand, H., Ngai, J. T., Seabloom, E. W., Shurin, J. B., & Smith, J. E. (2007). Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, *10*(12), 1135–1142. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01113.x>
- Emery, K. A., Wilkinson, G. M., Camacho-Ibar, V. F., Pace, M. L., McGlathery, K. J., Sandoval-Gil, J. M., & Hernández-López, J. (2016). Resource Use of an Aquacultured Oyster (*Crassostrea gigas*) in the Reverse Estuary Bahía San Quintín, Baja California, México. *Estuaries and Coasts*, *39*(3), 866–874. <https://doi.org/10.1007/s12237-015-0021-9>
- Enrich-Prast, A., Santoro, A. L., Coutinho, R. S., Nielsen, L. P., & Esteves, F. A. (2016). Sediment Denitrification in Two Contrasting Tropical Shallow Lagoons. *Estuaries and Coasts*, *39*(3), 657–663. <https://doi.org/10.1007/s12237-015-0017-5>
- Erler, D. V., Welsh, D. T., Bennet, W. W., Meziane, T., Hubas, C., Nizzoli, D., & Ferguson, A. J. P. (2017). The impact of suspended oyster farming on nitrogen cycling and nitrous oxide production in a sub-tropical Australian estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *192*, 117–127. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.05.007>
- Eyre, B. D., Rysgaard, S., Dalsgaard, T., & Christensen, P. B. (2002). Comparison of isotope pairing and N₂:Ar methods for measuring sediment denitrification—Assumption, modifications, and implications. *Estuaries*, *25*(6), 1077–1087. <https://doi.org/10.1007/BF02692205>
- Falkowski, P. G. (1997). Evolution of the nitrogen cycle and its influence on the biological sequestration of CO₂ in the ocean. *Nature*, *387*(6630), 272–275. <https://doi.org/10.1038/387272a0>
- FAO. (2022). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. In *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461es>

- Folk, R. L., & Ward, W. C. (1957). Brazos River bar [Texas]; a study in the significance of grain size parameters. In *Journal of Sedimentary Research*, 27(1), 3–26. <https://doi.org/10.1306/74D70646-2B21-11D7-8648000102C1865D>
- Fozia, Zheng, Y., Hou, L., Zhang, Z., Chen, F., Gao, D., Yin, G., Han, P., Dong, H., Liang, X., Yang, Y., & Liu, M. (2020). Anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacterial diversity, abundance, and activity in sediments of the Indus Estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 243, 106925. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2020.106925>
- Francis, C. A., Beman, J. M., & Kuypers, M. M. M. (2007). New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation. *The ISME Journal*, 1(1), 19–27. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.8>
- Gaertner-Mazouni, N., Lacoste, E., Bodoy, A., Peacock, L., Rodier, M., Langlade, M.-J., Orepuller, J., & Charpy, L. (2012). Nutrient fluxes between water column and sediments: Potential influence of the pearl oyster culture. *Marine Pollution Bulletin*, 65(10–12), 500–505. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.02.013>
- García-Esquivel, Z., González-Gómez, M., Ley-Lou, F., & Mejía-Trejo, A. (2004). Oyster culture potential in the west arm of San Quintín Bay: Current biomass and preliminary estimate of the carrying capacity. *Ciencias Marinas*, 30(1A), 61–74. <https://doi.org/10.7773/cm.v30i11.120>
- Gardner, W. S., McCarthy, M. J., An, S., Sobolev, D., Sell, K. S., & Brock, D. (2006). Nitrogen fixation and dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) support nitrogen dynamics in Texas estuaries. *Limnology and Oceanography*, 51(1part2), 558–568. https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.1_part_2.0558
- Giblin, A. E., Tobias, C. R., Song, B., Weston, N., Banta, G. T., & Rivera-Monroy, V. H. (2013). The importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) in the nitrogen cycle of coastal ecosystems. *Oceanography*, 26(3), 124–131. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2013.54>

- Gihring, T. M., Lavik, G., Kuypers, M. M. M., & Kostka, J. E. (2010). Direct determination of nitrogen cycling rates and pathways in Arctic fjord sediments (Svalbard, Norway). *Limnology and Oceanography*, 55(2), 740–752. <https://doi.org/10.4319/lo.2010.55.2.0740>
- Gracia-Escobar, M. F., Millán-Núñez, R., González-Silvera, A., Santamaría-del-Ángel, E., Camacho-Ibar, V. F., & Trees, C. C. (2014). Changes in the Abundance and Composition of Phytoplankton in a Coastal Lagoon during Neap-Spring Tide Conditions. *Open Journal of Marine Science*, 04(02), 80–100. <https://doi.org/10.4236/ojms.2014.42010>
- Gracia-Escobar, M. F., Millán-Núñez, R., Valenzuela-Espinoza, E., González-Silvera, A., & Santamaría-del-Ángel, E. (2015). Changes in the Composition and Abundance of Phytoplankton in a Coastal Lagoon of Baja California, México, during 2011. *Open Journal of Marine Science*, 05(02), 169–181. <https://doi.org/10.4236/ojms.2015.52014>
- Hardison, A. K., Algar, C. K., Giblin, A. E., & Rich, J. J. (2015). Influence of organic carbon and nitrate loading on partitioning between dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) and N₂ production. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 164, 146–160. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2015.04.049>
- Harris, D., Horwáth, W. R., & van Kessel, C. (2001). Acid fumigation of soils to remove carbonates prior to total organic carbon or CARBON-13 isotopic analysis. *Soil Science Society of America Journal*, 65(6), 1853–1856. <https://doi.org/10.2136/sssaj2001.1853>
- He, Y., Mao, H., Makinia, J., Drewnowski, J., Wu, B., Xu, J., Xie, L., & Lu, X. (2023). Impact of soluble organic matter and particulate organic matter on anammox system: Performance, microbial community and N₂O production. *Journal of Environmental Sciences*, 124, 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2021.11.007>

- Higgins, C., Tobias, C., Piehler, M., Smyth, A., Dame, R., Stephenson, K., & Brown, B. (2013). Effect of aquacultured oyster biodeposition on sediment N₂ production in Chesapeake Bay. *Marine Ecology Progress Series*, 473, 7–27. <https://doi.org/10.3354/meps10062>
- Hillman, J. R., Stephenson, F., Thrush, S. F., & Lundquist, C. J. (2020). Investigating changes in estuarine ecosystem functioning under future scenarios. *Ecological Applications*, 30(4). <https://doi.org/10.1002/eap>
- Hoellein, T. J., Zarnoch, C. B., & Grizzle, R. E. (2015). Eastern oyster (*Crassostrea virginica*) filtration, biodeposition, and sediment nitrogen cycling at two oyster reefs with contrasting water quality in Great Bay Estuary (New Hampshire, USA). *Biogeochemistry*, 122(1), 113–129. <https://doi.org/10.1007/s10533-014-0034-7>
- Hoffman, D. K., McCarthy, M. J., Newell, S. E., Gardner, W. S., Niewinski, D. N., Gao, J., & Mutchler, T. R. (2019). Relative Contributions of DNRA and Denitrification to Nitrate Reduction in *Thalassia testudinum* Seagrass Beds in Coastal Florida (USA). *Estuaries and Coasts*, 42(4), 1001–1014. <https://doi.org/10.1007/s12237-019-00540-2>
- Huang, F., Lin, X., Hu, W., Zeng, F., He, L., & Yin, K. (2021). Nitrogen cycling processes in sediments of the Pearl River Estuary: Spatial variations, controlling factors, and environmental implications. *Catena*, 206. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2021.105545>
- Huettel, M., Berg, P., & Kostka, J. E. (2014). Benthic Exchange and Biogeochemical Cycling in Permeable Sediments. *Annual Review of Marine Science*, 6(1), 23–51. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-051413-012706>
- Humphries, A. T., Ayvazian, S. G., Carey, J. C., Hancock, B. T., Grabbert, S., Cobb, D., Strobel, C. J., & Fulweiler, R. W. (2016). Directly measured denitrification reveals oyster aquaculture and restored oyster reefs remove nitrogen at comparable high rates. *Frontiers in Marine Science*, 3(MAY). <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00074>

- Hydes, J. D., Aoyama, M., Aminot, A., Bakker, K., Becker, S., Coverly, S., Daniel, A., Dickson, A. G., Grosso, O., Kerouel, R., van Ooijen, J., Sato, K., Tanhua, T., Woodward, E. M. S., & Zhang, J. Z. (2010). Determination of dissolved nutrients (N, P, Si) in seawater with high precision and inter-comparability using gas-segmented continuous flow analysers. *Go - SHIP*. <https://www.researchgate.net/publication/48382880>
- Ibarra-Obando, S., Smith, S., Poumian-Tapia, M., Camacho-Ibar, V., Carriquiry, J., & Montes-Hugo, M. (2004). Benthic metabolism in San Quintin Bay, Baja California, Mexico. *Marine Ecology Progress Series*, 283, 99–112. <https://doi.org/10.3354/meps283099>
- Jacox, M. G., Alexander, M. A., Mantua, N. J., Scott, J. D., Hervieux, G., Webb, R. S., & Werner, F. E. (2018). Forcing of Multiyear Extreme Ocean Temperatures that Impacted California Current Living Marine Resources in 2016. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 99(1), S27–S33. <https://doi.org/10.1175/BAMS-D-17-0119.1>
- Jääntti, H., Aalto, S. L., & Paerl, H. W. (2021). Effects of Ferrous Iron and Hydrogen Sulfide on Nitrate Reduction in the Sediments of an Estuary Experiencing Hypoxia. *Estuaries and Coasts*, 44(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s12237-020-00783-4>
- Jiang, S., Kavanagh, M., Ibánhez, J. S. P., & Rocha, C. (2021). Denitrification-nitrification process in permeable coastal sediments: An investigation on the effect of salinity and nitrate availability using flow-through reactors. *Acta Oceanologica Sinica*, 40(9), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s13131-021-1811-5>
- Jin, Q., Lu, J., Wu, J., & Luo, Y. (2017). Simultaneous removal of organic carbon and nitrogen pollutants in the Yangtze estuarine sediment: The role of heterotrophic nitrifiers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 191, 150–156. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.04.019>

- Jones, D. L., & Willett, V. B. (2006). Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(5), 991–999. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.08.012>
- Jordan, M. A., Welsh, D. T., Dunn, R. J. K., & Teasdale, P. R. (2009). Influence of *Trypaea australiensis* population density on benthic metabolism and nitrogen dynamics in sandy estuarine sediment: A mesocosm simulation. *Journal of Sea Research*, 61(3), 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2008.11.003>
- Kamann, P. J., Ritzi, R. W., Dominic, D. F., & Conrad, C. M. (2007). Porosity and Permeability in Sediment Mixtures. *Groundwater*, 45(4), 429–438. <https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.2007.00313.x>
- Kellogg, M., Cornwell, J., Owens, M., & Paynter, K. (2013). Denitrification and nutrient assimilation on a restored oyster reef. *Marine Ecology Progress Series*, 480, 1–19. <https://doi.org/10.3354/meps10331>
- Kraft, B., Tegetmeyer, H. E., Sharma, R., Klotz, M. G., Ferdelman, T. G., Hettich, R. L., Geelhoed, J. S., & Strous, M. (2014). The environmental controls that govern the end product of bacterial nitrate respiration. *Science*, 345(6197), 676–679. <https://doi.org/10.1126/science.1254070>
- Kuypers, M. M. M., Marchant, H. K., & Kartal, B. (2018). The microbial nitrogen-cycling network. *Nature Reviews Microbiology*, 16(5), 263–276. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.9>
- Labrie, M. S., Sundermeyer, M. A., & Howes, B. L. (2023). Quantifying the Effects of Floating Oyster Aquaculture on Nitrogen Cycling in a Temperate Coastal Embayment. *Estuaries and Coasts*, 46(2), 494–511. <https://doi.org/10.1007/s12237-022-01133-2>

- Largier, J. L. (2020). Upwelling Bays: How Coastal Upwelling Controls Circulation, Habitat, and Productivity in Bays. *Annual Review of Marine Science*, 12(1), 415–447. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010419-011020>
- Le Moal, M., Gascuel-Oudou, C., Ménesguen, A., Souchon, Y., Étrillard, C., Levain, A., Moatar, F., Pannard, A., Souchu, P., Lefebvre, A., & Pinay, G. (2019). Eutrophication: A new wine in an old bottle? *Science of The Total Environment*, 651, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.139>
- Li, S., Jiang, Z., & Ji, G. (2022). Effect of sulfur sources on the competition between denitrification and DNRA. *Environmental Pollution*, 305, 119322. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119322>
- Li, S., & Twilley, R. R. (2021). Nitrogen Dynamics of Inundated Sediments in an Emerging Coastal Deltaic Floodplain in Mississippi River Delta Using Isotope Pairing Technique to Test Response to Nitrate Enrichment and Sediment Organic Matter. *Estuaries and Coasts*, 44(7), 1899–1915. <https://doi.org/10.1007/s12237-021-00913-6>
- Lunstrum, A., McGlathery, K., & Smyth, A. (2018). Oyster (*Crassostrea virginica*) Aquaculture Shifts Sediment Nitrogen Processes toward Mineralization over Denitrification. *Estuaries and Coasts*, 41(4), 1130–1146. <https://doi.org/10.1007/s12237-017-0327-x>
- Ma, J., Li, P., Lin, K., Chen, Z., Chen, N., Liao, K., & Yuan, D. (2018). Optimization of a salinity-interference-free indophenol method for the determination of ammonium in natural waters using o-phenylphenol. *Talanta*, 179, 608–614. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.11.069>
- Marchant, H. K., Holtappels, M., Lavik, G., Ahmerkamp, S., Winter, C., & Kuypers, M. M. M. (2016). Coupled nitrification–denitrification leads to extensive N loss in subtidal permeable sediments. *Limnology and Oceanography*, 61(3), 1033–1048. <https://doi.org/10.1002/lno.10271>

- Marie Booth, J., Fusi, M., Marasco, R., Michoud, G., Fodelianakis, S., Merlino, G., & Daffonchio, D. (2019). The role of fungi in heterogeneous sediment microbial networks. *Scientific Reports*, *9*(1), 7537. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43980-3>
- Massey, B. W., & Palacios, E. (1994). Avifauna of the wetlands of Baja California, Mexico: Current status. *Studies in Avian Biology*, *15*, 45–57.
- McCarl, B. A., & Schneider, U. A. (2001). Greenhouse Gas Mitigation in U.S. Agriculture and Forestry. *Science*, *294*(5551), 2481–2482. <https://doi.org/10.1126/science.1064193>
- Melaku Canu, D., Aveytua-Alcázar, L., Camacho-Ibar, V. F., Querin, S., & Solidoro, C. (2016). Hydrodynamic properties of San Quintin Bay, Baja California: Merging models and observations. *Marine Pollution Bulletin*, *108*(1–2), 203–214. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.04.030>
- Miller-Way, T., & Willey, R. R. (1996). Theory and operation of continuous flow systems for the study of benthic-pelagic coupling. *Marine Ecology Progress Series*, *140*, 257–269.
- Moore, C. M., Mills, M. M., Arrigo, K. R., Berman-Frank, I., Bopp, L., Boyd, P. W., Galbraith, E. D., Geider, R. J., Guieu, C., Jaccard, S. L., Jickells, T. D., La Roche, J., Lenton, T. M., Mahowald, N. M., Marañón, E., Marinov, I., Moore, J. K., Nakatsuka, T., Oschlies, A., ... Ulloa, O. (2013). Processes and patterns of oceanic nutrient limitation. *Nature Geoscience*, *6*(9), 701–710. <https://doi.org/10.1038/ngeo1765>
- Murphy, A. E., Anderson, I. C., Smyth, A. R., Song, B., & Luckenbach, M. W. (2016). Microbial nitrogen processing in hard clam (*Mercenaria mercenaria*) aquaculture sediments: the relative importance of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA). *Limnology and Oceanography*, *61*(5), 1589–1604. <https://doi.org/10.1002/lno.10305>

- Murphy, A. E., Nizzoli, D., Bartoli, M., Smyth, A. R., Castaldelli, G., & Anderson, I. C. (2018). Variation in benthic metabolism and nitrogen cycling across clam aquaculture sites. *Marine Pollution Bulletin*, 127, 524–535. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.003>
- Murray, R. H., Erler, D. V., & Eyre, B. D. (2015). Nitrous oxide fluxes in estuarine environments: response to global change. *Global Change Biology*, 21(9), 3219–3245. <https://doi.org/10.1111/gcb.12923>
- Myhre, G., Shindell, D., Bréon, F., Collins, W., Fuglestedt, J., Huang, J., Koch, D., Lamarque, J., Lee, D., Mendoza, B., Nakajima, T., Robock, A., Stephens, G., Takemura, T., Zhang, H., Qin, D., Plattner, G., Tignor, M., Allen, S., ... Midgley, P. (2013). *Anthropogenic and Natural Radiative Forcing. In Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/02/WG1AR5_Chapter08_FINAL.pdf
- Nielsen, L. P. (1992). Denitrification in sediment determined from nitrogen isotope pairing. *FEMS Microbiology Letters*, 86(4), 357–362. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb04828.x>
- Nizzoli, D., Welsh, D., Fano, E., & Viaroli, P. (2006). Impact of clam and mussel farming on benthic metabolism and nitrogen cycling, with emphasis on nitrate reduction pathways. *Marine Ecology Progress Series*, 315, 151–165. <https://doi.org/10.3354/meps315151>
- Nizzoli, D., Bartoli, M., & Viaroli, P. (2007). Oxygen and ammonium dynamics during a farming cycle of the bivalve *Tapes philippinarum*. *Hydrobiologia*, 587(1), 25–36. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-0683-9>
- Otte, J. M., Blackwell, N., Ruser, R., Kappler, A., Kleindienst, S., & Schmidt, C. (2019). N₂O formation by nitrite-induced (chemo)denitrification in coastal marine sediment. *Scientific Reports*, 9(1), 10691. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47172-x>

- Portmann, R. W., Daniel, J. S., & Ravishankara, A. R. (2012). Stratospheric ozone depletion due to nitrous oxide: Influences of other gases. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1593), 1256–1264. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0377>
- Prather, M. J., Hsu, J., DeLuca, N. M., Jackman, C. H., Oman, L. D., Douglass, A. R., Fleming, E. L., Strahan, S. E., Steenrod, S. D., Søvdde, O. A., Isaksen, I. S. A., Froidevaux, L., & Funke, B. (2015). Measuring and modeling the lifetime of nitrous oxide including its variability. *Journal of Geophysical Research*, 120(11), 5693–5705. <https://doi.org/10.1002/2015JD023267>
- Ray, N. E., & Fulweiler, R. W. (2021). Meta-analysis of oyster impacts on coastal biogeochemistry. *Nature Sustainability*, 4(3), 261–269. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-00644-9>
- Ray, N. E., Hancock, B., Brush, M. J., Colden, A., Cornwell, J., Labrie, M. S., Maguire, T. J., Maxwell, T., Rogers, D., Stevick, R. J., Unruh, A., Kellogg, M. L., Smyth, A. R., & Fulweiler, R. W. (2021). A review of how we assess denitrification in oyster habitats and proposed guidelines for future studies. In *Limnology and Oceanography: Methods* (Vol. 19, Issue 10, pp. 714–731). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/lom3.10456>
- Ray, N. E., Maguire, T. J., Al-Haj, A. N., Henning, M. C., & Fulweiler, R. W. (2019). Low Greenhouse Gas Emissions from Oyster Aquaculture. *Environmental Science & Technology*, 53(15), 9118–9127. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02965>
- Ribas-Ribas, M., Hernández-Ayón, J. M., Camacho-Ibar, V. F., Cabello-Pasini, A., Mejia-Trejo, A., Durazo, R., Galindo-Bect, S., Souza, A. J., Forja, J. M., & Siqueiros-Valencia, A. (2011). Effects of upwelling, tides and biological processes on the inorganic carbon system of a coastal lagoon in Baja California. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 95(4), 367–376. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2011.09.017>

- Risgaard-Petersen, N., & Rysgaard, S. (1995). Nitrate Reduction in Sediments and Waterlogged Soil Measured by ^{15}N Techniques. In K. Alef, & P. Nannipieri (Eds.), *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry* (pp. 287-295). Academic Press
- Risgaard-Petersen, N., Nielsen, L. P., Rysgaard, S., Dalsgaard, T., & Meyer, R. L. (2003). Application of the IPT in sediment where Anammox and Denitrification coexist. *Limnology and Oceanography: Methods, I*, 63–73.
- Robertson, E. K., Bartoli, M., Brüchert, V., Dalsgaard, T., Hall, P. O. J., Hellemann, D., Hietanen, S., Zilius, M., & Conley, D. J. (2019). Application of the isotope pairing technique in sediments: Use, challenges, and new directions. *Limnology and Oceanography: Methods*, 17(2), 112–136. <https://doi.org/10.1002/lom3.10303>
- Rose, J. M., Gosnell, J. S., Bricker, S., Brush, M. J., Colden, A., Harris, L., Karplus, E., Laferriere, A., Merrill, N. H., Murphy, T. B., Reitsma, J., Shockley, J., Stephenson, K., Theuerkauf, S., Ward, D., Fulweiler, R. W., & Heck, K. L. (2021). Opportunities and Challenges for Including Oyster-Mediated Denitrification in Nitrogen Management Plans. *Estuaries and Coasts*, 44, 2041–2055. <https://doi.org/10.1007/s12237-021-00936-z>
- Salk, K. R., Erler, D. V., Eyre, B. D., Carlson-Perret, N., & Ostrom, N. E. (2017). Unexpectedly high degree of anammox and DNRA in seagrass sediments: Description and application of a revised isotope pairing technique. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 211, 64–78. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2017.05.012>
- Sandoval-Gil, J. M., del Carmen Ávila-López, M., Camacho-Ibar, V. F., Hernández-Ayón, J. M., Zertuche-González, J. A., & Cabello-Pasini, A. (2019). Regulation of Nitrate Uptake by the Seagrass *Zostera marina* During Upwelling. *Estuaries and Coasts*, 42(3), 731–742. <https://doi.org/10.1007/s12237-019-00523-3>

- Secretaría de la Convención de Ramsar. (2013). *Manual de la Convencion de Ramsar: Guía a la Convención sobre humedales (Ramsar, Irán, 1971.*
<https://www.ramsar.org/sites/default/files/documents/library/manual6-2013-sp.pdf>
- Smith, P., Martino, D., Cai, Z., Gwary, D., Janzen, H., Kumar, P., McCarl, B., Ogle, S., O'Mara, F., Rice, C., Scholes, B., Sirotenko, O., Howden, M., McAllister, T., Pan, G., Romanenkoy, V., Schneider, U., Towprayoon, S., Wattenbach, M., & Smith, J. (2008). Greenhouse gas mitigation in agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1492), 789–813. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2184>
- Smyth, A. R., Murphy, A. E., Anderson, I. C., & Song, B. (2018). Differential Effects of Bivalves on Sediment Nitrogen Cycling in a Shallow Coastal Bay. *Estuaries and Coasts*, 41(4), 1147–1163. <https://doi.org/10.1007/s12237-017-0344-9>
- Smyth, A. R., Piehler, M. F., & Grabowski, J. H. (2015). Habitat context influences nitrogen removal by restored oyster reefs. *Journal of Applied Ecology*, 52(3), 716–725. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12435>
- Smyth, A. R., Thompson, S. P., Siporin, K. N., Gardner, W. S., McCarthy, M. J., & Piehler, M. F. (2013). Assessing Nitrogen Dynamics Throughout the Estuarine Landscape. *Estuaries and Coasts*, 36(1), 44–55. <https://doi.org/10.1007/s12237-012-9554-3>
- Song, G. D., Liu, S. M., Kuypers, M. M. M., & Lavik, G. (2016). Application of the isotope pairing technique in sediments where anammox, denitrification, and dissimilatory nitrate reduction to ammonium coexist. *Limnology and Oceanography: Methods*, 14(12), 801–815. <https://doi.org/10.1002/lom3.10127>
- Song, G. D., Liu, S. M., Marchant, H., Kuypers, M. M. M., & Lavik, G. (2013). Anammox, denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in the East China Sea sediment. *Biogeosciences*, 10(11), 6851–6864. <https://doi.org/10.5194/bg-10-6851-2013>

- Stein, L. Y. (2019). Insights into the physiology of ammonia-oxidizing microorganisms. *Current Opinion in Chemical Biology*, 49, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.09.003>
- Stein, L. Y., & Yung, Y. L. (2003). Production, isotopic composition, and atmospheric fate of biologically produced nitrous oxide. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 31, 329–356. <https://doi.org/10.1146/annurev.earth.31.110502.080901>
- Steingruber, S. M., Friedrich, J., Gächter, R., & Wehrli, B. (2001). Measurement of Denitrification in Sediments with the ¹⁵N Isotope Pairing Technique. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(9), 3771–3778. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.9.3771-3778.2001>
- Tan, E., Zou, W., Jiang, X., Wan, X., Hsu, T.-C., Zheng, Z., Chen, L., Xu, M., Dai, M., & Kao, S. (2019). Organic matter decomposition sustains sedimentary nitrogen loss in the Pearl River Estuary, China. *Science of The Total Environment*, 648, 508–517. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.109>
- Tapia Vázquez, O. M., García Hiraes, R., & Sáenz Gaxiola, L. M. (2013). *Sistemas de cultivo para la producción de ostión en Baja California, México*. Centro Estatal de Sanidad Acuicola e Inocuidad de Baja California, A. C.
- Taylor, D. I., Oviatt, C. A., & Borkman, D. G. (2011). Non-linear Responses of a Coastal Aquatic Ecosystem to Large Decreases in Nutrient and Organic Loadings. *Estuaries and Coasts*, 34(4), 745–757. <https://doi.org/10.1007/s12237-010-9312-3>
- Teng, Z., Zhen, Y., Yu, Z., Mi, T., & Cai, T. (2022). Nitrogen-loss and associated microbial communities in sediments from the Yangtze Estuary and adjacent sea. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1078653>

- Thamdrup, B., & Dalsgaard, T. (2002). Production of N₂ through Anaerobic Ammonium Oxidation Coupled to Nitrate Reduction in Marine Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(3), 1312–1318. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.3.1312-1318.2002>
- Thompson, R. L., Lassaletta, L., Patra, P. K., Wilson, C., Wells, K. C., Gressent, A., Koffi, E. N., Chipperfield, M. P., Winiwarter, W., Davidson, E. A., Tian, H., & Canadell, J. G. (2019). Acceleration of global N₂O emissions seen from two decades of atmospheric inversion. *Nature Climate Change*, 9(12), 993–998. <https://doi.org/10.1038/s41558-019-0613-7>
- Tobias, C., Anderson, I., Canuel, E., & Macko, S. (2001). Nitrogen cycling through a fringing marsh-aquifer ecotone. *Marine Ecology Progress Series*, 210, 25–39. <https://doi.org/10.3354/meps210025>
- Trimmer, M., Engström, P., & Thamdrup, B. (2013). Stark Contrast in Denitrification and Anammox across the Deep Norwegian Trench in the Skagerrak. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(23), 7381–7389. <https://doi.org/10.1128/AEM.01970-13>
- Trimmer, M., Risgaard-Petersen, N., Nicholls, J., & Engström, P. (2006). Direct measurement of anaerobic ammonium oxidation (anammox) and denitrification in intact sediment cores. *Marine Ecology Progress Series*, 326, 37–47. <https://doi.org/10.3354/meps326037>
- Valiente, N., Jirsa, F., Hein, T., Wanek, W., Prommer, J., Bonin, P., & Gómez-Alday, J. J. (2022). The role of coupled DNRA-Anammox during nitrate removal in a highly saline lake. *Science of The Total Environment*, 806, 150726. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150726>
- van den Berg, E. M., van Dongen, U., Abbas, B., & van Loosdrecht, M. C. (2015). Enrichment of DNRA bacteria in a continuous culture. *The ISME Journal*, 9(10), 2153–2161. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.26>

- Verdugo, P. (2012). Marine Microgels. *Annual Review of Marine Science*, 4(1), 375–400. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120709-142759>
- Voss, M., Bange, H. W., Dippner, J. W., Middelburg, J. J., Montoya, J. P., & Ward, B. (2013). The marine nitrogen cycle: Recent discoveries, uncertainties and the potential relevance of climate change. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1621). <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0121>
- Ward, D. H., Morton, A., Tibbitts, T. L., Douglas, D. C., & Carrera-González, E. (2003). Long-term change in eelgrass distribution at Bahía San Quintín, Baja California, Mexico, using satellite imagery. *Estuaries*, 26(6), 1529–1539. <https://doi.org/10.1007/BF02803661>
- Watson, E. B., Hinojosa-Corona, A., Krause, J. R., Herguera, J. C., McDonnell, J., Villegas Manríquez, K. R. V., Gannon, M. E., & Gray, A. B. (2020). Lagoon Biogeochemical Processing is Reflected in Spatial Patterns of Sediment Stable Isotopic Ratios. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(11), 874. <https://doi.org/10.3390/jmse8110874>
- Welsh, D. T., Nizzoli, D., Fano, E. A., & Viaroli, P. (2015). Direct contribution of clams (*Ruditapes philippinarum*) to benthic fluxes, nitrification, denitrification and nitrous oxide emission in a farmed sediment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 154, 84–93. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2014.12.021>
- Williams, J., & Crutzen, P. J. (2010). Nitrous oxide from aquaculture. *Nature Geoscience*, 3(3), 143–143. <https://doi.org/10.1038/ngeo804>
- Wright, C. L., & Lehtovirta-Morley, L. E. (2023). Nitrification and beyond: metabolic versatility of ammonia oxidising archaea. *The ISME Journal*, 17(9), 1358–1368. <https://doi.org/10.1038/s41396-023-01467-0>

- Yin, G., Hou, L., Liu, M., Liu, Z., & Gardner, W. S. (2014). A novel membrane inlet mass spectrometer method to measure $^{15}\text{NH}_4^+$ for isotope-enrichment experiments in aquatic ecosystems. *Environmental Science and Technology*, 48(16), 9555–9562. <https://doi.org/10.1021/es501261s>
- Zertuche-González, J. A., Camacho-Ibar, V. F., Pacheco-Ruíz, I., Cabello-Pasini, A., Galindo-Bect, L. A., Guzmán-Calderón, J. M., Macias-Carranza, V., & Espinoza-Avalos, J. (2009). The role of *Ulva* spp. as a temporary nutrient sink in a coastal lagoon with oyster cultivation and upwelling influence. *Journal of Applied Phycology*, 21(6), 729–736. <https://doi.org/10.1007/s10811-009-9408-y>
- Zhang, X., Ward, B. B., & Sigman, D. M. (2020). Global Nitrogen Cycle: Critical Enzymes, Organisms, and Processes for Nitrogen Budgets and Dynamics. *Chemical Reviews*, 120(12), 5308–5351. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00613>
- Zhou, Y., Huang, M., Tian, H., Xu, R., Ge, J., Yang, X., Liu, R., Sun, Y., Pan, S., Gao, Q., & Dong, S. (2021). Four decades of nitrous oxide emission from Chinese aquaculture underscores the urgency and opportunity for climate change mitigation. *Environmental Research Letters*, 16(11). <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ac3177>

10. Material suplementario

Anexo 1: Cálculo de saturación de $^{15}\text{NO}_3^-$ y tiempo de residencia de los núcleos de incubación

El núcleo de sedimento (Figura S1) tiene una altura H de 30 cm y un diámetro D de 9.5 cm, el caudal de entrada (*in flow*) y salida (*out flow*) fue de 5.6 ml min^{-1} y una altura de la columna de agua h de $\pm 10 \text{ cm}$.

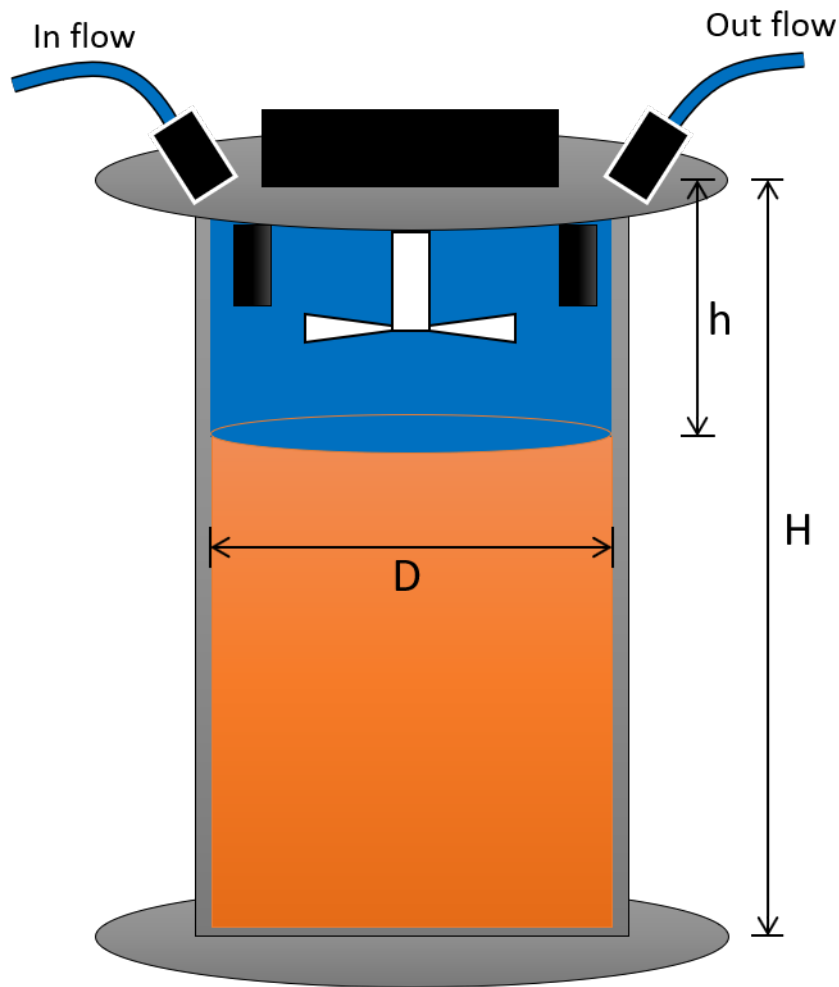
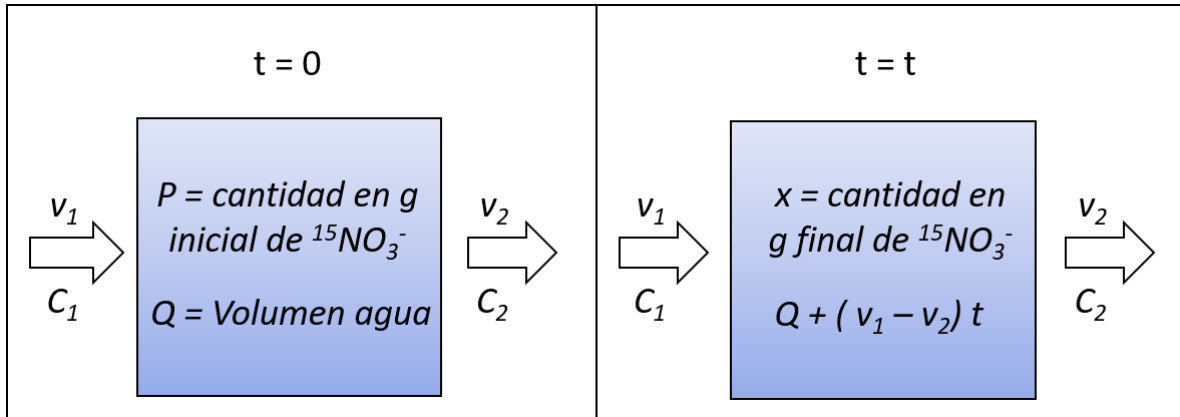


Figura S1. Esquema de los núcleos de sedimento.

Transformando este núcleo a un modelo sencillo de flujo se obtiene que:



Donde v_1 y C_1 corresponden al caudal y a la concentración de $^{15}\text{NO}_3^-$ por mililitro que entra al núcleo (*in flow*), v_2 y C_2 corresponden a la caudal y concentración de $^{15}\text{NO}_3^-$ por mililitro que sale del núcleo (*out flow*), P es la cantidad inicial en gramos de $^{15}\text{NO}_3^-$ del núcleo de sedimento y t corresponde al tiempo.

Sea $x(t)$ la cantidad en gramos de $^{15}\text{NO}_3^-$ en un instante t , de lo que se obtiene:

$$\frac{dx}{dt} = \text{Tasa de acumulacion}$$

$$= \text{Tasa de entrada de soluto} - \text{Tasa de salida de soluto}$$

$$\frac{dx}{dt} = v_1 \times C_1 - v_2 \times C_2 = v_1 \times C_1 - \left[v_2 \times \frac{x}{Q + (v_1 - v_2) \times t} \right]$$

De la cual se obtiene la ecuación diferencial de primer orden para el sistema:

$$\frac{dx}{dt} + \left[v_2 \times \frac{x}{Q + (v_1 - v_2) \times t} \right] = v_1 \times C_1$$

Como el caudal que entra y sale del núcleo es el mismo y no hay un sistema de recirculación, entonces $v_1 = v_2$:

$$\frac{dx}{dt} + \left[v_2 \times \frac{x}{Q} \right] = v_1 \times C_1$$

Resolviendo el sistema por el método de factor integrante:

$$p(t) = \frac{v_2}{Q}; q(t) = v_1 \times C_1$$

$$FI = e^{\int p(t) dt} = e^{\int \frac{v_2}{Q} dt} = e^{\frac{v_2}{Q} \times t}, \quad \text{luego}$$

$$x \times FI = \left[\int FI \times q(t) dt \right] + C, \quad \text{reemplazando}$$

$$x \times e^{\frac{v_2}{Q} \times t} = \left[\int e^{\frac{v_2}{Q} \times t} \times (v_1 \times C_1) dt \right] + C$$

$$x \times e^{\frac{v_2}{Q} \times t} = \left[(v_1 \times C_1) \times \left(\frac{Q}{v_2} \times e^{\frac{v_2}{Q} \times t} \right) \right] + C$$

$$x = C_1 \times Q + \left[C \times e^{-\frac{v_2}{Q} \times t} \right] \quad \text{Ecuación(1)}$$

Para $t = 0$ y $x = P$, la ecuación toma la siguiente forma $C = P - C_1 \times Q$, por lo tanto, la ecuación (1) toma la siguiente forma

$$x = C_1 \times Q + \left[(P - C_1 \times Q) \times e^{-\frac{v_2}{Q} \times t} \right], \quad \text{despejando } t$$

$$\text{Ln} \left| \frac{x - C_1 \times Q}{P - C_1 \times Q} \right| = -\frac{v_2}{Q} \times t$$

$$t = -\frac{Q}{v_2} \times \text{Ln} \left| \frac{x - C_1 \times Q}{P - C_1 \times Q} \right| \quad \text{Ecuación(2)}$$

La ecuación 2 es la que describe el sistema de flujo continuo, de aquí cuando x (cantidad de $^{15}\text{NO}_3^-$ dentro del núcleo a la que queremos llegar) es igual a $C_1 \times Q$ la ecuación tiende a infinito, por lo tanto, realizamos los cálculos hasta un 95% de la concentración final.

$Q = 0.709 \text{ l}$, volumen de agua del núcleo; $v_1 = v_2 = 5.6 \frac{\text{ml}}{\text{min}} = 0.336 \frac{\text{l}}{\text{h}}$, caudal;

$$x = 100 \mu\text{M} \times \frac{62 \mu\text{g } ^{15}\text{NO}_3^-}{1 \mu\text{mol } ^{15}\text{NO}_3^-} \times 0.709 \text{ l}$$

$$= 4395.8 \mu\text{g } ^{15}\text{NO}_3^-, \text{ total de nitrato marcado final}$$

$$P = 5.5 \mu\text{M} \times 0.36\% \times \frac{62 \mu\text{g } ^{15}\text{NO}_3^-}{1 \mu\text{mol } ^{15}\text{NO}_3^-} \times 0.709 \text{ l}$$

$$= 0.8704 \mu\text{g } ^{15}\text{NO}_3^-, \text{ aproximado de nitrato marcado en } t = 0$$

Retomando la ecuación 2 y reemplazando:

$$t = -\frac{0.709 \text{ l}}{0.336 \frac{\text{l}}{\text{h}}}$$

$$\times \text{Ln} \left| \frac{(0.95 \times 4395.8 \mu\text{g } ^{15}\text{NO}_3^-) - 100 \mu\text{M} \times \frac{62 \mu\text{g } ^{15}\text{NO}_3^-}{1 \mu\text{mol } ^{15}\text{NO}_3^-} \times 0.709 \text{ l}}{0.8704 \mu\text{g } ^{15}\text{NO}_3^- - 100 \mu\text{M} \times \frac{62 \mu\text{g } ^{15}\text{NO}_3^-}{1 \mu\text{mol } ^{15}\text{NO}_3^-} \times 0.709 \text{ l}} \right| = 6.32 \text{ h}$$

Este resultado es para un sistema en completo equilibrio, en el cual no se realiza un consumo o producción de nitrato marcado dentro del sistema (excluyente de microorganismos). Aunque esta es una aproximación bastante realista y es importante tenerla en cuenta para realizar las incubaciones, esto como un estimado del tiempo mínimo al que se debe tener las incubaciones con el isótopo marcado para garantizar la concentración de $^{15}\text{NO}_3^-$ requerida.

El tiempo de residencia se obtiene a partir de la siguiente ecuación:

$$R = \frac{V}{Q_n}$$

Donde el tiempo de residencia R es equivalente a la relación entre el volumen de agua V de mar dentro del núcleo con respecto al caudal Q_n de entrada al núcleo. El volumen de agua de mar del núcleo es de aproximadamente 0.709 l y el caudal de entrada fue de 5.6 ml min^{-1} , por lo que el tiempo de residencia es aproximadamente 2.11 horas.

Anexo 2

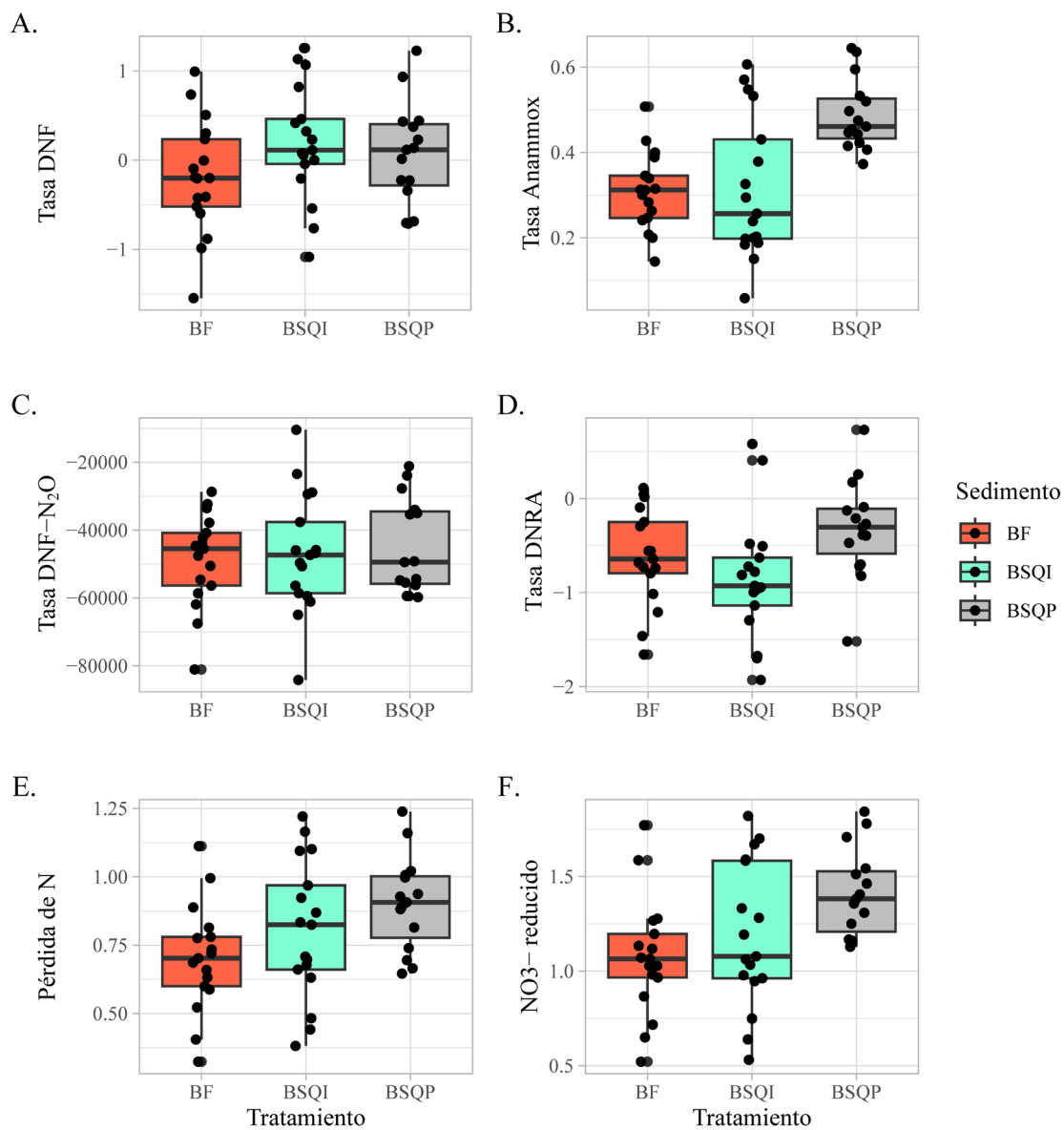


Figura S2. Gráficos de bigotes para las tasas de DNF (A), ANX (B), N₂O-DNF (C), DNRA (D), pérdida de N (E) y total de NO₃⁻ reducido (F) para BF, BSQI y BSQP. Las tasas aquí mostradas (n = 18), corresponden a los valores transformados para las pruebas estadísticas paramétricas, por lo que no corresponden a sus valores originales.

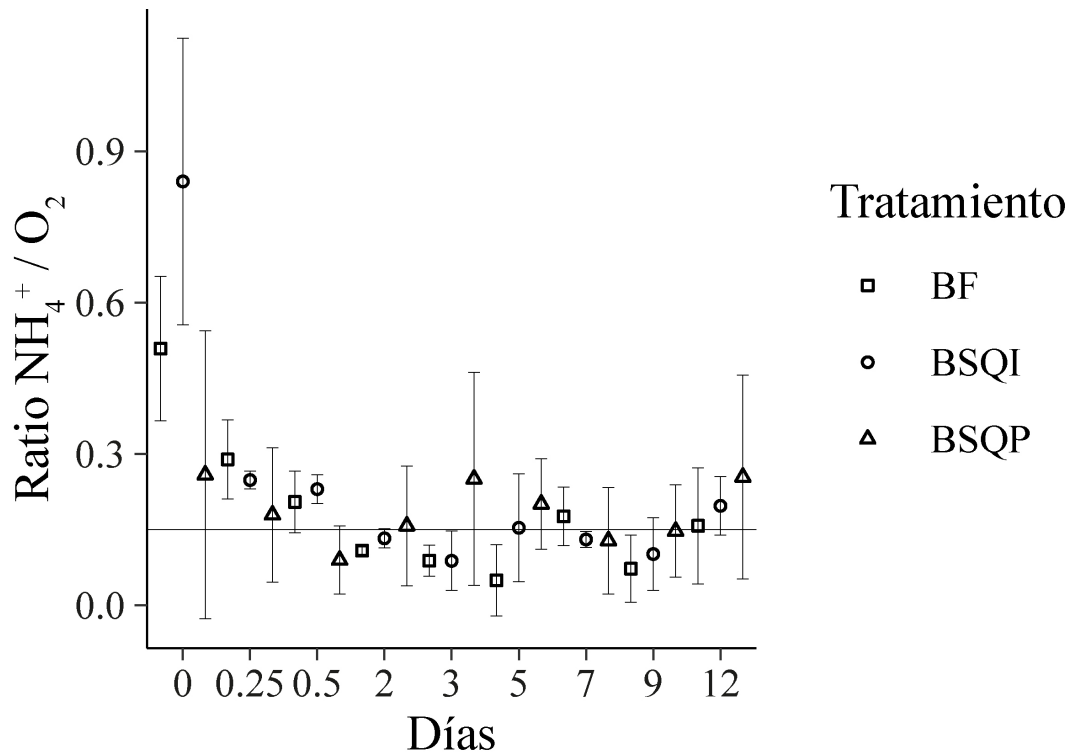


Figura S3. Ratio de los flujos de flujos de NH₄⁺ y O₂ obtenidos en este experimento para BF, BSQI y BSQP. Los puntos corresponden a la media y las líneas a la desviación estándar con n = 3. La línea sólida corresponde al valor teórico de relación de NH₄⁺ y O₂ de 0.15 expresado para BSQ con una relación de Redfield de 106:16:1.