

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS



“Tasas potenciales de Desnitrificación (DNFpr) en el subsistema bentónico de una laguna costera influenciada por ostricultura (*Crassostrea gigas*) y dominada por praderas de pastos marinos (*Zostera marina*)”.

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE

**Maestro en Ciencias en Oceanografía Costera**

PRESENTA:

**Alfonso Macías Tapia**

**Ensenada, Baja California, México. Julio del 2017**

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

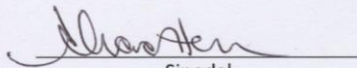


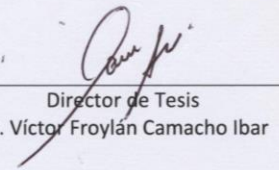
“Tasas potenciales de Desnitrificación (DNFpr) en el subsistema bentónico de una laguna costera influenciada por ostricultura (*Crassostrea gigas*) y dominada por praderas de pastos marinos (*Zostera marina*)”.

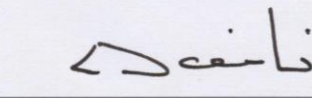
TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE  
**Maestro en Ciencias en Oceanografía Costera**

PRESENTA:

**Alfonso Macías Tapia**

  
Sinodal  
Dra. Sharon Zinah Herzka Llona

  
Director de Tesis  
Dr. Víctor Froylán Camacho Ibar

  
Sinodal  
Dr. Luis Walter Daesslé Heuser

## **Tasas potenciales de Desnitrificación (DNFpr) en el subsistema bentónico de una laguna costera influenciada por ostricultura (*Crassostrea gigas*) y dominada por praderas de pastos marinos (*Zostera marina*)**

Es importante entender el ciclo del nitrógeno en ecosistemas costeros, considerando que este elemento suele ser limitante de la producción primaria además de ser el ciclo más alterado por el hombre en escala global debido al uso excesivo de fertilizantes. En ecosistemas costeros, los procesos biológicos de transformación de nitrógeno reactivo a  $N_2$  regulan el balance de este nutriente, siendo la desnitrificación heterotrófica uno de los principales procesos de salida de N. Con la finalidad de determinar el efecto de hábitats estructurados, praderas de pastos marinos y cultivos de ostiones, sobre el potencial de desnitrificación en el sedimento de una laguna costera en Baja California, se realizó un estudio en Bahía San Quintín (BSQ), un sistema estuarino localizado en la costa noroeste de la Península de Baja California ( $30^{\circ}27'N$ ,  $116^{\circ}00'W$ ). En esta laguna costera, cultivos de ostiones de la especie *Crassostrea gigas* ocupan alrededor del 33% del brazo oeste y praderas mono-específicas de *Zostera marina* cubren ~45% de la superficie total de BSQ. Se tomaron muestras en mayo, julio y noviembre del 2016, dentro de praderas de pastos y cultivos de ostiones y en sedimentos adyacentes a cada hábitat. En cada hábitat (estructurado y sedimento adyacente) se tomaron dos núcleos de los primeros 5cm de sedimento. En cada sitio, uno de los núcleos fue utilizado para realizar incubaciones para determinar las tasas potenciales de desnitrificación (DNFpr), a través una adaptación de la técnica de pareamiento isotópico (IPT). El núcleo restante fue seccionado cada cm y se determinó Carbono orgánico total (CO), nitrógeno total (NT), Carbono orgánico lábil (COL) y variables granulométricas (i.e. tamaño medio de grano). El efecto de las praderas de pastos marinos sobre DNFpr se midió a través de un grupo de sitios de muestreo colocados a lo largo de un gradiente de influencia oceánica, tamaño medio de grano y acumulación de C. Por su parte, el efecto de los ostiones fue evaluado a través de la comparación entre las muestras tomadas en un sitio de cultivo de ostiones y dos sitios de referencia (una en cada brazo de BSQ). Las DNFpr se presentaron en un intervalo de ~ 2 hasta 22  $mmol\ m^{-2}\ d^{-1}$ , las cuales son elevadas al ser comparadas con aquellas reportadas para sedimentos de otros sistemas estuarinos en el mundo. Los valores bajos en el contenido de CO y el tamaño de grano de los sedimentos, sugieren que las altas DNFpr se deben posiblemente a que la relativa alta permeabilidad de los sedimentos en BSQ que facilitan el transporte por advección de materia orgánica y nitrato hacia zonas activas de desnitrificación. Los hábitats estructurados no promovieron las tasas de desnitrificación bentónica, en comparación con sedimentos adyacentes. Durante el estudio, en 75% de las comparaciones los sedimentos con *Zostera marina* presentaron menor DNFpr que los sedimentos sin vegetación. El efecto

negativo de las praderas de pastos marinos en las DNFpr puede deberse a la competencia por DIN entre pastos y organismos desnitrificadores, así como por el aumento en la proporción de materia orgánica refractaria en sedimentos dentro de la pradera (i.e. detritus de raíces y rizomas de *Z. marina*). Las DNFpr fueron menores o iguales en sedimentos en zonas de cultivos de ostiones que los valores presentados en dos zonas de referencia alejadas de la influencia directa de los cultivos, posiblemente debido al efecto de las corrientes de mareas que impactan la zona de cultivos de ostiones en BSQ, las cuales aparentemente transportan los biodepósitos hacia otras partes del sistema impidiendo su acumulación en zonas de cultivos y sedimentos aledaños.

Palabras clave: desnitrificación, ambiente bentónico, materia orgánica, granulometría, permeabilidad, *Z. marina*, *Crassostrea gigas*.

## Agradecimientos

A mi familia, por su apoyo incondicional a cada minuto de esta y cualquier otra aventura en la que he decidido (o no) involucrarme. Todo mi amor y admiración para ustedes.

A mi director de tesis, el Dr. Víctor Camacho, por su paciencia, enseñanzas y una gran amistad.

A mis sinodales, Dra. Sharon Herzka y Dr. Walter Daesslé, por su contribución en el trabajo y su apoyo académico y personal.

A todos los amigos que hice durante esta corta estancia en Ensenada, los cuales de alguna forma u otra contribuyeron para que esto fuera posible. En especial a Julieta Hernández, Jose Sandoval, Eduardo Ortiz (QEPD), Gemma Desplán, Los cubaniquis (Miri y Mando), Carlos Vidal, Erika Lee, Pecaó' y a Shaolin.

Al personal de la empresa ostrícola Nautilus en Bahía Falsa, quienes prestaron sus servicios de embarcación y manejo de la lancha durante los muestreos.

A CONACyT por el apoyo económico otorgado a través de la Beca de Maestría y una Beca Mixta para un semestre de intercambio académico en Old Dominion University, Virginia, EU. Al proyecto SEP-CONACYT "Estudio Integral del Ciclo del Nitrógeno en Bahía Falsa" (No. CB-2010-01-154376) en cuyo marco se realizó mi trabajo de investigación.

Al Dr. Bongkeun Song (alias BK), investigador del Virginia Institute of Marine Science (VIMS), College of William & Mary (Virginia, EU), por permitirme realizar los análisis de desnitrificación en su laboratorio sin ningún costo, incluyendo el tiempo otorgado para el procesamiento de las mismas y el entendimiento de los cálculos. También a sus técnicos y estudiantes, que durante las visitas al VIMS me hicieron sentir uno más del equipo y me brindaron su apoyo y amistad.

A la Dra. (Professor) Margaret Mulholland, por aceptarme y apoyarme económicamente para realizar un semestre de intercambio académico en la Old Dominion University. También a todos en su equipo de trabajo, quienes se convirtieron en grandes amigos.

## Índice

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. OBJETIVOS .....	8
3. HIPÓTESIS .....	9
4. ÁREA DE ESTUDIO .....	10
5. METODOLOGÍA.....	14
5.1 Toma de muestras .....	14
5.2 Análisis.....	16
5.2.1 Concentración de CO y NT en el sedimento.....	16
5.2.2 Concentración de C lábil en el sedimento .....	16
5.2.3 Distribución del tamaño de partícula .....	17
5.2.4 Tasas de desnitrificación potencial .....	17
5.2.5 Análisis estadístico .....	19
6. Resultados.....	20
6.1 Tasas de Desnitrificación potencial (DNFpr) en BSQ.....	20
6.2 Efecto de los pastos marinos en DNFpr.....	24
6.3 Efecto de los ostiones en DNFpr.....	25
6.4 Efecto de hábitats estructurados en las variables control .....	27
6.4.1 Efecto estacional en las variables control de la DNF.....	29
6.4.2 Efecto del hábitat estructurado en el tamaño medio de grano .....	29
6.5 Relación entre variables control y DNFpr. ....	32
6.6 Estimación de Anammox a través de la producción del isotopólogo $^{29}\text{N}_2$ .....	32
7. Discusiones .....	35
7.1 Tasas potenciales de DNF elevadas durante el estudio. ....	35
7.2 Efecto de hábitats estructurados sobre DNFpr. ....	41
7.2.1 Efecto negativo de pastos sobre el potencial de DNF en el sedimento.....	42
7.2.2 Los ostiones no aumentan el potencial de DNF en sedimentos dentro de zonas de cultivo. ....	44
7.3 Posibles causas de la inhibición del proceso de DNF durante las incubaciones. .	48
7.4 La anammox es aparentemente inhibida por condiciones en el sedimento.....	50
8. Conclusiones.....	52

9. REFERENCIAS .....	53
----------------------	----

## Índice de Figuras

Figura 1. Esquema del ciclo del nitrógeno tomada de Canfield *et al.* 2010. Las flechas representan las principales rutas de transformación de nitrógeno y están asociadas a los genes (en rojo) que codifican las enzimas para cada proceso. El esquema también indica las condiciones de concentración de oxígeno bajo las cuales se presenta cada proceso de manera dominante (condiciones aerobic=aeróbicas o anaerobic=anaeróbicas) y los estados de oxidación de las diferentes especies del N.

Figura 2. Mapa de la zona de estudio, Laguna Costera Bahía San Quintín (BSQ). En gris oscuro (Seagrass Meadow), la cobertura de praderas de pastos marinos; en gris claro (Wetlands), las zonas de marismas; y representados con líneas negras (Oyster farms), las zonas de cultivos de ostiones. El mapa fue tomado de Sandoval-Gil et al. (2016).

Figura 3. Sitios de muestreo utilizados durante el estudio. Para medir el efecto de los pastos marinos sobre el DNFpr (en triángulos verdes), int-BF, Nautilus y Lobera; para medir el efecto de los ostiones (en círculos azules), ref-BF, Ostiones y ref-BSQ.

Figura 4. Ejemplos producción lineal del istopólogo  $^{30}\text{N}_2$  (en  $\text{nmol g}^{-1}$ ) durante las incubaciones.

Figura 5. Ejemplos de Inhibición en la producción del istopólogo  $^{30}\text{N}_2$  (en  $\text{nmol g}^{-1}$ ) durante las incubaciones.

Figura 6. Ejemplo de la producción de  $^{30}\text{N}_2$  (en  $\text{nmol g}^{-1}$ ) durante las incubaciones sin (A) y con la adición de Acetato de Sodio (B), durante mayo. Los esquemas pertenecen a los experimentos realizados con la muestra fuera del hábitat estructurado del sitio Nautilus.

Figura 7. Efecto de pastos marinos en DNFpr (expresado en  $\text{nmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) durante los tres meses muestreados. Las barras sombreadas representan las muestras tomadas dentro de hábitats estructurados, mientras que el área blanca representa el sedimento adyacente en cada sitio. El asterisco (\*) representa los sitios donde se encontraron diferencias significativas entre hábitats (en cada comparación;  $X^2_{\text{crítico}}=3.84$ ,  $n=4$ ).

Figura 8. Efecto del cultivo de ostiones en DNFpr (expresado en  $\text{nmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). El área sombreada representa las muestras tomadas dentro de los hábitats estructurados de cada sitio y el área blanca representa las muestras recolectadas en el sedimento adyacente. Los subíndices representan diferencias significativas y similitudes entre los valores de DNFpr (en cada comparación;  $X^2_{\text{crítico}}=3.84$ ,  $n=4$ ).

Figura 9. Resultados de (A) concentración de Carbono Orgánico ( $\text{mmol gps}^{-1}$ ) y (B) concentración de Carbono Orgánico Lábil ( $\text{mmol gps}^{-1}$ ), durante los tres meses muestreados (mayo, julio y noviembre), dentro y fuera del hábitat estructurado de cada sitio. Las diferencias significativas están expresadas por las letras en la parte superior de cada barra (en cada comparación  $W$   $n=10$  y  $\alpha=0.05$ ).

Figura 10. Histograma de frecuencias de 92 tasas de desnitrificación (en  $\text{mmol de N m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ), obtenidas utilizando la técnica de pareamiento isotópico, en 41 estudios en sedimentos de zonas costeras.

Figura 11. Potencial de Desnitrificación (DNFpr), en  $\text{nmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$  dentro y fuera de praderas de *Zostera marina*. Al tomar en cuenta la misma comparación los sitios de referencia, incrementa la proporción de sitios donde DNFpr es menor fuera de pastos. El asterisco (\*) representa la única comparación en la que no se encontraron diferencias significativas ( $n=2$ ,  $\alpha=0.05$ ).

Figura 12. Distribución del porcentaje de arena en los primeros 5cm de sedimento en una maya de 98 puntos de muestreo en BF y 6 puntos en la zona de referencia de BSQ.

Figura 13. Comparación de las tasas potenciales de desnitrificación DNFpr (en  $\text{nmol N}_2 \text{ g}^{-1}\text{h}^{-1}$ ), obtenidas durante julio y noviembre, de sedimentos debajo de cultivos de ostiones contra sedimentos sin vegetación en el sitio de referencia del brazo oeste (panel superior); y contra sedimentos sin vegetación tomados en el sitio de referencia ubicado en el brazo este de BSQ.

## Índice de Tablas

Tabla 1. Tasas potenciales de desnitrificación (DNF<sub>pr</sub>), expresadas en nmol de N<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. La letra 'D' corresponde a las muestras dentro del hábitat estructurado, mientras que 'F' a los sedimentos aledaños. Los valores remarcados en **negritas** indican que no se presentaron diferencias significativas dentro y fuera del hábitat estructurado ( $X^2_{crítico}=3.84$ , n=4)

Tabla 2. Promedio y desviación estándar de las diferentes variables medidas en el sedimento, (CO) Carbono Orgánico, (NT) Nitrógeno Total, (COL) Carbono Orgánico Lábil expresados en mmol g<sub>ps</sub><sup>-1</sup> y (C:N) la relación molar Carbono:Nitrógeno. Los valores resaltados en **negritas** representan las comparaciones en donde se encontraron diferencias significativas dentro y fuera del hábitat estructurado, de cada sitio, en los tres meses muestreados (en cada comparación;  $W$  n=4 y  $\alpha=0.05$ ).

Tabla 3. Valores de las variables granulométricas de los diferentes sitios, dentro (D) y fuera (F) de sus respectivos hábitats estructurados. Los sitios marcados con un asterisco (\*) indican que se encontraron diferencias significativas (n=5,  $\alpha=0.05$ ) entre el tamaño medio de grano del sedimento dentro del hábitat estructurado, en comparación con el sedimento del sitio adyacente.

Tabla 4. Correlación entre las tasas potenciales de desnitrificación (DNF<sub>pr</sub>) y los resultados de variables control (CO) Carbono Orgánico, (NT) Nitrógeno Total, (C:N) relación molar Carbono:Nitrógeno, (COL) Carbono Orgánico Lábil, (TamGran) Tamaño medio de grano, medidas en cada sitio, dentro y fuera de hábitats estructurados, durante julio y noviembre. Los valores sombreados en color verde representan que se encontró una correlación estadísticamente significativa, mientras que los rojos representan las comparaciones en las que no se encontró correlación (Spearman, n=variable,  $\alpha=0.05$ ).

Tabla 5. Tasa de producción del isotópologo  $^{29}\text{N}_2$  (en  $\text{nmol de } ^{29}\text{N}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) y porcentaje de la razón de la producción de  $^{29}\text{N}_2$  entre la producción de  $^{30}\text{N}_2$ , durante las incubaciones de cada hábitat, en los tres meses muestreados.

# 1. INTRODUCCIÓN

Las lagunas costeras son cuerpos de agua usualmente orientados paralelos a la costa, separados del océano por una barrera, con una o más conexiones (abiertas al menos de manera intermitente) con el océano adyacente, y con una profundidad promedio típicamente de pocos metros (Kjerfve, 1994). Estos ecosistemas se encuentran entre los más productivos de la Tierra, proveyendo un amplio rango de servicios ecosistémicos y recursos (Kennish y Paerl, 2010). A su vez, estos ecosistemas son vulnerables a perturbaciones inducidas por el hombre como la eutrofización. Durante el último siglo, el aumento en los aportes terrígenos de nitrógeno hacia los sistemas costeros ha generado un desbalance entre las entradas y salidas de nitrógeno reactivo, derivando en eutrofización, que se puede manifestar de diferentes formas incluyendo afloramientos nocivos de micro y macroalgas (Paerl y Piehler, 2008; McGlathery et al. 2007). Para entender, y si es posible revertir, esta tendencia a la eutrofización, es necesario conocer el funcionamiento de los ciclos biogeoquímicos en los sistemas costeros (Gonneea y Charette, 2014). Es particularmente importante entender el ciclo del nitrógeno, considerando que este elemento suele ser limitante de la producción primaria en ecosistemas costeros (McGlathery et al., 2007) además de ser el ciclo más alterado por el hombre en escala global debido al uso excesivo de fertilizantes (Rockstrom et al., 2009; Steffen et al., 2015).

Por su complejidad, el entendimiento del ciclo del nitrógeno no es un reto común. El nitrógeno (N), como un componente principal en la estructura de biomoléculas, se ha definido como un elemento esencial para la base de la red trófica, funcionando como un elemento limitante de la productividad biológica en el océano, por lo que puede ejercer una influencia en los ciclos biogeoquímicos de otros elementos, particularmente en el del carbono y el fósforo (Falkowski *et al.*, 1998; Brandes *et al.*, 2007; Gruber, 2008; Hardison *et al.*, 2015). En los ambientes

marinos, el nitrógeno está presente como nitrógeno reactivo (también nombrado indistintamente como nitrógeno biodisponible o fijado) o como no reactivo. El nitrógeno reactivo está conformado por: nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), la forma más oxidada del nitrógeno y la más abundante de las especies de nitrógeno reactivo en ambientes óxicos; amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), la especie inorgánica más reducida de nitrógeno y la más abundante en ambientes anóxicos; nitrógeno particulado (NP), que predomina en sedimentos en forma de nitrógeno orgánico (NO) y nitrógeno orgánico disuelto (NOD); otras formas de nitrógeno reactivo como nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), óxido nítrico (NO) y óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), son menos abundantes en este tipo de sistemas (Brandes *et al.*, 2007). El nitrógeno “no reactivo” se refiere a las moléculas de nitrógeno que requieren de sistemas enzimáticos más complejos o de mayor energía para ser biológicamente utilizables. En este grupo se encuentra el nitrógeno molecular ( $\text{N}_2$ ), el cual se encuentra saturado en el agua, pero solo un grupo selecto de organismos puede llevar a cabo su utilización, debido al triple enlace que une los dos átomos de nitrógeno. Una compleja red de reacciones une las diferentes formas de nitrógeno, en lo que es denominado Ciclo del Nitrógeno (Fig. 1). La comprensión de este ciclo se ha mantenido en constante evolución y modificación en los últimos años, debido a los avances en el uso de isótopos estables como trazadores y el uso y evolución de las técnicas moleculares (Zehr y Kudela, 2011; Giblin *et al.*, 2013). El ciclo del nitrógeno en sistemas costeros está constituido por una serie de reacciones aeróbicas y anaeróbicas incluyendo: fijación biológica de  $\text{N}_2$ , amonificación, nitrificación, desnitrificación, reducción desasimilatoria de nitrato a amonio y oxidación anaeróbica de amonio (DNRA y anammox, por sus siglas en inglés, respectivamente) (Canfield *et al.*, 2010).

La desnitrificación heterotrófica se considera como la principal salida de N en el ciclo global y una de las principales salidas de nitrógeno reactivo en ecosistemas costeros (Gruber, 2008; Kraft *et al.*, 2014; Peng *et al.*, 2016). En este proceso,



anaeróbicas que fijan CO<sub>2</sub>, utilizando el NO<sub>2</sub><sup>-</sup> como donador de electrones para oxidar el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Brandes *et al.*, 2007), generando N<sub>2</sub> como producto de la reacción (Thamdrup y Dalsgaard, 2002).



Las tasas de desnitrificación han sido medidas a través de diversos ecosistemas costeros y generalmente representan pérdidas de nitrógeno del orden de 1 a 2 mmol N m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup> (Higgins *et al.* 2013). Por su parte, la contribución de la anammox a la cantidad total de N<sub>2</sub> perdido varía entre 20 y 80% en la plataforma continental y en sedimentos del océano profundo, pero se estima que el proceso representa menos del 20% en sistemas costeros someros, como las lagunas costeras (Hu *et al.*, 2011), haciendo de la desnitrificación el proceso más relevante en la pérdida de nitrógeno reactivo.

Para medir los procesos de pérdida de N<sub>2</sub> se han utilizado tres métodos principalmente, tanto en incubaciones de núcleos completos como de incubaciones de *slurry*: el método de inhibición con acetileno, la razón Nitrógeno/Argón y las técnicas basadas en el pareamiento isotópico (Peng *et al.*, 2016). Desde Gilbert *et al.* (1997) hasta recientemente en Higgins *et al.* (2013), modificaciones al método original (Nielsen, 1992), han permitido medir el potencial de desnitrificación del sedimento a través de incubaciones en *slurry* del sedimento del sitio de interés. Este tipo de incubaciones miden la capacidad enzimática de los organismos para un sedimento con características específicas, en incubaciones ideales para el proceso (*i.e.* adición en exceso de nitrato, que es el sustrato limitante de la desnitrificación, y condiciones de anoxia) (Bernot *et al.* 2003). Las técnicas con trazadores isotópicos, producen moléculas de N<sub>2</sub> marcadas isotópicamente. Estas moléculas marcadas son fáciles de medir debido a su baja concentración relativa en el ambiente natural y pueden ser medidas utilizando un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas (Nielsen, 1992).

Desde el descubrimiento y primer reporte formal del proceso de desnitrificación (Gayon y Dupetit, 1886), científicos han tratado de determinar los factores que controlan la intensidad del proceso. Algunos de estos estudios, enfocados en la desnitrificación que ocurre en el sedimento, han identificado factores primarios como la cantidad y labilidad de la materia orgánica y la concentración de oxígeno disuelto (Berelson *et al.*, 1998; Eyre & Ferguson, 2002; Fulweiler *et al.*, 2008; Eyre *et al.*, 2013; Fulweiler *et al.*, 2013; Babbín *et al.*, 2016), junto con diversos factores secundarios como la salinidad (Rysgaard *et al.*, 1999), la concentración de nitrógeno total en el sedimento (Higgins *et al.*, 2013), la relación molar C:N (Fulweiler *et al.*, 2008; Fulweiler *et al.*, 2013), la temperatura (Gardner *et al.*, 2006; Sundback *et al.* 2006; Piehler & Smyth, 2011; Kellog *et al.*, 2013; Brin *et al.*, 2016; Humphries *et al.*, 2016) la demanda de oxígeno (Gardner & McCarthy, 2009; Piehler & Smyth, 2011; Brin *et al.*, 2014; Humphries *et al.*, 2016) y el tamaño medio de grano (Marchant *et al.*, 2014).

En sistemas costeros someros, la presencia de hábitats estructurados influye en la magnitud de los procesos biogeoquímicos (Piehler y Smith, 2011). Este tipo de hábitats comprenden estructuras físicas que influyen en el sistema a través de sus características físicas y biológicas, así como por las interacciones ecológicas que en ellos se desarrollan. En este sentido, las praderas de pastos marinos y los cultivos de ostiones conforman hábitats estructurados que pueden influir en el proceso de desnitrificación en sistemas costeros.

Los pastos marinos pueden influir en el proceso de desnitrificación, de forma física, a través de la reducción de flujo de partículas que se genera en la cubierta vegetativa de la pradera, lo cual genera acumulación de partículas de tamaño pequeño incluyendo la materia orgánica asociada al seston (Bos *et al.*, 2007). Esta acumulación de materia orgánica puede generar mayor disponibilidad sustratos necesarios para la desnitrificación, como la materia orgánica lábil y el nitrato (este a través de la remineralización de la materia orgánica y la posterior oxidación de  $\text{NH}_4^+$  hasta  $\text{NO}_3^-$ ). De forma biológica, las praderas de pastos marinos pueden

promover el aumento en las tasas de desnitrificación, a través de: (1) introducción de oxígeno en la rizosfera generando interfaces óxico/anóxicas en ambientes que de otra forma serían completamente reductores (Risgaard-Petersen, 2004). En la parte óxica de la interface, el amonio puede ser convertido a nitrato, el cual puede desplazarse a la zona anóxica y ser utilizado en la desnitrificación; (2) incorporación de nitrógeno reactivo al sistema a través de fijación de nitrógeno molecular (McGlathery *et al.*, 1998), llevada a cabo por los pastos marinos y/o por organismos ecológicamente asociados (Hernández-López *et al.* 2017). Esto puede aumentar la disponibilidad del aceptor de electrones ( $\text{NO}_3^-$ ) de la desnitrificación; y/o (3) exudación de carbono orgánico disuelto (COD) hacia el sedimento (Koepfler *et al.*, 1993; Ziegler & Benner, 1999; McGlathery *et al.*, 2007). Al igual que la materia orgánica particulada acumulada en las praderas de pastos, el COD exudado puede ser utilizado como sustrato directo de materia orgánica para ser oxidado en el proceso de desnitrificación, o producir nitrógeno inorgánico disuelto (NID) a través de su remineralización.

En el caso de los ostiones, se ha encontrado que el aumento en las tasas de desnitrificación se da principalmente a través de la generación de biodepositos. Durante el filtrado de partículas suspendidas para su alimentación, los ostiones generan como desecho heces y pseudoheces (biodepositos), que se acumulan en el sedimento (Newell 2004; Newell *et al.*, 2005; Dumbauld, *et al.*, 2009; Carlsson *et al.*, 2010; Jansen *et al.*, 2012; Higgins *et al.*, 2013). Se ha encontrado que el aumento en la disponibilidad de materia orgánica en el sedimento, a través de la acumulación de biodepositos de ostiones, promueve la desnitrificación (Kellog *et al.*, 2013; Kellog *et al.*, 2014; Humphries *et al.*, 2016; Murphy *et al.*, 2016). La excreción de amonio es otra forma que se ha reportado en la que los moluscos bivalvos pueden modificar los procesos de desnitrificación en el sedimento (Jones *et al.*, 2011; Hoellein *et al.*, 2015). El amonio, generado como parte de los procesos catabólicos de este tipo de organismos, puede ser oxidado a nitrato y servir como sustrato para la desnitrificación bentónica.

Se desconoce el efecto que las praderas de pastos marinos y los cultivos de ostiones tienen sobre las tasas potenciales de desnitrificación bentónica en Bahía San Quintín, una laguna costera del noroeste de México. Debido a que los procesos de pérdida de nitrógeno reactivo en el sistema pueden controlar la productividad primaria y atenuar las condiciones de eutrofización, es importante determinar el sentido en el que distintos hábitats de la zona costera modifican el proceso. Por ello, en el presente estudio se determinarán las tasas potenciales de desnitrificación en dos de los hábitats estructurados representativos en la laguna costera, praderas de pastos marinos y cultivos de ostiones.

## 2. OBJETIVOS

### Objetivo General

Determinar si los hábitats estructurados (praderas de pastos marinos y los cultivos de ostiones), favorecen el incremento en las tasas potenciales de desnitrificación bentónica de una laguna costera.

### Objetivos Específicos

1. Determinar el potencial de las tasas de desnitrificación bentónica dentro y fuera de hábitats estructurados en Bahía Falsa.
2. Explorar la posible relación con la tasa potencial de desnitrificación del contenido de carbono orgánico total y lábil, el contenido de nitrógeno total, y la composición del tamaño de partícula en sedimentos dentro y fuera de los hábitats estructurados.
3. Analizar el efecto de los hábitats estructurados sobre las tasas potenciales de desnitrificación bentónica.

### 3. HIPÓTESIS

Los hábitats estructurados generados por cultivos de ostiones y praderas de pastos marinos promueven un incremento en el potencial de desnitrificación bentónica, en comparación con sedimentos no estructurados. En sedimentos dentro de cultivos de ostiones las tasas de desnitrificación se intensifican por el incremento en la disponibilidad de materia orgánica asociada con la producción de heces y pseudoheces excretadas por los organismos filtradores. En sedimentos dentro de praderas de pastos marinos el potencial aumenta debido a la generación de microzonas de oxígeno en las raíces, la incorporación de nitrógeno reactivo a través de la acumulación y remineralización de materia orgánica asociada al seston, y la exudación de carbono orgánico disuelto hacia el sedimento por las raíces.

## 4. ÁREA DE ESTUDIO

Bahía San Quintín (BSQ) es una laguna costera localizada en costa noroeste de la Península de Baja California ( $30^{\circ}27'N$ ,  $116^{\circ}00'W$ ). Por el clima mediterráneo de la región, esta laguna costera es un sistema hipersalino (Camacho-Ibar *et al.*, 2003). El área superficial de la laguna es aproximadamente de  $42 \text{ km}^2$ , tiene  $\sim 2 \text{ m}$  de profundidad media y una amplitud de marea de  $2.4 \text{ m}$  durante mareas vivas. Su forma de 'Y' está dada por el brazo este, que se conoce como 'San Quintín (SQ)', y el oeste, denominado 'Bahía Falsa (BF)', los cuales tienen una superficie de  $15$  y  $9 \text{ km}^2$ , respectivamente. A lo largo del año, la temperatura en la columna de agua varía de  $11$  a  $22 \text{ }^{\circ}\text{C}$  en la boca de la laguna y de  $13$  a  $27 \text{ }^{\circ}\text{C}$  en el interior de la misma (Camacho-Ibar *et al.*, 2003). En BSQ existen dos tipos de hábitats que cubren una porción importante de la superficie del sistema, el cultivo de ostión y las praderas de pastos marinos (Fig. 2).



Figura 2. Mapa de la zona de estudio, Laguna Costera Bahía San Quintín (BSQ). En gris oscuro (Seagrass Meadow), la cobertura de praderas de pastos marinos; en gris claro (Wetlands), las zonas de marismas; y representados con líneas negras (Oyster farms), las zonas de cultivos de ostiones. El mapa fue tomado de Sandoval-Gil *et al.* (2016).

El cultivo de ostiones es dominado por la especie *Crassostrea gigas*, que es originaria de los mares de Japón, pero fue introducida en BSQ hace más de 40 años (Chávez-Villalba, 2014). La concesión para esta actividad productiva está limitada al brazo de BF (García-Esquivel *et al.*, 2004), donde se calcula que ocupa alrededor del 33% del área (Camacho-Ibar *et al.* 2003). Los principales sistemas de cultivo son sartas en balsas y estantes, cajas ostrícolas en sistema suspendido, costales sobre estantes y cultivo australiano (Chávez-Villalba, 2014). Estos organismos filtradores representan una fuente de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) de largo plazo y relativamente constante para BSQ, la cual tiene impacto sobre la productividad de macrofitas como *Zostera marina* (Sandoval-Gil *et al.*, 2015).

Praderas monoespecíficas de *Zostera marina* se encuentran desarrolladas a lo largo de las planicies someras, submareales e intermareales del sistema. En BSQ, *Z. marina* es el principal productor primario, ocupando una superficie del ~45% de la laguna (Sandoval-Gil *et al.*, 2016). Sin embargo, se han encontrado diversos tipos de macroalgas (*Ulva* spp., *Gracilaria* sp. y *Chondracanthus* sp.) que pueden tener coberturas similares a *Z. marina* (Zertuche-González *et al.*, 2009; Ávila-López *et al.*, 2016). Se ha encontrado que distintos parámetros vegetativos, como el tamaño de las hojas de *Z. marina* presente en BSQ, varían con respecto a su ubicación en el sistema, la estacionalidad y la presencia de ostiones (Sandoval-Gil *et al.*, 2016). También se han encontrado diferencias fisiológicas intraespecíficas en la capacidad de incorporación de nitrógeno inorgánico disuelto (NID), dependiendo de la disponibilidad las diferentes formas de nitrógeno disuelto (Sandoval-Gil *et al.*, 2015; Sandoval-Gil *et al.*, 2016).

Pese a que BSQ es uno de los sistemas costeros más estudiados y con mayor número de publicaciones en revistas científicas de Baja California, existe poca información sobre los efectos de los hábitats estructurados más representativos del sistema, praderas de pastos marinos y cultivo de ostiones, sobre la composición química y granulométrica de los sedimentos, así como del efecto que

generan sobre los procesos biogeoquímicos, como la desnitrificación, en el subsistema bentónico que se encuentra dentro de su zona de influencia.

Con respecto a la relación entre hábitats estructurados y la distribución granulométrica en BSQ, Cabello-Pasini *et al.* (2003) analizaron muestras de 7 cm de profundidad en dos transectos a lo largo de praderas de pastos marinos localizados en BF, y reportaron una distribución bimodal del tamaño de grano, con aproximadamente 20% de limo y arcilla, sugiriendo un tipo de substrato muy suave. Posteriormente, Daesslé *et al.* (2009), en un estudio con más de 50 puntos de muestreo distribuidos a lo largo de BF, reportaron que las arcillas se acumulan preferencialmente en el extremo interior del brazo, sin embargo, aún en esta parte interna su contribución no excede 15%. En contraste, los limos en la parte interna pueden contribuir hasta 80-90% del total de las partículas. Cerca de la entrada de la bahía, Daesslé *et al.* (2009) reportaron sedimentos predominantemente arenosos, con menos de 3% de arcillas, sugiriendo un patrón de distribución granulométrica con disminución en el tamaño de grano de la boca hacia el interior del sistema.

En BSQ existe poca información sobre el efecto de praderas de pastos marinos en procesos biogeoquímicos del ciclo del nitrógeno y, según nuestro conocimiento, no existe ninguna publicación *ad hoc* sobre el efecto de los ostiones en la biogeoquímica del sistema. Se ha encontrado que, en BSQ, *Z. marina* es altamente eficiente en la adquisición de DIN de la columna de agua y el agua intersticial del sedimento (Sandoval-Gil *et al.*, 2015; Sandoval-Gil *et al.*, 2016). Por otro lado, Hernández-López *et al.* (2017) reportaron las tasas de fijación de N<sub>2</sub> de pastos marinos, sugiriendo que son similares a las reportadas por sistemas de pastos marinos en zonas templadas.

No existen mediciones directas de las tasas de desnitrificación en sedimentos de Bahía San Quintín. Sin embargo, existen estimaciones a través de modelos de balance de masas, las cuales sugieren que el sistema es un sumidero neto de

nitrógeno (Camacho-Ibar *et al.* 2003; Hernández-Ayón *et al.*, 2004). En un estudio reciente, Sandoval-Gil *et al.* (2015) encontraron valores elevados de  $\delta^{15}\text{N}$  en las hojas y rizomas de pastos marinos expuestos directamente a la influencia de cultivo de ostiones, en comparación con los pastos de una pradera cercana a la boca de BSQ. Los autores sugieren que la incorporación de NID enriquecido con  $^{15}\text{N}$ , por los pastos cercanos a la zona de cultivos de ostión, es producto del incremento en las tasas de los procesos biogeoquímicos sedimentarios (nitrificación-desnitrificación acoplada) promovido por los biodepositos de los ostiones.

# 5. METODOLOGÍA

## 5.1 Toma de muestras

En mayo, julio y noviembre del 2016, se recolectaron muestras de los primeros 5 cm de sedimento en 6 sitios de la Laguna Costera Bahía San Quintín (Fig. 3), utilizando un nucleador de PVC ( $\varnothing_{\text{int}} = 60 \text{ mm}$ ).

En cada sitio se tomaron 2 muestras dentro de hábitats estructurados y 2 muestras aledañas a dicho hábitat (sedimentos no estructurados). En cinco de los sitios de muestreo, los hábitats estructurados corresponden a praderas de pastos marinos, de la especie *Zostera marina*. En el sitio restante, el hábitat estructurado está representado por cultivos de ostión (*Crassostrea gigas*). Las muestras adyacentes al hábitat estructurado se recolectaron a una distancia no mayor a 5 m, evitando zonas de canal.

El efecto de las praderas de pastos marinos sobre DNFpr se determinó comparando 3 de los sitios de muestreo ubicados a lo largo de un gradiente de influencia del agua oceánica, de tamaño medio de grano y de acumulación de carbono orgánico. Los sitios fueron: Lobera, que es el punto con mayor influencia oceánica, menor contenido de CO y mayor tamaño de grano; int-BF que es el punto más interno, por lo que tiene una menor influencia oceánica, mayor acumulación partículas de menores que 63 micras y de CO; y Nautilus que es el punto medio del gradiente (Fig. 3, triángulos verdes). Por su parte, el efecto de los ostiones fue evaluado a través de la comparación de las muestras tomadas en del sitio Ostiones, ubicado en la zona más densa de cultivo de *Crassostrea gigas*, y dos sitios de referencia (Fig. 3, círculos azules), el sitio ref-BF ubicado en el brazo de Bahía Falsa donde se cultivan los ostiones, pero alejado del efecto directo de los



Figura 3. Sitios de muestreo utilizados durante el estudio. Para medir el efecto de los pastos marinos sobre el DNFpr (en triángulos verdes), int-BF, Nautilus y Lobera; para medir el efecto de los ostiones (en círculos azules), ref-BF, Ostiones y ref-BSQ.

mismos, y el sitio ref-BSQ, localizado en el brazo San Quintín donde no hay cultivos de ostiones. En el sitio Ostiones el hábitat estructurado corresponde a los sedimentos sin pastos marinos ubicados inmediatamente debajo de las racas de cultivo de *Crassostrea gigas*, mientras que los sitios de referencia tienen pastos marinos como hábitat estructurado. Del sitio Ostiones no se tienen muestras en mayo, por lo que el efecto de los ostiones sobre el potencial de desnitrificación se determinó únicamente con resultados de julio y noviembre.

De las dos muestras de 5 cm tomadas en cada hábitat, una fue seccionada a cada centímetro en la vertical. Cada centímetro de la muestra fue colocado en su correspondiente bolsa Ziploc® y las muestras fueron colocadas en hielo y protegidas de la luz para su transporte al laboratorio donde congelaron hasta su

análisis. Estas muestras fueron utilizadas para determinar la distribución del tamaño de grano y las concentraciones de Carbono Orgánico Lábil (COL), Carbono Orgánico (CO) y Nitrógeno Total (NT). La otra muestra de 5 cm fue colocada en un Tubo Falcon® de 50 ml y se almacenó en una hielera para mantenerse frescas hasta la determinación de la tasa potencial de desnitrificación en el Virginia Institute of Marine Science, Virginia, E.U.

## 5.2 Análisis

### 5.2.1 Concentración de CO y NT en el sedimento.

El contenido de CO y NT en los sedimentos fue determinado pesando  $0.200 \pm 0.01$  mg de muestra, previamente secada y triturada, y empaquetada en capsulas de estaño. El análisis fue realizado con un analizador elemental LECO CHNS 932. El equipo se calibró utilizando un material certificado de referencia de lodo marino (MAG-1), elaborado por el U.S. Geological Survey. El equipo reporta el porcentaje (%) de C y N contenido en muestra, el cual fue convertido a unidades de mmol de C o N por gramo de sedimento seco  $\text{gsp}^{-1}$ .

### 5.2.2 Concentración de C lábil en el sedimento

El contenido de C orgánico lábil se determinó con el método de pérdida por combustión (LOI, por sus siglas en inglés). En este método, 2 g de sedimento húmedo se secan a  $105^{\circ}\text{C}$  hasta obtener un peso constante (Peso 1). Las muestras secas se calcinan en una mufla a  $250^{\circ}\text{C}$  durante cuatro horas. Posteriormente, las muestras son enfriadas a temperatura ambiente y pesadas (Peso 2). El porcentaje de materia orgánica lábil se obtiene con la ecuación,

$$\%MO \text{ Lábil} = \frac{\text{Peso 1} - \text{Peso 2}}{\text{Peso 1}} * 100$$

El carbono contenido en la materia orgánica lábil se obtiene dividiendo el contenido de materia orgánica por el factor ‘Von Bemmelen’ de 1.724, con el cual se supone que el carbono constituye 58% de la materia orgánica.

### 5.2.3 Distribución del tamaño de partícula

La distribución del tamaño de partícula fue determinada con un analizador láser/tungsteno HORIBA LA910. Previo al análisis las muestras son secadas en la estufa a 105°C hasta obtener peso constante. Como material de referencia se utilizó *arena para análisis por tamizado* (reference material 8010), elaborado por el National Institute of Standards and Technology, EU. El equipo tiene la capacidad de determinar diferencias muy pequeñas entre el tamaño de las partículas. Sin embargo, para este estudio, utilizamos una clasificación general, que considera el porcentaje de arena (partículas >62.5µm), limo (partículas entre 4-62.5µm) y arcilla (partículas <4µm), como indicativo de la tendencia del tamaño de las partículas en una muestra de sedimento.

### 5.2.4 Tasas de desnitrificación potencial

Las tasas de desnitrificación en cada muestra se analizaron por duplicado. Para calcular las tasas potenciales de desnitrificación, se utilizó una adaptación de la técnica de pareamiento isotópico (Nielsen, 1992). En este procedimiento se pesa aproximadamente 1 g de sedimento húmedo para cada réplica, el cual es colocado en un tubo Exetainer® de 12ml. Las muestras son pre-incubadas por ~24h, a temperatura ambiente y protegidas de la luz, para que el consorcio microbiano se aclimate posterior al transporte en hielo, y para consumir parte del  $^{14}\text{NO}_3^-$  que se encuentra en la muestra y que puede interferir con los resultados

de la técnica de pareamiento isotópico. Posterior a la pre-incubación, cada tubo con muestra se conecta durante 5 minutos a un sistema de purga, por el cual fluye helio ultra puro a 5 psi, para eliminar el N<sub>2</sub> producido durante las 24h de pre-incubación y para asegurar condiciones anóxicas dentro de los Exetainers. Para iniciar la incubación, se adiciona 0.1 ml de una solución 1 mM de <sup>15</sup>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. En este estudio se utilizó 0.3 ml de una solución saturada de ZnCl<sub>2</sub> para detener las incubaciones en tres tiempos: inmediatamente después de la adición de sustrato marcado (t<sub>0</sub>), después de una hora (t<sub>1</sub>) y después de dos horas (t<sub>2</sub>) de incubación. El N<sub>2</sub> producido en cada incubación fue medido con un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas. La tasa potencial de desnitrificación fue calculada con base en la masa del isotopólogo <sup>30</sup>N<sub>2</sub> producida durante cada incubación,

$$DNF_{pr} = \frac{30N_2}{g * t}$$

Donde *DNF<sub>pr</sub>* es el potencial de desnitrificación de la muestra, expresado en nmol de N<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, *30N<sub>2</sub>* es la masa de <sup>30</sup>N<sub>2</sub> producida durante la incubación a través de la desnitrificación del sustrato marcado expresada en nmol de N<sub>2</sub>, *g* es el peso de la muestra colocada en la incubación en gramos (g), y *t* es el tiempo de la incubación en horas (h).

En las incubaciones de algunas de las muestras recolectadas en los tres muestreos se observó, de manera inconsistente, inhibición del proceso de DNF durante la segunda hora (T<sub>2</sub>) de incubación. Durante el análisis de las muestras de mayo se realizaron incubaciones adicionales con las muestras donde se observó inhibición, para determinar si la inhibición era generada por limitación por materia orgánica. El proceso de incubación fue similar al anteriormente descrito, pero adicionando una solución con acetato de sodio como fuente de carbono orgánico lábil. Para estas incubaciones, solo se analizaron las réplicas de 0 y 2 horas.

Para calcular las tasas de desnitrificación a nivel sistema (en  $\text{mmol N}_2 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) y compararlas con otros estudios que han medido este proceso en sedimentos costeros, se utilizó la aproximación utilizada por Higgings *et al.* (2013). De manera breve, esta aproximación considera 3 cm del perfil de sedimentos como la zona activa de desnitrificación, una densidad del sedimento de  $1.5 \text{ g cm}^{-3}$  y que las tasas de desnitrificación encontradas se mantienen estables por 24 h.

A través de incubaciones realizadas con métodos de pareamiento isotópico, también se puede estimar la relevancia del proceso de anammox en la producción de  $\text{N}_2$  en la muestra. Esto se hace midiendo la tasa de producción del isótopo  $^{29}\text{N}_2$ .

#### 5.2.5 Análisis estadístico

Para determinar diferencias significativas en las variables control dentro y fuera de hábitats estructurados se utilizó la prueba estadística Wilcoxon ( $W$ ), utilizando  $n=10$  y  $\alpha=0.05$  para calcular el límite inferior y superior del valor crítico.

Se utilizó la prueba de bondad de ajustes empleando la prueba no paramétrica Chi-cuadrada ( $\chi^2$ ) para determinar diferencias significativas entre los valores en los duplicados de las incubaciones para determinar el DNFpr. Para todos los casos, los valores fuera del hábitat estructurado fueron utilizados como los valores esperados y los valores dentro del hábitat estructurado como los valores observados.

# 6. RESULTADOS

## 6.1 Tasas de Desnitrificación potencial (DNFpr) en BSQ.

Las tasas de desnitrificación reportadas en este estudio se basaron únicamente en la producción de  $N_2$  durante la primera hora de la incubación, ya que en 8 de las 34 incubaciones la tasa de producción del isotópulo  $^{30}N_2$  no fue lineal a lo largo de las dos horas. En las incubaciones sin inhibición se espera que la pendiente sea constante entre T0 y T1 y entre T1 y T2 (Fig. 4).

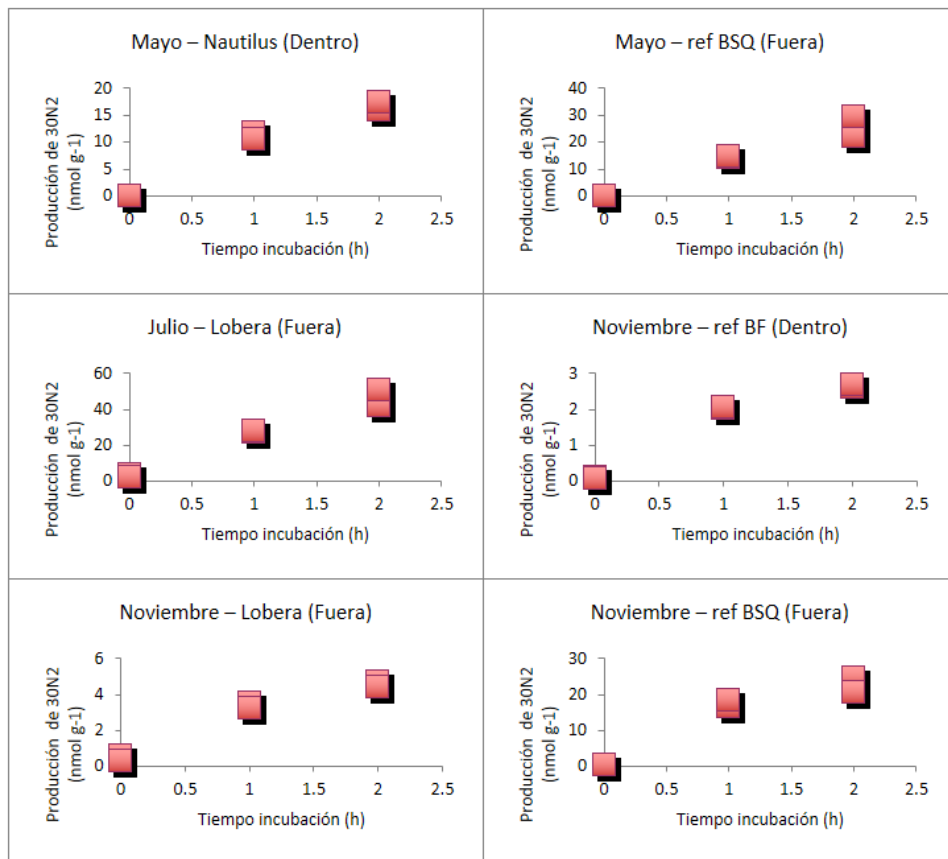


Figura 4. Ejemplos producción lineal del isotópulo  $^{30}N_2$  (en nmol g<sup>-1</sup>) durante las incubaciones.

En las incubaciones con inhibición, la pendiente entre T0 y T1 fue mayor que entre T1 y T2 (Fig. 5). La inhibición se presentó dentro y fuera de hábitats estructurados, sin mostrar un patrón espacial ni temporal constante. Por ejemplo, en mayo el sitio Nautilus presentó inhibición fuera del hábitat estructurado, mientras que en ref-BSQ la inhibición se presentó dentro de la pradera de pastos (comparar Fig. 4 vs Fig. 5). En 6 de las incubaciones, el valor medio de producción de  $^{30}\text{N}_2$  de las réplicas en T2 fue igual que la producción en T1, y no hubo un patrón en la magnitud de la inhibición (Ejemplos en Fig. 5). Por otro lado, en los sitios Lobera y ref-BSQ, durante las incubaciones realizadas en noviembre, el valor medio de la tasa de producción del isotópulo  $^{30}\text{N}_2$  a las 2 horas fue incluso menor que lo producido durante la primera hora (Fig. 5).

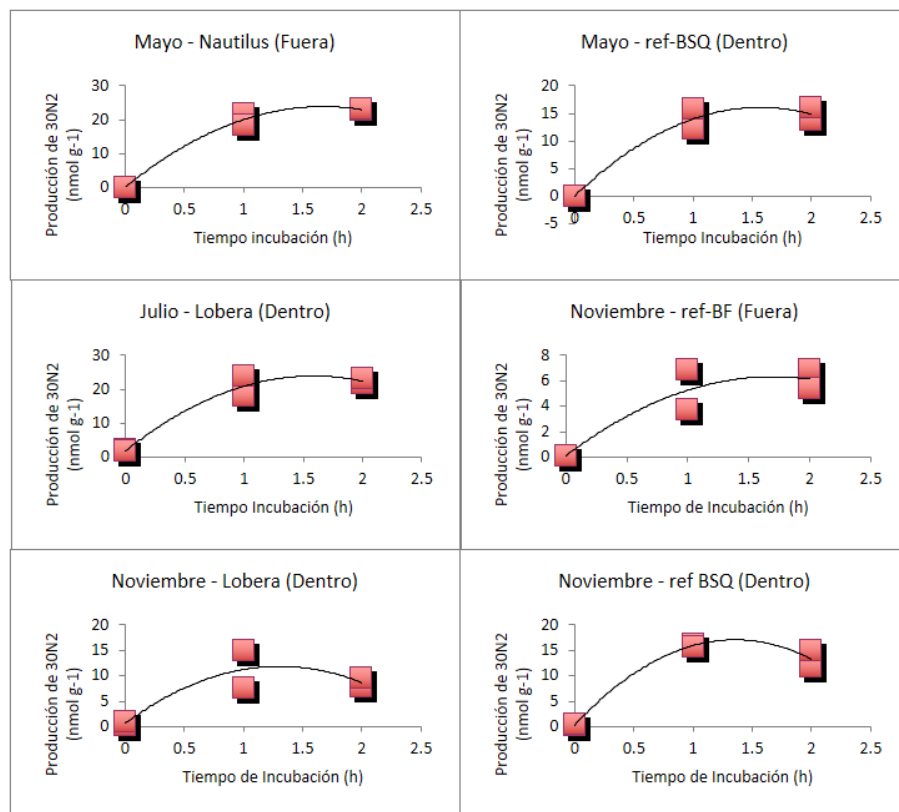


Figura 5. Ejemplos de Inhibición en la producción del isotópulo  $^{30}\text{N}_2$  (en nmol g<sup>-1</sup>) durante las incubaciones.

En las muestras del mes de mayo donde se presentó inhibición, se probó si dicho efecto era por limitación por carbono orgánico, repitiendo las incubaciones, pero con adición de acetato de sodio. La adición de acetato no tuvo efecto en la tasa de producción del isotópologo  $^{30}\text{N}_2$  como lo indican los resultados de la incubación de la muestra del hábitat estructurado en el sitio Nautilus (Fig. 6), que presentó aparente inhibición en el proceso de DNF (Fig. 5).

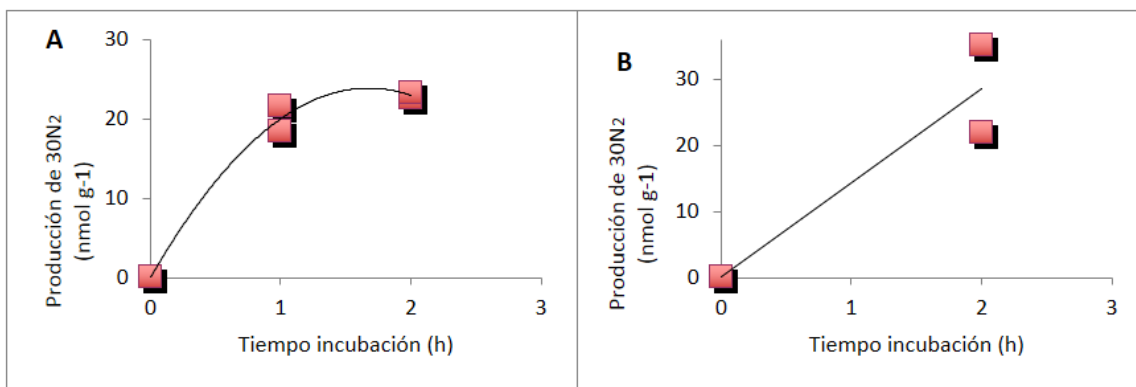


Figura 6. Ejemplo de la producción de  $^{30}\text{N}_2$  (en  $\text{nmol g}^{-1}$ ) durante las incubaciones sin (A) y con la adición de Acetato de Sodio (B), durante mayo. Los esquemas pertenecen a los experimentos realizados con la muestra fuera del hábitat estructurado del sitio Nautilus.

El intervalo de las DNFpr para todo el estudio fue de 0.2 a 21.6  $\text{nmol N}_2 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $n = 68$ ; tabla 1). Con excepción del sitio int-BF en el mes de julio, al comparar las DNFpr dentro y fuera de los hábitats estructurados, las diferencias fueron significativas en todos los sitios y todos los meses muestreados (en cada comparación;  $\chi^2_{\text{crítico}}=3.84$ ,  $n=4$ ). Sin embargo, no hubo un patrón espacial ni estacional consistente en estas diferencias. Por ejemplo, en el grupo de muestras para determinar el efecto de los pastos marinos, para el sitio int-BF se observó el valor máximo y mínimo de todo el estudio durante un mismo mes (noviembre); presentándose los valores más bajos (0.2 y 5.32  $\text{nmol N}_2 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) en el sedimento sin vegetación y los más altos (13 a 17  $\text{nmol N}_2 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) dentro de la

Tabla 1. Tasas potenciales de desnitrificación (DNFpr), expresadas en nmol de N<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>. La letra 'D' corresponde a las muestras dentro del hábitat estructurado, mientras que 'F' a los sedimentos aledaños. Los valores remarcados en **negritas** indican que no se presentaron diferencias significativas dentro y fuera del hábitat estructurado ( $X^2_{crítico}=3.84$ , n=4)

Sitio	Hábitat	Replica	Mayo	Julio	Noviembre
int-BF	F	a	8.14	<b>13.08</b>	0.17
		b	11.49	<b>13.13</b>	5.32
	D	a	8.92	<b>12.67</b>	13.00
		b	7.22	<b>12.70</b>	17.00
Nautilus	F	a	21.57	14.55	10.11
		b	18.45	14.02	8.29
	D	a	15.33	16.37	7.25
		b	14.31	15.50	6.79
ref-BF	F	a	9.56	10.60	3.68
		b	9.13	9.78	6.83
	D	a	4.62	6.04	2.03
		b	4.16	7.14	2.07
Lobera	F	a	10.29	13.73	3.52
		b	8.98	13.95	3.26
	D	a	6.87	8.95	14.88
		b	7.20	11.98	7.57
ref-BSQ	F	a	14.15	15.78	16.55
		B	14.58	14.17	18.51
	D	a	12.15	12.75	16.07
		b	15.79	13.85	15.81
Ostiones	F	a		7.20	5.36
		b		8.45	5.79
	D	a		12.90	6.82
		b		12.16	5.67

pradera. Por otro lado, las muestras dentro y fuera del hábitat estructurado en el sitio Nautilus presentaron tasas similares (entre 15 y 20  $\text{nmol N}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) durante mayo y julio, pero durante noviembre los valores fueron menores, oscilando entre 6.8 y 10.1  $\text{nmol N}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . En el sitio más expuesto a la influencia oceánica (Lobera), los valores mínimos (3.3 y 3.5  $\text{nmol N}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) se observaron en el mes de noviembre y los máximos (13.7 y 13.9  $\text{nmol N}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) en julio, en ambos casos fuera de la pradera (Tabla 1).

En el set de muestras para determinar la influencia de los ostiones en las DNFpr, el sitio Ostiones presentó un intervalo de 7.2 a 12.9  $\text{nmol N}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  durante el muestro en julio, mientras que durante noviembre las tasas se redujeron aproximadamente la mitad (5.3 a 6.8  $\text{nmol N}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ). En el sitio ref-BF las DNFpr fueron menores que 10  $\text{nmol N}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  en los dos meses muestreados, en tanto que el sitio ref-BSQ presentó tasas de 13.7 a 18.5  $\text{nmol N}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (Tabla 1). En general, considerando todos los muestreos y sitios del estudio, el sitio ref-BSQ presentó la tasa promedio de desnitrificación potencial más alta ( $15.0 \pm 1.4 \text{ nmol N}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ;  $n = 12$ ).

## 6.2 Efecto de los pastos marinos en DNFpr

Durante el mes de mayo, en los tres sitios la DNFpr fue menor en los sedimentos dentro de las praderas; la DNFpr también fue menor en las praderas durante el mes de julio pero únicamente en el sitio Lobera y en noviembre únicamente en Nautilus. En el mes de julio el sitio int-BF no presentó diferencias significativas, mientras que en el sitio Nautilus, la DNFpr fue mayor dentro de la pradera de pastos. La DNFpr también fue mayor dentro de la pradera en los sitios int-BF y Lobera durante el mes de noviembre (Fig. 7).

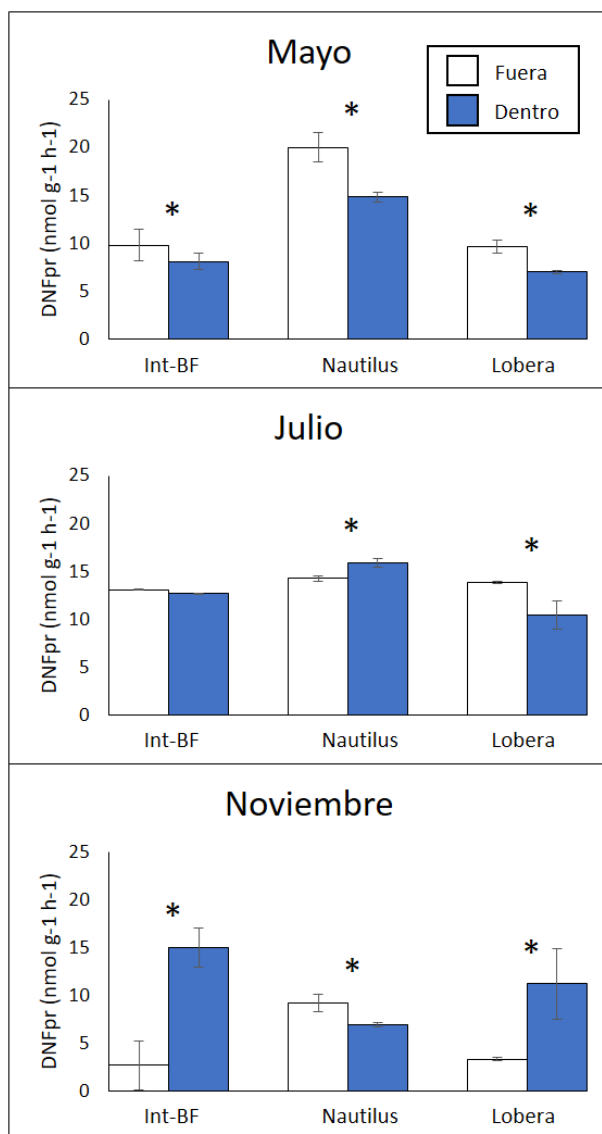


Figura 7. Efecto de pastos marinos en DNFpr (expresado en  $\text{nmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) durante los tres meses muestreados. Las barras sombreadas representan las muestras tomadas dentro de hábitats estructurados, mientras que el área blanca representa el sedimento adyacente en cada sitio. El asterisco (\*) representa los sitios donde se encontraron diferencias significativas entre hábitats (en cada comparación;  $X^2_{\text{critico}}=3.84$ ,  $n=4$ ).

### 6.3 Efecto de los ostiones en DNFpr

Durante julio, las tasas de desnitrificación potencial en el sitio Ostiones en el sedimento ubicado debajo de las racas fueron mayores que en el sedimento

adyacente y que en los sedimentos del sitio ref-BF, pero fueron estadísticamente iguales que las tasas encontradas en el sedimento del hábitat estructurado de ref-BSQ y menores que las tasas del sedimento sin vegetación de dicho sitio. Los valores de DNFpr encontrados en los sedimentos adyacentes a las racas de cultivos solo fueron mayores que las tasas del sedimento dentro de la pradera de pastos de ref-BF y fueron menores en el resto de las comparaciones (Fig. 8). Durante noviembre las DNFpr también fueron mayores debajo de las racas de cultivos en comparación con el sitio adyacente y con el sitio ref-BF. Durante este mes, las tasas de los dos hábitats en el sitio ref-BSQ fueron más del doble que las tasas debajo de las racas; los valores de DNFpr en el sedimento adyacente del sitio Ostiones fueron únicamente mayores que las tasas en el sitio ref-BF (Fig. 8).

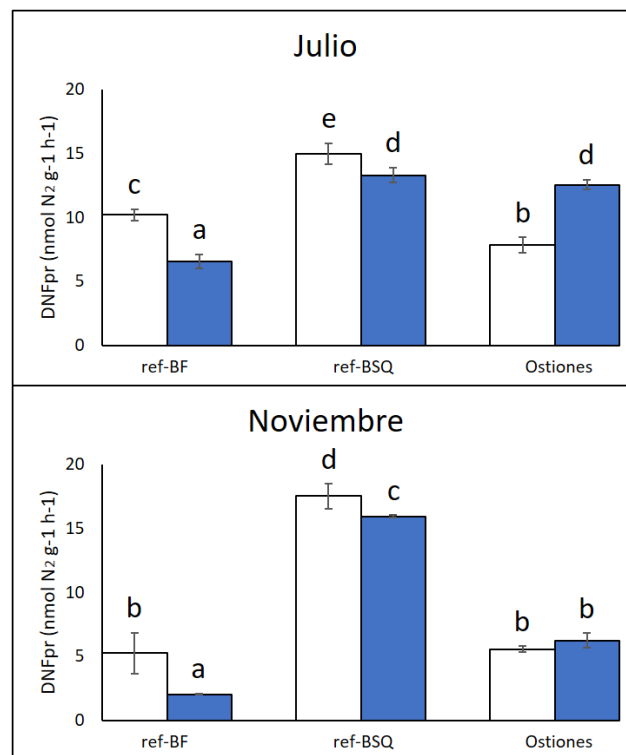


Figura 8. Efecto del cultivo de ostiones en DNFpr (expresado en nmol g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>). El área sombreada representa las muestras tomadas dentro de los hábitats estructurados de cada sitio y el área blanca representa las muestras recolectadas en el sedimento adyacente. Los subíndices representan diferencias significativas y similitudes entre los valores de DNFpr (en cada comparación;  $\chi^2_{crítico}=3.84$ , n=4).

## 6.4 Efecto de hábitats estructurados en las variables control

Los intervalos de los valores de CO, NT y CO lábil (expresados en mmol gps<sup>-1</sup>) para las muestras de todo el estudio fueron 0.11 a 2.25 ( $\bar{x}=0.66\pm0.46$ , n=34), 0.021 a 0.202 ( $\bar{x}=0.068\pm0.029$ , n=28) y 0.03 a 1.2 ( $\bar{x}=0.23\pm0.24$ , n=36), respectivamente. La razón molar C:N varió de 4.9 a 27.5 ( $\bar{x}=10.3\pm3.9$ , n=28). Los valores más elevados de cada variable se presentaron en los sitios int-BF y ref-BSQ (Tabla 2).

Excluyendo el sitio ref-BF, durante los tres meses muestreados se encontraron diferencias significativas en los valores de las variables control dentro y fuera de los hábitats estructurados de cada sitio (en cada comparación W n=4 y  $\alpha=0.05$ ; Tabla 2). Sin embargo, no se presentó un patrón espacial ni temporal en estas diferencias.

En el caso del CO, se encontraron valores estadísticamente mayores dentro de las praderas, en comparación con los sedimentos adyacentes, en los sitios de Int-BF en noviembre y Lobera en julio y noviembre. En los sitios Ostiones y ref-BF no se encontraron diferencias en el contenido de CO dentro y fuera del hábitat estructurado (Tabla 5). Únicamente en Nautilus en mayo y ref-BSQ en julio los contenidos de CO fueron estadísticamente mayores fuera de las praderas. Por otro lado, el contenido de NT únicamente presentó diferencias significativas entre sedimentos dentro y fuera del hábitat estructurado para el sitio int-BF. En este sitio, NT fue mayor dentro de la pradera de pastos marinos durante los tres meses muestreados (Tabla 2).

Cuando se encontraron diferencias significativas, la relación molar C:N fue mayor para las muestras de sedimento dentro del hábitat estructurado. Los sitios int-BF, Nautilus y Ostiones presentaron diferencias durante el mes de noviembre, mientras que el sitio Lobera presentó diferencias durante julio (Tabla 2).

Tabla 2. Promedio y desviación estándar de las diferentes variables medidas en el sedimento, (CO) Carbono Orgánico, (NT) Nitrógeno Total, (COL) Carbono Orgánico Lábil expresados en mmol g<sup>-1</sup> y (C:N) la relación molar Carbono:Nitrógeno. Los valores resaltados en **negritas** representan las comparaciones en donde se encontraron diferencias significativas dentro y fuera del hábitat estructurado, de cada sitio, en los tres meses muestreados (en cada comparación; *W* n=4 y  $\alpha=0.05$ ).

	Int-BF		Nautilus		Lobera		Ostiones		ref-BF		ref-BSQ	
	Dentro	Fuera	Dentro	Fuera	Dentro	Fuera	Racas	Pasillo	Dentro	Fuera	Dentro	Fuera
CO												
May	1.61 ± 0.48	1.37 ± 0.06	<b>0.33 ± 0.04</b>	<b>0.43 ± 0.12</b>	0.24 ± 0.08	0.17 ± 0.00			0.29 ± 0.04	0.26 ± 0.1	1.08 ± 0.10	1.14 ± 0.3
Jul	1.36 ± 0.23	1.15 ± 0.07	0.39 ± 0.04	0.4 ± 0.04	<b>0.37 ± 0.06</b>	<b>0.2 ± 0.03</b>	0.31 ± 0.04	0.29 ± 0.04	0.36 ± 0.09	0.29 ± 0.01	<b>1.18 ± 0.05</b>	<b>1.51 ± 0.31</b>
Nov	<b>1.44 ± 0.05</b>	<b>0.99 ± 0.05</b>	0.45 ± 0.04	0.39 ± 0.06	<b>0.42 ± 0.05</b>	<b>0.32 ± 0.02</b>	0.31 ± 0.02	0.29 ± 0.03	0.56 ± 0.04	0.46 ± 0.11	1.10 ± 0.12	0.90 ± 0.27
NT												
May	<b>0.15 ± 0.04</b>	<b>0.11 ± 0.01</b>									0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.05
Jul	<b>0.12 ± 0.02</b>	<b>0.09 ± 0.00</b>	0.06 ± 0.00	0.06 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.08 ± 0.00
Nov	<b>0.09 ± 0.00</b>	<b>0.07 ± 0.01</b>	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.06 ± 0.00	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.06 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.08 ± 0.01
C:N												
May	10.7 ± 1.5	12.2 ± 0.8									13.5 ± 1.7	16 ± 7.1
Jul	12.6 ± 1.7	13.1 ± 1.0	6.8 ± 0.7	7.0 ± 0.7	<b>9.1 ± 1.1</b>	<b>6.5 ± 0.5</b>	6.5 ± 0.6	6.1 ± 0.5	10.6 ± 1.3	8.3 ± 1.0	15.5 ± 0.4	17.7 ± 2.9
Nov	<b>16.9 ± 0.3</b>	<b>13.3 ± 0.6</b>	<b>9.3 ± 0.8</b>	<b>7.2 ± 0.9</b>	7.4 ± 0.6	8.1 ± 4.8	<b>6.7 ± 0.3</b>	<b>6.1 ± 0.4</b>	8.3 ± 0.3	7.5 ± 1.0	12.5 ± 0.8	11.6 ± 0.22
COL												
May	1.01 ± 0.25	0.72 ± 0.09	0.28 ± 0.04	0.33 ± 0.10	0.19 ± 0.05	0.18 ± 0.02			0.21 ± 0.03	0.21 ± 0.10	0.71 ± 0.05	0.75 ± 0.16
Jul	0.36 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.02	<b>0.11 ± 0.02</b>	<b>0.06 ± 0.01</b>	<b>0.11 ± 0.02</b>	<b>0.08 ± 0.01</b>	0.22 ± 0.06	0.12 ± 0.02	0.34 ± 0.04	0.36 ± 0.03
Nov	0.09 ± 0.06	0.12 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.06 ± 0.01	<b>0.05 ± 0.01</b>	<b>0.03 ± 0.00</b>	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.09 ± 0.03	<b>0.18 ± 0.01</b>	<b>0.07 ± 0.05</b>

La concentración de COL fue mayor dentro los hábitats estructurados en las muestras en las que se obtuvieron diferencias significativas. Durante el muestreo en mayo, la diferencia en la concentración de COL se presentó para los sitios Lobera y Ostiones, mientras que en noviembre se presentó para los sitios Lobera y ref-BSQ (Tabla 2).

#### 6.4.1 Efecto estacional en las variables control de la DNF

El efecto estacional de los hábitats estructurados sobre las variables control solo pudo ser medido en las variables de CO y COL, debido a la falta de datos en las variables NT y C:N durante mayo. El sitio Ostiones, no fue considerado para evaluar el efecto estacional porque no se tomaron datos durante mayo.

El contenido de CO presentó un patrón estacional únicamente para las muestras de int-BF (mayo>julio>noviembre) y Lobera (noviembre>julio>mayo), en las muestras de sedimento adyacentes de los hábitats estructurados respectivos a cada sitio. En el resto de los sitios, existe similitud entre 2 o incluso los tres muestreos (Fig. 9, A).

El COL presentó un patrón estacional (may>jul>nov), dentro y fuera del hábitat estructurado, para los sitios int-BF, Nautilus, Lobera y ref-BSQ. El sitio ref-BF, dentro de la pradera de pasto, presenta un valor similar para mayo y julio, pero menor en noviembre. El sedimento sin vegetación de este último sitio fue el único que no presentó diferencias significativas entre meses en el contenido de COL (Fig. 9, B).

#### 6.4.2 Efecto del hábitat estructurado en el tamaño medio de grano

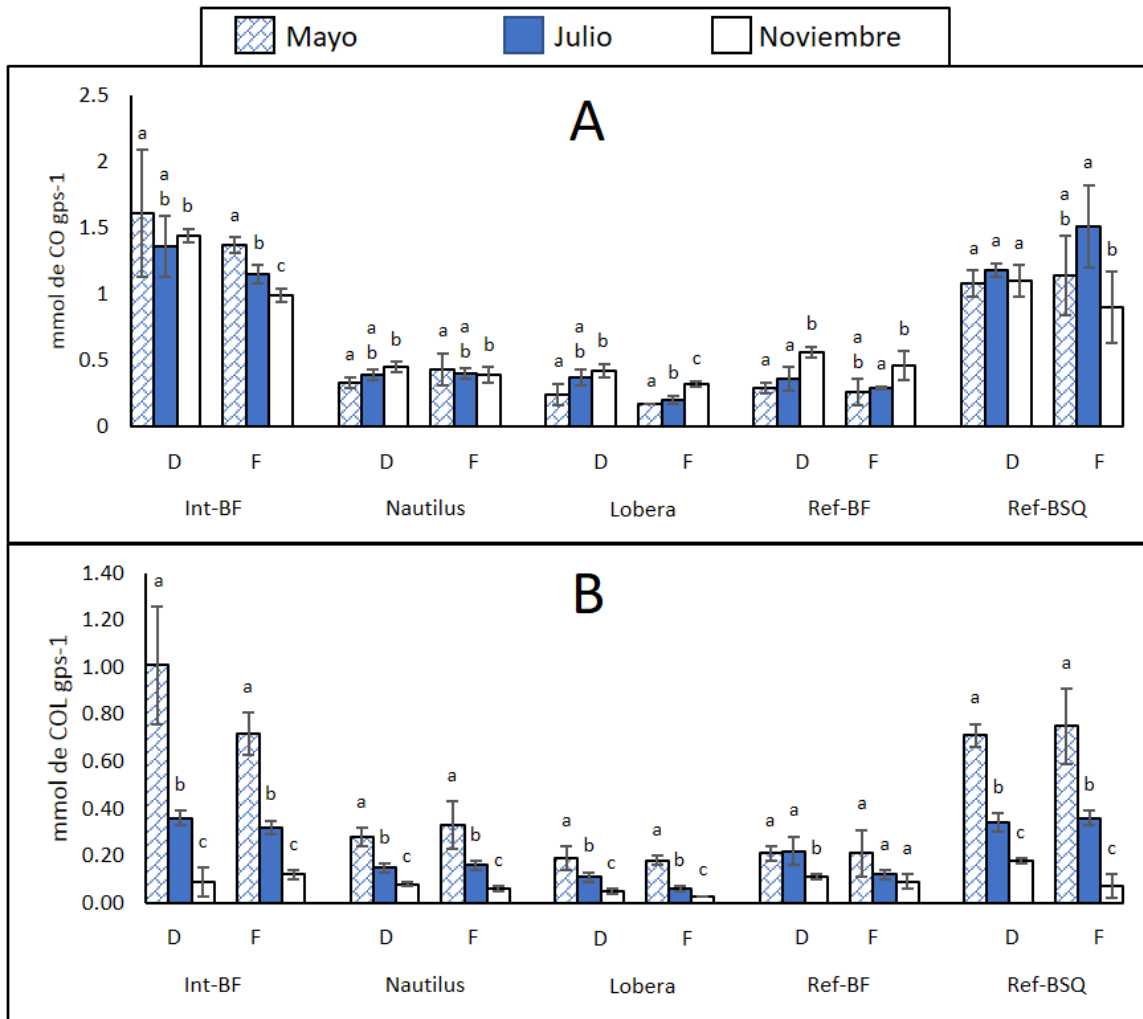


Figura 9. Resultados de (A) concentración de Carbono Orgánico (mmol gps<sup>-1</sup>) y (B) concentración de Carbono Orgánico Lábil (mmol gps<sup>-1</sup>), durante los tres meses muestreados (mayo, julio y noviembre), dentro y fuera del hábitat estructurado de cada sitio. Las diferencias significativas están expresadas por las letras en la parte superior de cada barra (en cada comparación W n=10 y  $\alpha=0.05$ ).

No se encontraron diferencias significativas entre los parámetros granulométricos tomados en los diferentes meses, por lo cual se seleccionó uno solo de los meses (mayo) para determinar el efecto de los hábitats estructurados en los primeros 5 cm de sedimento (Tabla 3). En el total de las muestras (n = 12), los valores del tamaño medio de grano se encontraron entre 50 y 150  $\mu\text{m}$ , es decir, con una clasificación de limo grueso a arena fina. El promedio del tamaño medio de grano más grande se presentó en el sitio con la mayor influencia oceánica (Lobera) y en

el sitio Ostiones. Los valores más bajos se encontraron en el sitio int-BF con promedios de 52.5 y 53  $\mu\text{m}$  dentro y fuera del hábitat estructurado del sitio, respectivamente (Tabla 3).

El contenido de lodos (limos y arcillas) fue mayor en el sitio int-BF con aproximadamente 70% de la muestra. La proporción se redujo a ~38% en Nautilus, y alcanza valores de 27 y 11% en el sitio Lobera dentro y fuera del hábitat estructurado, respectivamente. La referencia del brazo oeste, ref-BSQ, presentó mayor contenido de limos y arcillas (>40%) en comparación con el sitio de referencia ubicado en brazo este (<26%), ref-BF. El sitio Ostiones presentó mayor acumulación de limos y arcillas en los sedimentos ubicados debajo de las racas de producción, alcanzando más del 35%, en comparación con las muestras tomadas en el sitio adyacente a los ostiones (<30%).

Tabla 3. Valores de las variables granulométricas de los diferentes sitios, dentro (D) y fuera (F) de sus respectivos hábitats estructurados. Los sitios marcados con un asterisco (\*) indican que se encontraron diferencias significativas ( $n=5$ ,  $\alpha=0.05$ ) entre el tamaño medio de grano del sedimento dentro del hábitat estructurado, en comparación con el sedimento del sitio adyacente.

Sitio	Hábitat	Arena %	Limo %	Arcilla %	Tama. Med. $\mu\text{m}$	Moda $\mu\text{m}$
Int BF	D	26.64	70.34	3.02	49.68	42.05
	F	29.78	67.52	2.70	53.54	47.95
Nautilus	D	62.50	35.46	2.04	103.82	142.32
	F	61.02	36.54	2.44	101.76	142.88
Ostiones	D	63.04	33.34	3.62	119.84	163.98
	F	70.24	26.54	3.22	129.88	164.39
Lobera*	D	72.22	25.84	1.94	124.12	142.99
	F	88.90	9.96	1.14	154.26	144.28
ref BF	D	71.50	25.8	2.70	121.68	142.61
	F	74.34	23.66	2.00	121.92	142.44
ref BSQ	D	31.65	61.76	3.52	68.10	42.01
	F	50.26	45.26	4.48	89.06	106.36

Únicamente en el sitio Lobera se encontraron diferencias significativas en el tamaño medio de grano, entre los sedimentos dentro del hábitat estructurados y los recolectados en zonas adyacentes (Tabla 3).

## 6.5 Relación entre variables control y DNFpr.

Por no haberse realizado el muestreo del sitio **Ostiones** y por problemas en la determinación de las concentraciones de NT en el mes de mayo, únicamente se realizó el análisis de correlación entre variables para los muestreos de julio y noviembre (Spearman,  $\alpha=0.05$  y  $n_{CO}=111$ ;  $n_{NT}=117$ ;  $n_{C:N}=109$ ;  $n_{COL}=117$ ). En el análisis se incluyeron los datos de todos los sitios y los datos dentro y fuera del hábitat estructurado, separados por mes (Tabla 4).

En julio y noviembre las variables control estuvieron significativamente correlacionadas. La correlación entre las variables CO, NT, C:N y COL fue positiva, mientras que estas variables presentaron correlación negativa con el tamaño medio de grano (Tabla 4). Por otro lado, ninguna de las variables control presentó correlación estadísticamente significativa con las tasas potenciales de desnitrificación (Tabla 4).

## 6.6 Estimación de Anammox a través de la producción del isotopólogo $^{29}N_2$

La producción de  $^{29}N_2$  durante las incubaciones varió entre  $0.05 \pm 0.01$  nmol  $N_2$   $g^{-1}$   $h^{-1}$ , dentro del hábitat estructurado del sitio ref-BF en el mes de noviembre, hasta  $2.14 \pm 0.32$  nmol  $N_2$   $g^{-1}$   $h^{-1}$  fuera del hábitat para Nautilus (Tabla 5). En ninguno de los sitios la producción del  $^{29}N_2$  representó más del 9% de la producción del

Tabla 4. Correlación entre las tasas potenciales de desnitrificación (DNFpr) y los resultados de variables control (CO) Carbono Orgánico, (NT) Nitrógeno Total, (C:N) relación molar Carbono:Nitrógeno, (COL) Carbono Orgánico Lábil, (TamGran) Tamaño medio de grano, medidas en cada sitio, dentro y fuera de hábitats estructurados, durante julio y noviembre. Los valores sombreados en color verde representan que se encontró una correlación estadísticamente significativa, mientras que los rojos representan las comparaciones en las que no se encontró correlación (Spearman, n=variable,  $\alpha=0.05$ ).

	JULIO						NOVIEMBRE					
	CT	NT	C:N	CO Labil	Tam Gran	DNFpr	CT	NT	C:N	CO Labil	Tam Gran	DNFpr
CT	1	0.89	0.8	0.91	-0.89	0.47	1	0.94	0.92	0.92	-0.92	0.3
NT		1	0.59	0.75	-0.92	0.45		1	0.76	0.87	-0.8	0.43
C:N			1	0.91	-0.73	0.17			1	0.81	-0.89	0.22
CO Labil				1	-0.87	0.3				1	-0.89	0.04
Tam Gran					1	0.4					1	-0.15
DNFpr						1						1

$^{30}\text{N}_2$ . Fuera del hábitat estructurado durante los tres meses muestreados en el sitio Nautilus y fuera del hábitat en el sitio de Ostiones (únicamente durante julio), se presentaron porcentajes entre 5 y 9%. En el resto de las incubaciones el porcentaje de producción del  $^{29}\text{N}_2$  fue menor al 5% del total de la producción del  $^{30}\text{N}_2$  en cada incubación (Tabla 5).

Durante las incubaciones en mayo con adición de acetato, la producción de  $^{29}\text{N}_2$  se elevó hasta valores de  $3.5 \text{ nmol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , representando alrededor del 20% de la respectiva producción de  $^{30}\text{N}_2$ .

Tabla 5. Tasa de producción del isotópologo  $^{29}\text{N}_2$  (en  $\text{nmol de } ^{29}\text{N}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) y porcentaje de la razón de la producción de  $^{29}\text{N}_2$  entre la producción de  $^{30}\text{N}_2$ , durante las incubaciones de cada hábitat, en los tres meses muestreados.

Sitio	Hábitat	Mayo		Julio		Noviembre	
		Anammox	$^{29}\text{N}_2/^{30}\text{N}_2*100$	Anammox	$^{29}\text{N}_2/^{30}\text{N}_2*100$	Anammox	$^{29}\text{N}_2/^{30}\text{N}_2*100$
		$\text{nmol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	%	$\text{nmol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	%	$\text{nmol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	%
int-BF	D	$0.09 \pm 0.03$	1	$1.42 \pm 0.25$	4.3	$0.85 \pm 0.16$	4.6
	F	$0.22 \pm 0.07$	1.9	$1.5 \pm 0.26$	4.5	$0.12 \pm 0.08$	1.9
Nautilus	D	$0.17 \pm 0.03$	1	$1.2 \pm 0.14$	3.3	$0.17 \pm 0.03$	2.1
	F	$1.40 \pm 0.2$	6.5	$2.14 \pm 0.32$	5.8	$0.58 \pm 0.08$	5.5
Ostiones	D			$1.6 \pm 0.44$	4.8	$0.22 \pm 0.05$	2.9
	F			$1.87 \pm 0.39$	8.6	$0.25 \pm 0.05$	2.8
ref-BF	D	$0.09 \pm 0.01$	1.9	$0.53 \pm 0.12$	3.2	$0.05 \pm 0.01$	2
	F	$0.49 \pm 0.25$	4	$0.75 \pm 0.14$	2.9	$0.16 \pm 0.04$	2.8
Lobera	D	$0.13 \pm 0.08$	1.7	$0.89 \pm 0.1$	4.1	$0.21 \pm 0.12$	2.5
	F	$0.12 \pm 0.05$	1	$1.52 \pm 0.12$	4.4	$0.18 \pm 0.03$	4.6
ref-BSQ	D	$0.27 \pm 0.06$	1.8	$0.86 \pm 0.15$	2.7	$0.47 \pm 0.06$	3.2
	F	$0.66 \pm 0.24$	3.2	$1.2 \pm 0.21$	3.3	$0.65 \pm 0.09$	3.2

# 7. DISCUSIONES

## 7.1 Tasas potenciales de DNF elevadas durante el estudio.

En este estudio realizamos las primeras mediciones directas de las tasas de desnitrificación en sedimentos de Bahía San Quintín, Baja California, con el objetivo de determinar el efecto de las praderas de pastos marinos y cultivos de ostiones en estas tasas. Estas mediciones se realizaron con la técnica de pareamiento isotópico (IPT) con la cual se determinan, más que las tasas de desnitrificación in situ, las tasas potenciales de desnitrificación (DNFpr) bajo condiciones de no limitación de nitrato. Las tasas medidas en nuestro estudio resultaron notoriamente elevadas cuando se comparan con las tasas obtenidas para otros sitios donde se midió la desnitrificación con la misma técnica, por lo que antes de discutir los efectos de los hábitats estructurados se contrastan nuestras tasas con las de otros estudios (normalizando los datos a unidades de  $\text{mmol N}_2 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  para hacerlos comparables) y se ofrece una posible explicación del porqué de dichas tasas elevadas.

Las tasas de DNFpr en BSQ se presentaron en un intervalo de variación de un orden de magnitud ( $2.2 - 21.6 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ), con un valor promedio de  $11.4 \pm 4.9 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . Con base en 98 datos de tasas de desnitrificación, medidas con la IPT, reportados en 41 estudios de sitios someros, se generó un histograma de frecuencias (Fig. 10). En este histograma se puede observar que la mayoría (>85%) de los datos se encuentran por debajo de  $2 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  y los valores máximos ( $n = 5$ ) se encuentran en el intervalo de  $5.1$  a  $6 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . En nuestro estudio, 27 de las 34 mediciones fueron mayores que  $6 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . Cabe aclarar que, con los resultados de un modelo de cajas, de balance de masas (el modelo de LOICZ) que incluye el balance de NID, Camacho-Ibar *et al.* (2003) ya habían sugerido que las tasas de desnitrificación

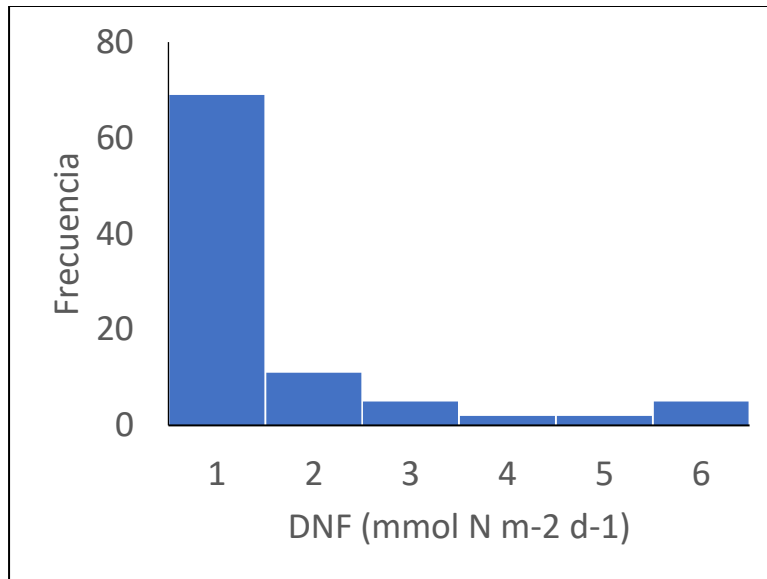


Figura 10. Histograma de frecuencias de 92 tasas de desnitrificación (en mmol de N m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>), obtenidas utilizando la técnica de pareamiento isotópico, en 41 estudios en sedimentos de zonas costeras.

en BSQ eran elevadas. Estos autores calcularon una tasa de desnitrificación aparente (el balance entre la fijación de nitrógeno y la desnitrificación) de ~4 mmol N m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup> para el modelo de una sola caja (toda la bahía) en los meses de agosto, en tanto que para la caja adyacente al océano (modelo de tres cajas) estimaron una tasa de ~7 mmol N m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>. Más tarde, Hernández-Ayón *et al.* (2004), únicamente para el brazo de Bahía Falsa, estimaron con el mismo modelo tasas de desnitrificación aparente entre 0.5 y 6.9 mmol N m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>.

Si bien las tasas de DNF<sub>pr</sub> en nuestro estudio son claramente más altas que las de los estudios incluidos en el histograma, cabe mencionar que tasas de DNF similares o más elevadas que en BSQ han sido reportadas para otros sitios donde las determinaciones se realizaron con técnicas diferentes a la IPT. Por ejemplo, Hoellein y Zarnoch (2014) reportaron tasas de DNF<sub>pr</sub> (medidas con el método de inhibición con acetileno) en un intervalo de 21 a 107 mmol N m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> para sedimentos de Jamaica Bay (Nueva York, Estados Unidos), un estuario urbanizado que recibe una de las cargas más altas de N en el mundo. Por otro

lado, Kellog et al. (2013) reportaron tasas de desnitrificación (medidas con el método de flujos de  $N_2$ ) entre 0.9 y 2.6  $mmol\ N\ m^{-2}\ d^{-1}$  para sitios sin ostiones, y entre 6.0 y 38.1  $mmol\ N\ m^{-2}\ d^{-1}$  para un sitio con bancos restaurados de ostiones en el estuario del Río Choptank en la Bahía Chesapeake. Igualmente, utilizando el método de flujos de  $N_2$  y con un muestreo de primavera a otoño a lo largo de dos años en la laguna costera de Ninigret Pond (Rhode Island, Estados Unidos), Humphries et al. (2016) reportaron un valor promedio equivalente a  $\sim 14\ mmol\ N\ m^{-2}\ d^{-1}$  para un sitio con bancos de ostiones y un valor de  $\sim 8\ mmol\ N\ m^{-2}\ d^{-1}$  para un sitio con cultivos de ostión. Por su parte, Smith et al. (2015) reportaron promedios anuales en las DNFpr (medidas con el método de bloqueo con acetileno) para seis sitios en el estuario Elkhorn Slough (California, Estados Unidos), en el intervalo de 2.2 a 32.6  $mmol\ N\ m^{-2}\ d^{-1}$ . Este estuario, como en el caso de BSQ, está localizado en la costa del Pacífico Nororiental por lo que está influenciado por surgencias.

Algunos estudios han sugerido que la demanda de oxígeno del sedimento (SOD por sus siglas en inglés) es uno de los factores principales que determinan la magnitud de las tasas de desnitrificación bentónica (Eyre & Ferguson, 2009; Phieler y Smyth, 2011; Eyre *et al.*, 2013; Brin *et al.*, 2014; Humphries *et al.*, 2016). En estos estudios, que incluyeron distintos tipos de hábitats bentónicos y diferentes épocas del año, se reportan relaciones lineales entre la SOD y las tasas de desnitrificación. La intensidad de la relación SOD vs. DNF, reflejada en el valor de la pendiente, es principalmente determinada por la cantidad y la calidad de la materia orgánica en el sedimento (Eyre y Ferguson, 2009; Eyre *et al.*, 2013). Sin embargo, es importante mencionar que existe aparentemente una carga óptima de carbono orgánico hacia los sedimentos donde la desnitrificación es máxima, ya que un exceso de materia orgánica puede inducir condiciones anóxicas que limiten la producción de nitrato a través de la nitrificación o incluso generen producción de ácido sulfhídrico, a través de la reducción de sulfato, que inhibe la

actividad de las bacterias desnitrificadoras (Eyre y Ferguson, 2008; Fulweiler et al., 2008; Kraft et al., 2014).

Aunque en el presente estudio no se determinó la tasa de consumo de oxígeno en los sedimentos, se determinó el contenido total de carbono orgánico y de nitrógeno, así como indicadores de la labilidad de la materia orgánica (i.e., la razón C:N y el carbono orgánico lábil estimado por calcinación). El contenido de carbono orgánico en los sedimentos de BSQ reportado en este estudio es bajo, presentando valores menores que  $1 \text{ mmol C g}^{-1}$  en 70% del total ( $n = 170$ ) y menor que 1.6 en 96% de las muestras. La magnitud de estos valores coincide con los bajos valores reportados para esta laguna por Daesslé et al. (2009). Por otro lado, la fracción lábil del carbono total fue muy variable, con 36% de los datos presentando valores relativamente bajos ( $< 0.25$ ) mientras que 50% presentó una fracción lábil entre 0.25 y 0.80. Igualmente la relación C:N fue muy variable, con 37% del total de los valores ( $n = 136$ ) presentando razones entre 4.9 y 7.7, lo que reflejaría una alta labilidad y 20% de los valores entre 7.7 y 10.4, reflejando una labilidad intermedia.

Las tasas de desnitrificación en sedimentos de Bahía San Quintín son altas, a pesar de presentar una baja acumulación de materia orgánica, por lo que proponemos que los sedimentos en esta laguna costera tienen un comportamiento biogeoquímico similar al reportado para sedimentos altamente permeables (Boudreau et al., 2001; Huettel et al., 2014). De acuerdo con Huettel et al. (2014), "la influencia de la permeabilidad en los procesos biogeoquímicos y biológicos es perceptible en la capa superior de los sedimentos, cuando los gradientes de presión en el ambiente bentónico controlan los flujos de agua intersticial que transportan solutos y partículas pequeñas más eficientemente que los movimientos moleculares Brownianos"; este umbral se alcanza cuando la permeabilidad ( $k$ ) excede  $10^{-12} \text{ m}^{-2}$ . En el caso de BSQ, con la excepción de los sitios int-BF y ref-BSQ, los sedimentos presentaron valores de la mediana del tamaño de grano entre 93 y 147  $\mu\text{m}$  (Tabla 3). La distribución del tamaño de grano

en las muestras fue en general unimodal, con moda alrededor de 140  $\mu\text{m}$ . Utilizando la relación empírica entre tamaño de grano y permeabilidad reportada por Wilson et al. (2008), estos valores corresponderían a permeabilidades entre  $10^{-12}$  y  $10^{-11}\text{m}^2$ , valores aún considerados dentro de la categoría de sedimentos permeables (Huettel et al., 2014). Si bien los sedimentos de BSQ se encuentran cerca del límite inferior en la categoría de sedimentos permeables, se encuentran sujetos a un alto flujo de materia orgánica por presentarse alta productividad primaria bentónica y una alta importación de material fitoplanctónico del mar adyacente (Camacho-Ibar et al., 2003). No encontramos en la literatura publicaciones sobre tasas de desnitrificación bentónica en sitios donde se combinan estos factores. Los estudios sobre la desnitrificación en sedimentos permeables comprenden en su mayoría muestras tomadas en depósitos arenosos de la plataforma continental, con valores de permeabilidad de entre  $10^{-12}$  y  $10^{-9}\text{m}^2$ . Por otro lado, la mayoría de los estudios de desnitrificación bentónica en estuarios, se realizaron en sitios con sedimentos considerados como no permeables ( $<10^{-11}$ ).

Antiguamente se creía que los sedimentos permeables, representados principalmente por arenas en las plataformas continentales, eran "desiertos geoquímicos" debido a las bajas concentraciones de materia orgánica y otros sustratos reactivos. Sin embargo, estudios de la década de los 1990's rompieron con dicho paradigma, al demostrar que los sedimentos permeables son altamente reactivos, y que la reactividad de la materia orgánica incrementa con el tamaño medio de grano (Boudreau *et al.*, 2001). Diversos estudios han demostrado que por la alta permeabilidad, la materia orgánica puede inyectarse y transportarse por advección a mayores profundidades entre los poros de los sedimentos, presentando así altas tasas de respiración (Franke *et al.* 2006). En los sedimentos permeables, los flujos advectivos dominan el intercambio de materiales entre el agua y el sedimento, de tal forma que las tasas de intercambio de dichos materiales son mayores que por difusión molecular, en dos o más órdenes de

magnitud (Huettel *et al.* 2003). De esta manera, la penetrabilidad del oxígeno en este tipo de sedimentos es mayor que en sedimentos no permeables, alcanzando profundidades hasta de 5 cm (Huettel *et al.* 1996; Precht *et al.* 2004; Cook *et al.* 2006; Werner *et al.* 2006); igualmente, el nitrato puede penetrar hasta profundidades de 5 cm (Cook *et al.* 2006). Por otro lado, se ha demostrado que suspensiones de fitoplancton unicelular pueden penetrar 2 cm o más en sedimentos permeables, acelerando su proceso de degradación en comparación con la columna de agua (Huettel y Rusch, 2000). También, Franke *et al.* (2006) demostraron que material orgánico lábil (*Ulva lactuca*) sepultado a dos cm de profundidad en sedimentos permeables, presentó mayor degradabilidad bajo condiciones de predominio de la advección inducida con oleaje, que con predominio de difusión molecular. En este caso, Franke *et al.* (2006) sugieren que la advección incrementa la tasa de degradación de la materia orgánica particulada, al distribuir el material orgánico disuelto resultante en un mayor volumen de sedimentos permeables y las comunidades microbianas asociadas. El bajo contenido de carbono orgánico en sedimentos permeables se debe, entonces, a las altas tasas de degradación del material orgánico lábil (Huettel *et al.*, 2014).

Ya que el ciclo de N está acoplado al ciclo del C, las reacciones del ciclo del N en sedimentos permeables también son intensas. En el caso de la desnitrificación en sedimentos permeables, aunque algunos estudios reportan tasas relativamente bajas ( $< 1 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ; Vance-Harris y Ingal, 2005; Canion *et al.* 2014) otros estudios reportan tasas altas, en el intervalo de 4 a  $12 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  (Laursen y Seitzinger, 2002; Eyre *et al.*, 2008; Gao *et al.*, 2010; Gao *et al.*, 2012). Se ha propuesto que en sedimentos permeables, la desnitrificación se puede promover hasta en un factor de 5 a través de la advección de  $\text{NO}_3^-$  desde la columna de agua (Cook *et al.* 2006; Gihring *et al.* 2010). Sin embargo, otros estudios han reportado que la nitrificación bentónica aporta entre 80 y 100% del  $\text{NO}_3^-$  utilizado en la desnitrificación (Sundbäck *et al.*, 2000; Laursen y Seitzinger, 2002). Se ha

sugerido que por la advección, los sedimentos pueden estar sujetos de manera intermitente a condiciones óxicas y anóxicas, generando zonas de producción por nitrificación y respiración por desnitrificación de  $\text{NO}_3^-$  (Precht *et al.* 2004; Marchant *et al.* 2016), permitiendo que ambos procesos se acoplen. Recientemente, se ha sugerido que los microorganismos desnitrificadores en sedimentos permeables se han adaptado a fluctuaciones en el contenido de oxígeno, de tal manera que llevan a cabo este proceso en condiciones óxicas y con tasas similares a las del proceso en condiciones anóxicas (Gao *et al.*, 2010; Marchant *et al.* 2017). También se ha sugerido que estas bacterias son capaces de acumular intracelularmente nitrato en concentraciones hasta 6 veces mayores que la del agua intersticial, el cual utilizan para la desnitrificación en condiciones de limitación (Marchant *et al.* 2014).

## 7.2 Efecto de hábitats estructurados sobre DNFpr.

La hipótesis planteada al inicio del presente estudio fue que la DNFpr dentro de los hábitats estructurados sería mayor que en los sedimentos adyacentes, ya que se esperaba que estos hábitats presentaran un mayor contenido de sedimentos finos y una mayor acumulación de materia orgánica. Sin embargo, los valores de las variables control (carbono orgánico total, carbono orgánico lábil, nitrógeno total, la razón C:N y la composición granulométrica) no presentaron, de manera sistemática, diferencias entre los sedimentos dentro y fuera de los respectivos hábitats estructurados (Tabla 2). Estas variables presentaron correlaciones estadísticamente significativas entre ellas, pero ninguna presentó correlación con el DNFpr. En el caso del efecto de los pastos marinos, las tasas de DNFpr fueron mayores en los sedimentos fuera de las praderas en 11 de las 15 comparaciones y únicamente en tres de ellas fueron mayores dentro de la pradera. El efecto de los cultivos de ostiones tampoco fue claro, ya que la comparación de las tasas de DNFpr en el sitio con cultivos vs. la estación de referencia ref-BF sugeriría que el hábitat estructurado favoreció la intensificación de las tasas, en tanto que la

comparación con el sitio de referencia ref-BSQ sugeriría que el hábitat atenuó la desnitrificación. En este apartado se discuten las posibles causas que generan, en el sedimento de BSQ, el efecto de praderas de *Zostera marina* y cultivos de *Crassostrea gigas* en el DNFpr.

#### 7.2.1 Efecto negativo de pastos sobre el potencial de DNF en el sedimento.

Algunos estudios han sugerido que las praderas de pastos marinos intensifican las tasas de DNFpr, al estimular la nitrificación-desnitrificación acoplada por la inyección de oxígeno al sedimento a través del sistema de raíces (Flindt, 1994), o por el aporte de materia orgánica a través de la fotosíntesis (Piehler and Smyth, 2011). En otros estudios no se observaron diferencias dentro y fuera de las praderas (Risgaard-Petersen y Ottosen, 2000; Russell et al., 2016) y se sugirió que esto se debe posiblemente a que la aereación del sedimento en especies de *Zostera* se limita a la punta de las raíces, limitando así la zona de nitrificación-desnitrificación acoplada (Russell et al., 2016). Sin embargo, como en el presente estudio (Fig. 11), otros estudios han reportado una disminución de las tasas de DNFpr dentro de las praderas de *Z. marina* (Risgaard-Petersen et al., 1998). Las menores tasas de DNFpr dentro de las praderas, con relación a los sedimentos adyacentes sin pastos, podrían deberse a que las comunidades microbianas dentro de las praderas tienen una menor capacidad para realizar la desnitrificación. Esta menor capacidad se puede deber a que los organismos desnitrificadores en las praderas se han aclimatado a un ambiente con menor disponibilidad de materia orgánica lábil para ser respirada y/o a menor disponibilidad de  $\text{NH}_4$ , ya que los pastos compiten por este sustrato limitando su disponibilidad para la nitrificación. Estudios de desnitrificación en sedimentos indican que las comunidades de microorganismos desnitrificantes están adaptadas a la alta variabilidad en las condiciones ambientales, de tal manera que

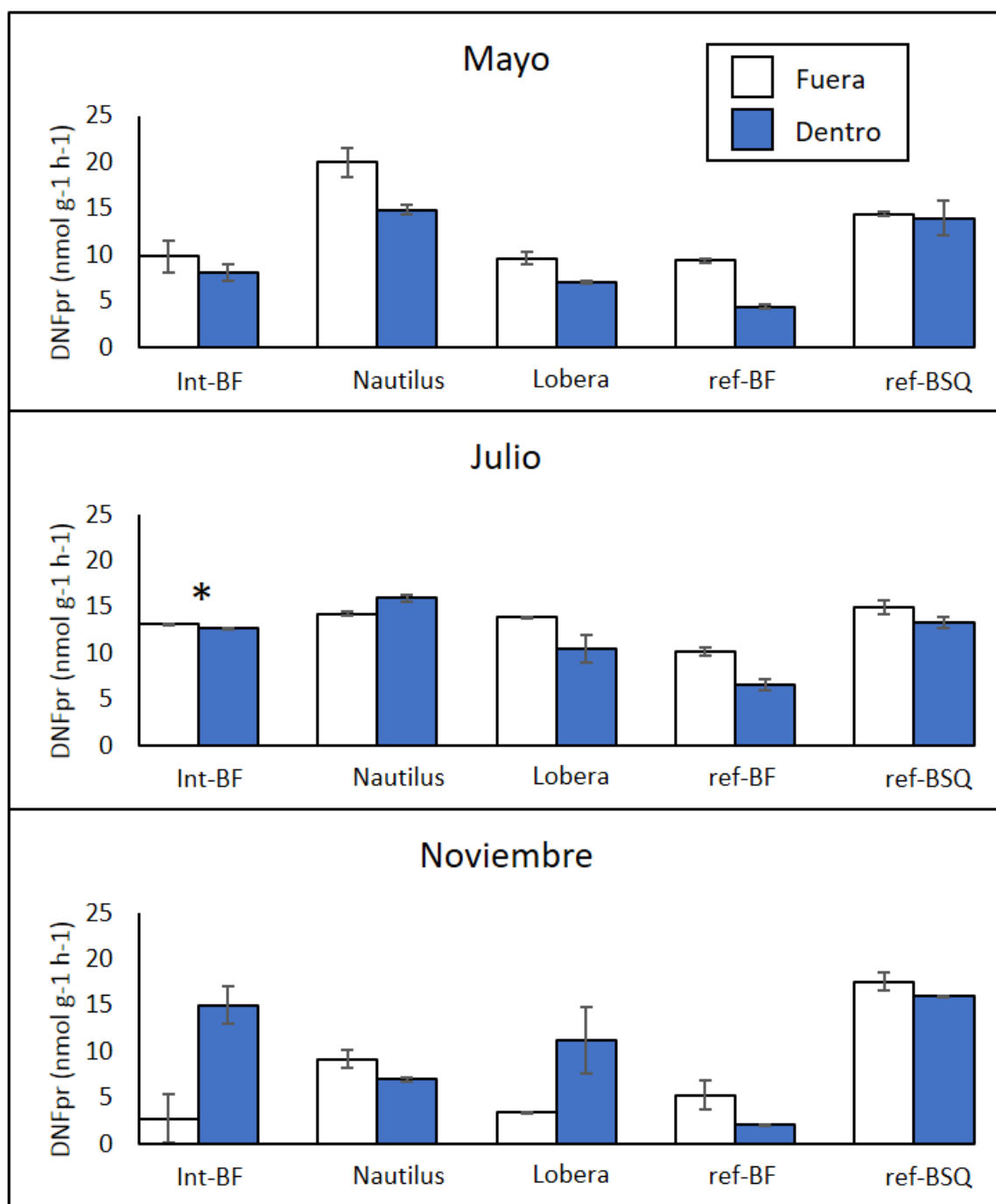


Figura 11. Potencial de Desnitrificación (DNFpr), en  $\text{nmol g}^{-1}\text{h}^{-1}$  dentro y fuera de praderas de *Zostera marina*. Al tomar en cuenta la misma comparación los sitios de referencia, incrementa la proporción de sitios donde DNFpr es menor fuera de pastos. El asterisco (\*) representa la única comparación en la que no se encontraron diferencias significativas ( $n=2$ ,  $\alpha=0.05$ ).

son capaces de responder de manera inmediata a los pulsos de sustratos (Babbin y Ward, 2013; Evrard et al., 2013). Sin embargo, Higgins et al. (2013) reportaron que existe un límite en la capacidad de desnitrificación de los sedimentos. Estos autores estimaron que la capacidad máxima de desnitrificación en sedimentos de la Bahía Chesapeake fue  $\sim 2.0$  a  $2.5 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , a pesar del incremento de los aportes de N.

Se sugiere que la materia orgánica en los sedimentos dentro de las praderas podría ser menos lábil que la materia orgánica en los sedimentos adyacentes, aunque los datos de la concentración de materia orgánica lábil dentro y fuera de las praderas no presentaron un patrón consistente. La técnica utilizada para determinar el COL en este estudio es poco precisa y además no permite identificar diferencias entre el tipo de moléculas que componen esta fracción lábil de la materia orgánica en la muestra. Como se ha reportado en otros sitios, la materia orgánica dentro de las praderas suele ser una combinación de material lábil proveniente del detritus fitoplanctónico y detritus de pastos que es relativamente refractario por tener un mayor contenido de componentes estructurales (Risgaard-Petersen, 2004). Por ejemplo, Grainer et al. (2016) reportaron un contenido de 41% de detritus de pastos y 56% de detritus de seston y diatomeas bentónicas en una pradera de *Z. marina* en una laguna costera de Virginia (Estados Unidos), en tanto que Gacia et al. (2002) reportaron que el 28% del carbono orgánico era detritus de pastos en tanto que 72% era seston, en sedimentos de una pradera de *Posidonia oceanica* en la costa mediterránea del noreste de España. Por otro lado, es posible que los sedimentos adyacentes a las praderas, tengan una mayor fracción de carbono lábil, dominado por seston y detritus de macroalgas.

7.2.2 Los ostiones no aumentan el potencial de DNF en sedimentos dentro de zonas de cultivo.

En este estudio, no se encontraron consistentemente mayores tasas de DNFpr en sedimentos dentro de zonas de cultivo, en comparación los sedimentos adyacentes a los cultivos ni con relación a los sitios de referencia (Fig. 8).

Diversos estudios han reportado que las heces y pseudoheces producidas por ostiones suelen acumularse en los sedimentos de sistemas estuarinos donde existen ostricultivos (Newell 2004; Newell *et al.*, 2005; Dumbauld, *et al.*, 2009; Higgins *et al.*, 2013; Hoellein y Zarnoch, 2014). Sin embargo, en nuestro estudio, el contenido de CO y de COL en los sedimentos dentro de zonas de cultivo de ostiones, fue similar que en el sitio Lobera y menor que en el resto de los sitios (Tabla 2). Los sedimentos en los sitios Ostiones y Lobera, localizados más cerca de la boca de la laguna, presentaron los valores de tamaño medio de grano más elevados y, en general, se observó una alta correlación ( $r > -0.87$ ) entre el tamaño de grano y el contenido de carbono total y lábil a lo largo de la laguna (Tabla 4). La distribución espacial de la composición granulométrica en Bahía Falsa (Fig. 12) indica que, en general, los sedimentos más cercanos a la boca tienen un mayor contenido de arenas, mientras que el contenido de limos incrementa hacia el interior. Una característica importante de los sedimentos en Bahía Falsa es que el contenido de arcillas es muy bajo, de tal manera que los sedimentos son no-cohesivos (Wang, 2012). Estas observaciones indican que las corrientes cercanas a la boca son intensas, evitando la acumulación de partículas finas y de los biodepósitos de los ostiones en el sedimento. BSQ presenta una amplitud de marea hasta de 2.4 m durante mareas vivas y velocidades de corrientes cercanas al fondo hasta de  $1.15 \text{ m s}^{-1}$ . En esta laguna costera tan somera, aunque los biodepósitos generados por los ostiones lleguen al fondo bajo condiciones de velocidades bajas, este material puede resuspenderse y ser redistribuido cuando las corrientes se intensifican (Wang, 2012).

Por otra parte, se han publicado estudios donde se estima que la fracción “lábil” de los biodepósitos de bivalvos, que comprende ~ 25% de los mismos (Carlsson

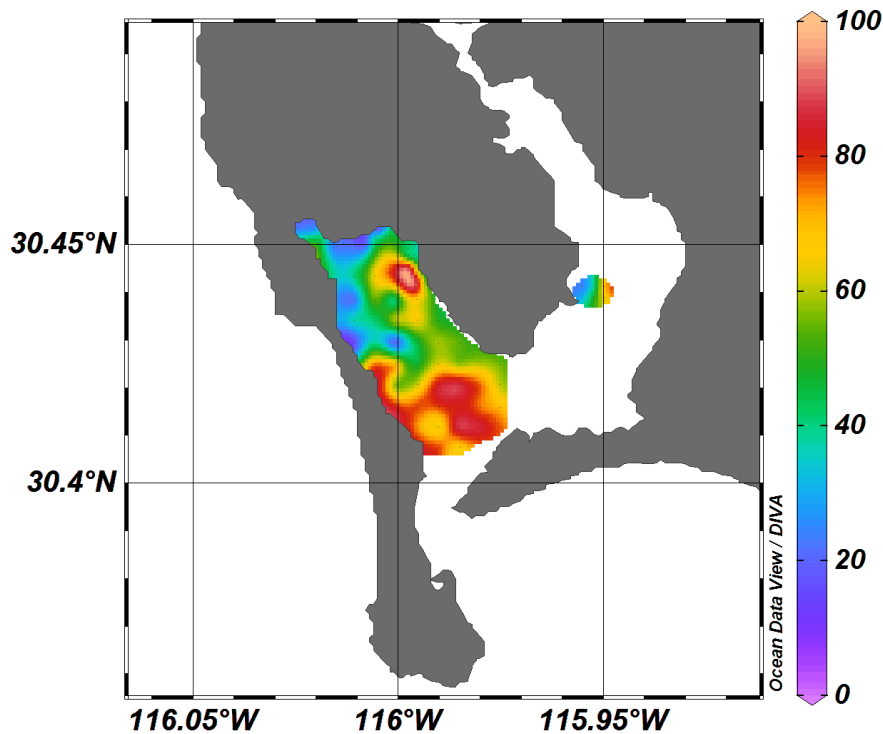


Figura 12. Distribución del porcentaje de arena en los primeros 5cm de sedimento en una maya de 98 puntos de muestreo en BF y 6 puntos en la zona de referencia de BSQ.

*et al.* 2010), puede ser completamente procesado en un periodo de entre 5 y 18 días de haber sido excretados (Carlsson *et al.*, 2010; Jansen *et al* 2012). Esto sugiere que los biodepositos pueden transportarse fuera de la zona de cultivos antes de descomponerse por completo, generando que las tasas potenciales de desnitrificación sean iguales o menores a las de sitios alejados de la influencia de los cultivos de ostiones. El efecto de los ostiones en el proceso de la desnitrificación bentónica no solo depende entonces de las tasas de generación de biodepositos, sino depende también de las condiciones hidrodinámicas que permitan o no la acumulación de estas partículas.

La hipótesis del estudio con relación al efecto de los cultivos de ostión en las tasas de DNF<sub>pr</sub> fue que estas tasas serían mayores dentro del hábitat estructurado que en los sedimentos adyacentes y que en sitios de referencia. Sin embargo, al

analizar todo el conjunto de datos (Fig. 8) se puede observar que no se presentó un aumento claro y consistente asociado con la actividad ostrícola. Diversos estudios han reportado la intensificación del proceso de DNF por la influencia de biodepósitos de organismos bivalvos (Piehler y Smyth, 2011; Humphries *et al.*, 2016; Murphy *et al.*, 2016), en algunos de ellos la intensificación reportada ha sido desde un factor de dos hasta un orden de magnitud. Por ejemplo, Piehler y Smyth (2011) reportaron tasas de DNF entre 50 y 200  $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$  en sedimentos asociados a bancos de ostión mientras que en sedimentos sin ostiones reportan un intervalo de 0 a 100  $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$ , en tanto que Humphries *et al.* (2016) reportaron valores promedio en las tasas de DNF de 24, 581 y 346  $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{h}^{-1}$  para sedimentos sin ostiones, sedimentos en bancos de ostión y sedimentos bajo cultivos de ostión, respectivamente. En otros estudios, sin embargo, se ha reportado un efecto opuesto, es decir, donde la desnitrificación bentónica fue menor en zonas influenciadas por biodepósitos (Higgins *et al.*, 2013). También hay estudios donde no se observó una diferencia en las tasas de DNF en zonas de ostricultivos con relación al sitio de referencia (Hoellein y Zarnoch, 2014), e incluso en un estudio se sugiere que el efecto de los biodepósitos en la desnitrificación bentónica depende de la etapa de crecimiento de los ostiones en el cultivo (Carmichael *et al.*, 2012). Con base en una revisión de los ostiones en el ciclo del N en diversos sistemas, Kellog *et al.* (2014) concluyen que dicho efecto puede ser negativo, positivo o nulo, y esto depende de las condiciones ambientales y de las condiciones de crecimiento de los ostiones.

Es importante mencionar, sin embargo, que la conclusión sobre el efecto de los cultivos de ostión en las tasas de DNFpr puede depender del sitio de referencia seleccionado. Al comparar únicamente los datos de los sedimentos dentro de los cultivos (sedimentos sin presencia de pastos), versus los sedimentos en los sitios de referencia fuera de las praderas, las conclusiones serían distintas. En la comparación con el sitio ref-BF se concluiría tasas son similares o solo ligeramente mayores en el sitio Ostiones, en tanto que este sitio presenta menores

tasas que en el sitio ref-BSQ (Fig. 13). Si bien los sitios de referencia se seleccionaron con base en su localización con respecto a la boca de la laguna para que las condiciones hidrodinámicas (velocidad de las corrientes) y la influencia oceánica de aportes de nutrientes y material fitoplanctónico fueran similares, el contenido de carbono orgánico y la composición granulométrica fue notoriamente distinta entre el sitio ref-BSQ y los sitios ref-BF y Ostiones. Esta observación indica que la heterogeneidad espacial en las tasas de desnitrificación bentónica en BSQ es alta y enmascara el posible efecto de los ostricultivos.

### 7.3 Posibles causas de la inhibición del proceso de DNF durante las incubaciones.

Durante las incubaciones para la estimación de las tasas de DNFpr a lo largo del estudio, en 8 de las 34 muestras (Fig. 5) se observó inhibición del proceso entre la primera y la segunda hora de incubación. Con las muestras de mayo donde se observó inhibición, se realizaron incubaciones adicionales, añadiendo acetato para determinar si la materia orgánica era el sustrato limitante. Ya que los resultados fueron similares en las incubaciones con y sin adición de acetato (Fig. 6), es decir, con adición de un exceso de materia orgánica lábil, y debido a que el nitrato desde un inicio se adiciona en exceso, se sugiere que la inhibición durante las incubaciones no se debió a limitación por sustrato.

Una posible explicación es que la DNF en las incubaciones fue inhibida por la acumulación de ácido sulfhídrico que inhibe el último paso en el proceso de desnitrificación, la conversión de óxido nitroso a nitrógeno molecular (Brunet y Garcia-Gil, 1996; Kraft *et al.*, 2014). Al iniciar las incubaciones, los viales con la muestra de sedimento son purgados con He para generar condiciones de anoxia absoluta. Es posible que la respiración ocurrida durante la primera hora en los viales donde hubo inhibición, haya incluido reducción de sulfato que tiene como

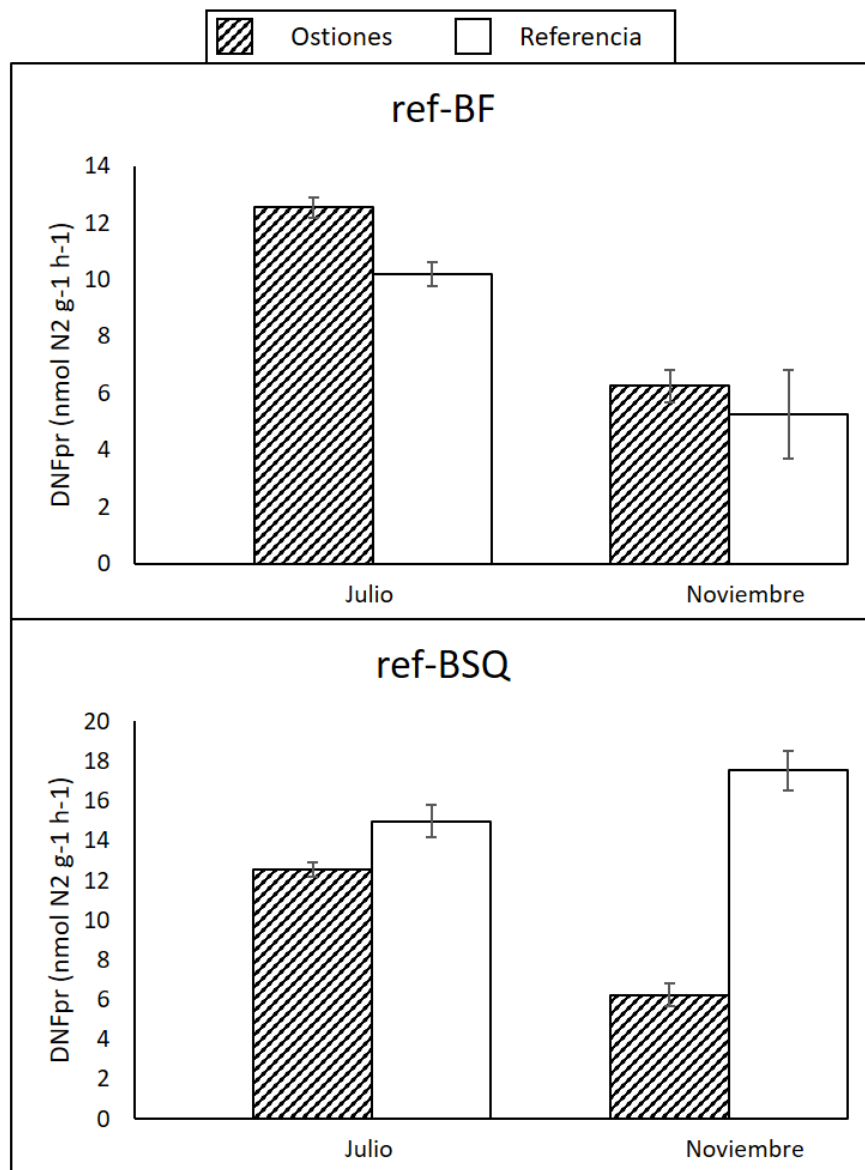


Figura 13. Comparación de las tasas potenciales de desnitrificación DNFpr (en nmol N<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), obtenidas durante julio y noviembre, de sedimentos debajo de cultivos de ostiones contra sedimentos sin vegetación en el sitio de referencia del brazo oeste (panel superior); y contra sedimentos sin vegetación tomados en el sitio de referencia ubicado en el brazo este de BSQ.

producto el ácido sulfhídrico. Una posible evidencia de esta inhibición es el aumento en la proporción del isotópologo <sup>29</sup>N<sub>2</sub> asociado con la reacción anammox; durante los experimentos de adición de acetato, la contribución de anammox en la producción total de nitrógeno molecular aumentó al doble. Se ha encontrado

que el balance entre los procesos del ciclo del nitrógeno, como la DNRA, anammox y la desnitrificación, está dado por las tasas de descomposición de materia orgánica (Song *et al.*, 2013; Hardison *et al.*, 2015), las cuales, dependiendo de las condiciones del sistema, pueden generar condiciones de oxido-reducción desfavorables para el proceso de desnitrificación (Newell *et al.*, 2004).

## 7.4 La anammox es aparentemente inhibida por condiciones en el sedimento.

En ninguna de las incubaciones, durante todo el estudio, la producción del isotópologo 29 de nitrógeno molecular (asociado al proceso de anammox), representó más del 9% de la producción de N<sub>2</sub> Total (<sup>29</sup>N<sub>2</sub> + <sup>30</sup>N<sub>2</sub>) (Tabla 5). Esta baja proporción puede deberse a la presencia de oxígeno ya que a diferencia de las bacterias desnitrificantes, se ha reportado que las bacterias que realizan el proceso de anammox son anaeróbicas estrictas (Brandes *et al.*, 2007) y se inhiben en concentraciones de oxígeno tan bajas como 1 μM (Strous *et al.*, 1997). La penetración de oxígeno en sedimentos permeables, como los reportados en este estudio ( $k = 10^{-11}$  a  $10^{-12}$ ), alcanza promedios de 5cm (Huettel *et al.* 1996; Precht *et al.* 2004; Cook *et al.* 2006; Werner *et al.* 2006).

Se han encontrado tres principales condiciones que determinan la ocurrencia de la anammox en sedimentos marinos: (1) la disponibilidad amonio y nitrito (Babbin y Ward, 2013); (2) la cantidad de materia orgánica en el sedimento y las tasas de remineralización de la misma (Brandes *et al.*, 2007; Babbin y Ward, 2013; Hardison *et al.*, 2015); y (3) la ausencia de oxígeno en el sedimento (Brandes *et al.*, 2007). Ya que los sedimentos de BSQ aparentemente tienen suficiente amonio y nitrito y reciben un aporte recurrente de materia orgánica lábil (Camacho-Ibar *et al.*, 2003), es posible entonces que la baja contribución de la anammox a la

pérdida de  $N_2$  del sistema, en comparación con la desnitrificación, se deba a la presencia de condiciones óxicas en los sedimentos. Esta observación es consistente otros estudios donde se indica que, en los sedimentos costeros someros, la contribución a las pérdidas de  $N_2$  de la anammox suele ser notoriamente menor que la de la desnitrificación (Thamdrup y Daalsgard, 2002).

## 8. CONCLUSIONES

En este estudio, realizado en BSQ, se reportan por primera vez tasas de desnitrificación bentónica para una laguna costera mexicana, obtenidas con mediciones directas. Las tasas obtenidas son elevadas al ser comparadas con aquellas reportadas para sedimentos de otros sistemas estuarinos en el mundo. Estos valores se deben posiblemente a la permeabilidad de los sedimentos en BSQ que facilitan el transporte por advección de materia orgánica y nitrato hacia zonas activas de desnitrificación.

Los hábitats estructurados no promovieron las tasas de desnitrificación bentónica, como se sugirió en la hipótesis del estudio. La aparente disminución en los valores del potencial de desnitrificación en los sedimentos dentro de praderas de *Zostera marina*, en comparación con sedimentos adyacentes sin vegetación, puede deberse a la competencia por DIN entre pastos y organismos desnitrificadores, así como por el aumento en la proporción de materia orgánica refractaria en sedimentos dentro de la pradera (i.e. detritus de raíces y rizomas de *Z. marina*). Por otro lado, la similitud entre los valores de las DNFpr dentro de zonas de cultivos y los valores de las zonas de referencia, posiblemente se debe al transporte de los biodepósitos hacia otras partes del sistema por las corrientes de mareas que impactan la zona de cultivos de ostiones.

La inhibición presentada en algunas de las incubaciones para determinar el DNFpr, posiblemente fue generada por la producción de ácido sulfhídrico mediante la respiración ocurrida dentro de los viales. Por su parte, la baja proporción de anammox en la producción de  $N_2$ , con respecto a la desnitrificación, posiblemente es generada por las condiciones óxicas que pueden encontrarse en sedimentos permeables, como lo sugiere la granulometría reportada en los primeros 5cm de algunos sitios de BSQ.

## 9. REFERENCIAS

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. 2016. **Air-Water CO<sub>2</sub> 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. doi: DOI 10.1007/s12237-016-0178-x

Babbin A.R., Ward B.B. 2013. **Controls on Nitrogen Loss Processes in Chesapeake Bay Sediments.** *ENVIRONMENTAL Science & Technology* 47(9):4189-4196. doi: 10.1021/es304842r

Babbin A.R., Jayakumar A., y Ward B.B. 2016. **Organic Matter Loading Modifies the Microbial Community Responsible for Nitrogen Loss in Estuarine Sediments.** *Microbiology of aquatic systems* 71(3):555-565 (2016) Doi 10.1007/s00248-015-0693-5

Berelson W.M., Heggie D., Longmore A., Kilgore T., Nicholson G., and Skyring G. 1998. **Benthic Nutrient Recycling in Port Philip Bay, Australia.** *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 46:917-934.

Bernot M.J., Dodds W.K., Gardner W.S., McCarthy M.J., Sobolev D., y Tank J.L. 2003. **Comparing Denitrification Estimates for a Texas Estuary by Using Acetylene Inhibition and Membrane Inlet Mass Spectrometry.** *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* 69(10):5950-5956.

Bos A.R., Bouma T.J., de Kort G.L.J., van Katwijk M.M. 2007. **Ecosystem engineering by annual intertidal seagrass beds: Sediment accretion and modification.** *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 74:344-348.

Boudreau B.P., Huettel M., Forster S., Jahnke R.A., McLachlan A., Middelburg J.J., Nielsen P., Sansone F., Taghon G., Van Raaphorst W., Webster I., Marcin

- Weslawski J., Wiberg P., Sundby B. 2001. **Permeable Marine Sediments: Overturning an Old Paradigm.** *EOS* 82(11):133-140
- Brandes J.A., Devol A.H., Deutsch C. 2007. **New Developments in the Marine Nitrogen Cycle.** *Chemical Reviews* 107(2):577-589.
- Brin L.D., Giblin A.E., Rich J.J. 2014. **Environmental controls of anammox and denitrification in southern New England estuarine and shelf sediments.** *Limnology and Oceanography* 59(3):851-860.
- Brin L.D., Giblin A.E., Rich J.J. 2014. **Environmental controls of anammox and denitrification in southern New England estuarine and shelf sediments.** *Limnology and Oceanography* 59(3): 851-860. doi: 10.4310/lo.2014.59.3.0851
- Brin L., Giblin A.E., Rich J.J. 2016 **Similar temperature responses suggest future climate warming will not alter partitioning between denitrification and anammox in temperate marine sediments.** *GLOBAL CHANGE BIOLOGY.* 23:331-340 doi: 10.1111/gcb.13370
- Brunet R.C. y Garcia-Gil L.J. 1996. **Sulfide-induced dissimilatory nitrate reduction to ammonia in anaerobic freshwater sediments.** *FEMS Microbiology Ecology* 21: 131-138
- Cabello-Pasini A., Muñiz-Salazar R., Ward D.H. 2003. **Annual variations in biomass and photosynthesis in *Zostera marina* at its southern end of distribution in the North Pacific.** *Aquatic Botany* 76: 31-47
- Camacho-Ibar V.F., Carriquiry J.D., Smith S. 2003. **Non-conservative P and N Fluxes and Net Ecosystem Production in San Quintin Bay, Mexico.** *Estuaries* 26(5):1220-1237
- Canfield D.E., Glazer A.N., y Falkowski P.G. 2010. **The Evolution and Future of Earth's Nitrogen Cycle.** Review *SCIENCE* 330(6001):192-6. doi: 10.1126/science.1186120.

Canion A., Kostka J.E., Gihring T.M., Huettel M., van Beusekom J.E.E., Gao H., Lavik G., Kuypers M.M.M. 2014. **Temperature responses of denitrification and anammox reveals the adaptation of microbial communities to *in situ* temperatures in permeable marine sediments that span 50° in latitude.** *Biogeosciences* 11:309-320.

Carlsson M.S., Glud R.N., Petersen J.K. 2010. **Degradation of mussel (*Mytilus edulis*) fecal pellets released from hanging long-lines upon sinking and after settling at the sediment.** *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 67(9):1376-1387. Doi 10.1139/F10-067

Carmichael R.H., Walton W., Clark H. 2012. **Bivalve-enhanced nitrogen removal coastal estuaries.** *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 69: 1131-1149. doi:10.1139/F2012-057

Chávez-Villalba J. **Culture of the oyster *Crassostrea gigas*: Analysis of 40 years of activities in Mexico.** *Hidrobiológica* 24(3): 175-190

Cook P.L.M., Wenzhofer F., Rysgaard S., Galaktionov S., Meysman F.J.R., Eyre B.D., Huettel M., Glud R.N. 2006. **Quantification of denitrification in permeable sediments: Insights from a two-dimensional simulation analysis and experimental data.** *LIMNOLOGY and OCEANOGRAPHY: METHODS* 4:294-307

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 Quintin coastal lagoon, Baja California: Implication for provenance.** *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 26: 117-132

Dumbauld B.R., Ruesink J.L., Rumrill S.S. 2009. **The ecological role of bivalve shellfish aquaculture in the estuarine environment: A review with application to oyster and clam culture in West Coast (USA) estuaries.** *Aquaculture* 290:196-223. doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.02.033

Evrard V., Glud R.N., Cook P.L.M. 2013. **The kinetics of denitrification in permeable sediments.** *Biogeochemistry* 113:563-572. doi: 10.1007/s10533-012-9789-x

Eyre B.D., y Ferguson A.J.P. 2002. **Comparison of carbon production and decomposition, benthic nutrient fluxes and denitrification in seagrass, phytoplankton, benthic microalgae- and macroalgae-dominated warm-temperate Australian lagoons.** *MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES* 229:43-59.

Eyre B.D., Glud R.N., Patten N. 2008. **Mass coral spawning: A natural large-scale nutrient addition experiment.** *Limnology and Oceanography* 53(3): 997-1013

Eyre B.D. y Ferguson A.J.P. 2009. **Denitrification efficiency for defining critical loads of carbon in shallow coastal ecosystems.** *Hydrobiologia* 629: 137-146. doi: 10.1007/s10750-009-9765-1

Eyre B.D., Maher D.T., y Squire P. 2013. **Quantity and quality of organic matter (detritus) drives N<sub>2</sub> effluxes (net denitrification) across seasons, benthic habitats, and estuaries.** *Global Biogeochemical Cycles* 27:1083-1095.

Falkowski P.G., Barber R.T., Smetacek V.V. 1998. **Biogeochemical Controls and Feedbacks on Oceanic Primary Production.** *Science* 281(5374):200-7.

Flint M.R. 1994. **Measurements of nutrient fluxes and mass balances by on-line in situ dialysis in a *Zostera* marine bed culture.** *Verh Int Ver Limnol* 25:2259-2264

Franke U., Polerecky L., Precht E., Huettel M. 2006. **Wave tank study of particulate organic matter degradation in permeable sediments.** *Limnology and Oceanography* 51(2):1084-1096.

Fulweiler R.W., Nixon S.W., Buckley B.A., y Granger S.L. 2008. **Net Sediment N<sub>2</sub> Fluxes in a Coastal Marine System – Experimental Manipulations and a Conceptual Model.** *Ecosystems* 11:1168-1180.

Fulweiler R.W., Brown S.M., Nixon S.W., y Jenkins B.D. 2013. **Evidence and conceptual model for the co-occurrence of nitrogen fixation and denitrification in heterotrophic marine sediments.** *MARINE ECOLOGY SERIES*. Vol. 482, p. 57-68 (2013).

Gacia E., Duarte C.M., Middelburg J.J. 2002. **Carbon and nutrient deposition in a Mediterranean seagrass (*Posidonia oceanica*) meadow.** *Limnology and Oceanography* 47(1): 23-32

Gao H., Schreiber F., Collins G., Jensen M.M., Kostka J.E., Lavik G., de Beer D., Zhou H., Kuypers M.M.M. 2010. **Aerobic denitrification in permeable Wadden Sea sediments.** *ISME J* 4: 417-426. doi: 10.1038/ismej.2009.127

Gao H., Matyka M., Liu B., Khalili A., Kostka J.E., Collins G., Jansen S., Holtappels M., Jensen M.M., Badewien T.H., Beck M., Grunwald M., de Beer D., Lavik G., Kuypers M.M.M. 2012. **Intensive and extensive nitrogen loss from intertidal permeable sediments of the Wadden Sea.** *Limnology and Oceanography* 57(1): 185-198. doi: 10.4319/lo.2012.57.1.0185

García-Esquivel Z., González-Gómez M.A., Ley-Lou F., Mejía-Trejo A. 2004. **Oyster culture potential in the west arm of San Quintin Bay: Current biomass and preliminary estimate of the carrying capacity.** *Ciencias marinas* 30(1A): 61-74

Gardner W.S., McCarthy M.J., An S., y Sobolev D. 2006. **Nitrogen fixation and dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) support nitrogen dynamics in Texas estuaries.** *Limnology and Oceanography* 51:558-568.

Gardner W.S. y McCarthy M.J. 2009. **Nitrogen dynamics at the sediment-water interface in shallow, sub-tropical Florida Bay: why denitrification efficiency**

**may decrease with increased eutrophication.** *Biogeochemistry* 95:185-198.  
DOI:10.1007/s10533-009-9329-5

Gayon, U., y G. Dupetit. 1886. **Recherches sur la reduction des nitrates par les infiniment petits.** *Mem. Sot. Sci. Phys. Nat. Bordeaux Ser. 3*, tome 2:201-307.

Giblin A.E., Tobias C.R., Song B., Weston N., Banta G.T., y 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. doi.org/10.5670/oceanog.2013.54

Gihring T.M., Canion A., Riggs A., Huettel M., Kostka J.E. 2010. **Denitrification in shallow, sublittoral Gulf of Mexico permeable sediments.** *Limnology and Oceanography* 55(1):43-54.

Gilbert F., Souchu P., Bianchi M., y Bonin P. 1997. **Influence of shellfish farming activities on nitrification, nitrate reduction to ammonium and denitrification at the water-sediment interface of the Thau lagoon, France.** *MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES* 151:143-153.

Gonneea M.E. y Charette M.A. 2014 **Hydrologic Controls on Nutrient Cycling in an Unconfined Coastal Aquifer.** *ENVIRONMENTAL Science & Technology* 48:14178-14185 dx.doi.org/10.1021/es503313t

Greiner J.T., Wilkinson G.M., McGlathery K.J., Emery K.A. 2016. **Sources of sediment carbon sequestered in restored seagrass meadows.** *Marine Ecology Progress Series* 551: 95-105. doi: 10.3354/meps11722

Gruber N. 2008. Capítulo 1. En: Capone, Bronk, Mulholland y Carpenter (eds.), **Nitrogen in the marine Environment**, pp. 1-50 *ELSEVIER*.

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 N<sub>2</sub> production.** *Geochimica et Cosmochimica Acta* 164: 146-160. doi: 10.1016/j.gca.2015.04.049

Hernández-Ayón J.M., Galindo-Bect M.S., Camacho-Ibar V.F., García-Esquivel Z., González-Gómez M.A., Ley-Lou F. 2004. **Dinámica de los nutrientes en el brazo oeste de Bahía San Quintín, Baja California, México, durante y después El Niño 1997/1998.** *Ciencias Marinas* 30(1A):119-132.

Hernández-López J., Camacho-Ibar V.F., Macías-Tapia A., McGlathery K.J., Daesslé L.W., Sandoval-Gil J.M. 2017. **Benthic nitrogen fixation in *Zostera marina* meadows in an upwelling-influenced coastal lagoon.** *Ciencias Marinas* 43(1):35-53. doi.org/10.7773/cm.v43i1.2700

Higgins C.B., Tobias C., Piehler M.F., Smyth A.R., Dame R.F., Stephenson K., Brown B.L. 2013. **Effect of aquacultured oyster biodeposition on sediment N<sub>2</sub> production in Chesapeake Bay.** *MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES* 473:7-27. doi:10.3354/meps10062

Hoellein T.J. y Zarnoch C.B. 2014. **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* 122:113-129.

Hoellein T.K., 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* 122:113-129

Hu, B., Shen, L., Xu, X., y Zheng, P. 2011. **Anaerobic ammonium oxidation (anammox) in different natural ecosystems.** *Biochem. Soc. Trans.* 39:1811–1816.

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 Restores Oyster Reefs Remove Nitrogen at Comparable High Rates.** *Frontiers in Marine Science* 3:art74. doi: 10.3389/fmars.2016.00074

Huettel M., Ziebis W., Forster S. 1996. **Flow-induced uptake of particulate matter in permeable sediments.** *Limnology and Oceanography* 41(2):309-322.

Huettel M. y Rusch A. 2000. **Transport and degradation of phytoplankton in permeable sediments.** *Limnology and Oceanography* 45(3):534-549.

Huettel M., Roy H., Precht E., Ehrenhauss S. 2003. **Hydrodynamical impact on biogeochemical processes in aquatic sediments.** *Hydrobiologia* 494:231-236.

Huttel M., Berg P., Kostka J.E. 2014. **Benthic exchange and biogeochemical cycling in permeable sediments.** *Annual Review of Marine Science* 6: 23-51. doi: 10.1146/annurev-marine-051413-012706

Jansen H.M., Verdegem M.C.J., Strand O., Smaal A.C. 2012. **Seasonal variation in mineralization rates (C-N-P-Si) of mussel *Mytilus edulis* biodeposits.** *Marine Biology* 159:1567-1580. Doi 10.1007/s00227-012-1944-3

Jones H.F.E., Pilditch C.A., Bruesewitz D.A., Lohrer A.M. 2011. **Sedimentary environment influences the effect of an infaunal suspension feeding bivalve on estuarine ecosystem function.** *Plos One* 6(10):e27065

Kellog M.L., Cornwell J.C., Owens M.S., Paynter K.T. 2013. **Denitrification and nutrient assimilation on a restored oyster reef.** *Marine Ecology Progress Series* 480:1-19.

Kellogg M.L., Smyth A.R., Luckenbach M.W., Carmichael R.H., Brown B.L., Cornwell J.C., Piehler M.F., Owens M.S., Dalrymple D.J., Higgins C.B. 2014. **Use**

**of oysters to mitigate eutrophication in coastal waters.** *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 151:156-168.

Kenish M.J. y Paerl H.W. 2010. Capítulo 1. En: Kenish M.J. y Paerl H.W. (eds.), **COASTAL LAGOONS Critical Habitats of Environmental Change**, pp. 1-15. *CRC MARINE SCIENCE SERIES*.

Kjerfve B. 1994. Capítulo 1. En: Kjerfve (eds.), **Coastal Lagoon Processes**, pp. 1-8. *Elsevier Oceanography Series*.

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* 345:676-679. doi:10.1126/science.1254070

Koepfler E.T., Benner R., Montagna P.A. 1993. **Variability of Dissolved Organic Carbon in Sediments of a Seagrass Bed and an Unvegetated Area within an Estuary in Southern Texas.** *ESTUARIES* 16(3):391-404.

Laursen A.E. y Seitzinger S.P. 2002. **The role of denitrification in nitrogen removal and carbon mineralization in Mid-Atlantic Bight sediments.** *Continental Shelf Research* 22: 1397-1416 Marchant H.K., Lavik G., Holtappels M., Kuypers M.M.M. 2014. **The Fate of Nitrate in Intertidal Permeable Sediments.** *PLoS ONE* 9(8): e104517. doi:10.1371/journal.pone.0104517

Marchant H.K., Lavik G., Holtappels M., Kuypers M.M.M. 2014. **The Fate of Nitrate in Intertidal Permeable Sediments.** *PLoS ONE* 9(8):1-12. doi: 10.1371/journal.pone.0104517

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* 61:1033-1048. doi:10.1002/lno.10271.

Marchant H.K., Ahmerkamp S., Lavik G., Tegetmeyer H.E., Graf J., Klatt J.M., Holtappels M., Walpersdorf E., Kuypers M.M.M. 2017. **Denitrifying community in coastal sediments performs aerobic and anaerobic respiration simultaneously.** *International Society for Microbial Ecology* 1-14. Doi:10.1038/ismej.2017.51

McGlathery K.J., Risgaard-Petersen N., Christensen P.B. 1998. **Temporal and spatial variation in nitrogen fixation activity in the eelgrass *Zostera marina* rhizosphere.** *MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES* 168:245-258.

McGlathery K.J., Sundback K., Anderson I.C. 2007. **Eutrophication in shallow coastal bays and lagoons: the role of plants in the coastal filter.** *Marine Ecology Progress Series* 348:1-18.

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. doi 10.1002/lno.10305

Newell R.I.E. 2004. **Ecosystem Influences of Natural and Cultivated Populations of Suspension-Feeding Bivalve Molluscs: a Review.** *Journal of Shellfish Research* 23(1): 51-61

Newell R.I.E., Fisher T.R., Holyoke R.R., Cornwell J.C. 2005. In: Dame R. y Olenin S. (eds.), **The Comparative Roles of Suspension Feeders in Ecosystems**, pp. 93-120 *Earth and Environmental Science. Springer.*

Nielsen L.P. 1992. **Denitrification in sediment determined from nitrogen isotope pairing.** *FEMS Microbiology Ecology* 86:357-362.

Paerl H.W. y Piehler M.F. 2008. Chapter 11. En: Capone, Bronk, Mulholland y Carpenter (eds.), **Nitrogen in the marine Environment**, pp. 529-567 *ELSEVIER.*

Peng X., Ji Q., Angell J.H., Kearns P., Yang H.J., Bowen J.L., Ward B.B. 2016. **Long-term fertilization alters the relative importance of nitrate reduction pathways in salt marsh sediments.** *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 121:1-14. doi: 10.1002/2016JG003484

Piehler M.F. y Smyth A.R. 2011. **Habitat-specific distinctions in estuarine denitrification affect both ecosystem function and services.** *Ecosphere* 2(1):art12. doi: 10.1890/ES10-00082.1

Precht E., Franke U., Polerecky L., Huettel M. 2004. **Oxygen dynamics in permeable sediments with wave-driven pore water exchange.** *Limnology and Oceanography* 49(3):693-705.

Risgaard-Petersen N., Dalsgaard T., Rysgaard S., Christensen B., Borum J., McGlathery K., Nielsen L.P. 1998. **Nitrogen balance of a temperate eelgrass *Zostera marina* bed.** *Marine Ecology Progress Series* 174: 281-291

Risgaard-Petersen N. y Ottosen L.D.M. 2000. **Nitrogen cycling in two temperate *Zostera marina* beds: seasonal variation.** *Marine Ecology Progress Series* 198: 93-107

Risgaard-Petersen N., Nicolaisen M.H., Revsbech N.P., Lomstein B.A. 2004. **Competition between Ammonia-Oxidizing Bacteria and Benthic Microalgae.** *Applied and Environmental Microbiology* 70(9): 5528-5537. doi: 10.1128/AEM.70.9.5528-5537

Risgaard-Petersen N. 2004. Capítulo 1. En: S. Nielsen, G. Banta, M. Pedersen (eds.), **Estuarine Nutrient Cycling: The Influence of Primary Producers**, pp. 263-280. *Kluwer Academic Publishers*.

Rockstrom J., Steffen W., Noone K., Persson A., Chapin F.S. III, Lambin E., Lenton T.M., Scheffer M., Folke C., Schellnhuber H., Nykvist B., De Wit C.A., Hughes T., van der Leeuw S., Rodhe H., Sorlin S., Snyder P.K., Costanza R., Svedin U., Falkenmark M., Karlberg L., Corell R.W., Fabry V.J., Hansen J., Walker B.,

Liverman D., Richardson K., Crutzen P., Foley J. 2009. **Planetary boundaries: exploring the safe operating space for humanity.** *Ecology and Society* 14(2):32

Russell D.G., Warry F.Y., Cook P.L.M. 2016. **The balance between nitrogen fixation and denitrification on vegetated and non-vegetated intertidal sediments.** *Limnology and Oceanography* 61(6): 2058-2075. doi: 10.1002/lno.10353

Rysgaard S., Thastum P., Dalsgaard T., Christensen P.B., Sloth N.P. 1999. **Effects of Salinity on NH<sub>4</sub><sup>+</sup> Adsorption Capacity, Nitrification, and Denitrification in Danish Estuarine Sediments.** *Estuaries* 22(1):21-30.

Sandoval-Gil J.M., Camacho-Ibar V.F., Ávila-López M.C., Hernández-López J., Zertuche-González J.A., Cabello-Pasini A. 2015. **Dissolved inorganic nitrogen uptake kinetics and  $\delta^{15}\text{N}$  of *Zostera marina* L. (eelgrass) in a coastal lagoon with oyster aquaculture and upwelling influence.** *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 472: 1-13. doi: 10.1016/j.jembe.2015.06.018

Sandoval-Gil J., Alexandre A., Santos R., Camacho-Ibar V.F. 2016. **Nitrogen Uptake and Internal Recycling in *Zostera marina* Exposed to Oyster Farming: Eelgrass Potential as a Natural Biofilter.** *Estuaries and Coasts* 39: 1694-1708. doi: 10.1007/s12237-016-0102-4

Seitzinger S.P. 1988. **Denitrification in freshwater and coastal marine ecosystems: Ecological and geological significance.** *Limnology and Oceanography* 33: 702-724

Steffen W., Richardson K., Rockstrom J., Cornell S.E., Fetzer I., Bennett E.M., Biggs R., Carpenter S.R., de Vries W., de Wit C.A., Folke C., Gerten D., Heinke J., Mace G.M., Persson L.M., Ramanathan V., Reyers B., Sorlin S. 2015. **Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet.** *Science* 347(6223):1259855. doi: 10.1126/science.1259855

Smith J.M., Moiser A.C., Francis C.A. 2015. **Spatiotemporal Relationship Between the Abundance, Distribution, and Potential Activities of Ammonia-Oxidizing and Denitrifying Microorganisms in Intertidal Sediments.** *Microbiology of Aquatic Systems* 69: 13-24. doi: 10.1007/s00248-014-0450-1

Song G.D., Liu S.M., Marchant H., Kuypers M.M.M., Lavik G. **Anammox, denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in the East China Sea sediment.** *Biogeosciences* 10: 6851-6864. doi: 10.5194/bg-10-6851-2013

Strous M., van Gerven E., Kuenen J.G., Jetten M. 1997. **Effects of Aerobic and Microaerobic Conditions on Anaerobic Ammonium-Oxidizing (Anammox) Sludge.** *Applied and Environmental Microbiology* 63(6): 2446-2448

Sundbäck K., Miles A., Goransson E. 2000. **Nitrogen fluxes, denitrification and the role of microphytobenthos in microtidal shallow-water sediments: an annual study.** *Marine Ecology Progress Series* 200: 59-76

Sundbäck, K., Miles, A., y Linares, F. 2006. **Nitrogen dynamics in nontidal littoral sediments: Role of microphytobenthos and denitrification.** *Estuaries and Coasts* 29(6B); 1196-1211.

Thamdrup B. y Dalsgaard T. 2002. **Production of N<sub>2</sub> through Anaerobic Ammonium Oxidation Coupled to Nitrate Reduction in Marine Sediments.** *Applied and Environmental Microbiology* 68(3): 1312-1318. doi: 10.1128/AEM.68.3.1312-1318.2002

Vance-Harris C. y Ingall E. 2005. **Denitrification pathways and rates in the sandy sediments of the Georgia continental shelf, USA.** *GEOCHEMICAL TRANSACTIONS* 6(1):12-18

Werner U., Billerbeck M., Polerecky L., Franke U., Huettel M., van Beusekom J.E.E., de Beer D. 2006. **Spatial and temporal patterns of mineralization rates**

**and oxygen distribution in a permeable intertidal sand flat (Sylt, Germany).**

*Limnology and Oceanography* 51(6):2549-2563.

Wang P. 2012. En: Davis R.A.Jr. y Dalrymple R.W. (eds.), **Principles of Tidal Sedimentology**, pp. 19-34 *Springer*

Wilson A.M., Huettel M., Klein S. 2008. **Grain size and depositional environment as predictors of permeability in coastal marine sands.** *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 80:193-199

Ziegler S., Benner R. 1999. **Dissolved organic carbon cycling in a subtropical seagrass-dominated lagoon.** *MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES* 180:149-160.

Zehr J.P., Kudela R.M. 2011. **Nitrogen Cycle of the Open Ocean: From Genes to Ecosystems.** *Annual Review of Marine Science* 3: 197-225. doi: 10.1146/annurev-marine-120709-142819

Zertuche-González J.A., Camacho-Ibar V.F., Pacheco-Ruiz 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: 729-736. doi: 10.1007/s10811-009-9408-y