

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

Contribución de los pastos marinos a la concentración de carbono orgánico disuelto en Bahía San Quintín (Baja California, México): aldosas como biomarcadores



TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFIA COSTERA

PRESENTA

JAIME MANUEL CAMALICH CARPIZO.

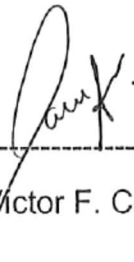
Ensenada, Baja California, Febrero 2006

Contribución de los pastos marinos a la concentración de carbono orgánico disuelto en Bahía San Quintín (Baja California, México.): aldosas como biomarcadores.

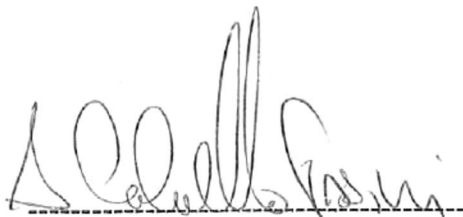
QUE PRESENTA:

JAIME MANUEL CAMALICH CARPIZO

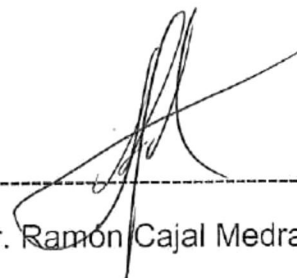
APROBADO POR:



Dr. Victor F. Camacho Ibar



Dr. Alejandro Cabello Pasini



Dr. Ramon Cajal Medrano

Dedico esta tesis a:

Mi Padre, mi Madre, Rodrigo y Antonio.

A mi Abuela.

A la gente que creyó en mi y que hizo suyo este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto de maestría se realizó con el financiamiento del proyecto: **SEP-CONACYT- 40144 “ Respuestas físicas, geoquímicas y biológicas de Bahía San Quintín a los pulsos de agua de surgencias del mar adyacente”**.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría en oceanografía costera (No. de registro: 171073).

Al programa TIES por el apoyo recibido para la realización de la estancia de investigación en la Universidad de Connecticut.

Al Dr. Víctor F. Camacho Ibar por su paciencia y apoyo en la dirección de este trabajo.

A la Dra. Annelie Skoog por su apoyo y todas las facilidades brindadas durante la estancia de investigación realizada a la Universidad de Connecticut.

A los técnicos Eduardo Ortiz y José Guzmán por su apoyo en laboratorio y campo.

A la familia Carpizo Lugo por haberme brindado su casa en el momento que mas lo necesité.

A mis sinodales, Dr. Ramón Cajal Medrano por su orientación y corrección, Dr. Alejandro Cabello Pasini por haberme brindado acceso a su laboratorio, por su orientación y corrección.

RESUMEN

Estudios recientes en Bahía San Quintín señalan que la concentración de carbono orgánico disuelto (COD) incrementa desde el océano hacia el brazo este, área en donde la vegetación de marisma y las praderas de pastos marinos (*Zostera marina*) son abundantes. Con el objetivo de determinar si el proceso de exudación foliar contribuye en forma significativa al enriquecimiento de COD al interior de Bahía San Quintín, se realizaron ensayos de exudación con material foliar de *Zostera marina* en los cuales se adicionó nitrógeno inorgánico disuelto (NID) en diferentes concentraciones, y se controlaron la temperatura (19° C) y la irradiancia ($300 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$). También se caracterizó la materia orgánica disuelta (MOD) en muestras colectadas durante marea viva y marea muerta en Bahía San Quintín, utilizando la concentración de azúcares neutras hidrolizables totales (ANHT) y su contribución porcentual al contenido de carbono orgánico total (CACT), con el fin de determinar si estas pueden ser utilizadas como biomarcadores de las fuentes de MOD.

Los resultados obtenidos señalan que la exudación foliar incrementa con el incremento en la disponibilidad de NID; las tasas de exudación de COD variaron de 0.4 a $4 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ dependiendo la concentración de NID agregado. Se calculó una tasa de exudación equivalente a $0.9 \text{ mmol C m}^{-2} \text{d}^{-1}$ a nivel de toda el área del brazo este, dicha tasa representaría entre el 5 y 11% del flujo no conservativo de COD calculado anteriormente para esta zona ($8 - 16 \text{ mmol C m}^{-2} \text{d}^{-1}$). Este resultado sugiere que otras fuentes como los flujos bentónicos en las praderas de *Z. marina* o los aportes desde la zona intermareal incluyendo las marismas tienen mayor peso en la acumulación de COD en la zona. La concentración y composición de las ANHT mostró diferencias espaciales y temporales. Las muestras colectadas en marea viva mostraron un mayor porcentaje molar promedio de xilosa y glucosa (las aldosas más dominantes) de 64 ± 14 y 17 ± 12 % respectivamente, así como elevados CACT (8 - 38%). En contraste, en las muestras de marea muerta la xilosa mostró un menor porcentaje molar promedio (44 ± 16 %) y valores menores de CACT (3-19%), además de un enriquecimiento en los desoxiazúcares fucosa y ramnosa (8 ± 6 y 4 ± 3 % respectivamente). El enriquecimiento de ANHT durante marea viva en la bahía (2,323 – 16,737 nM), en comparación con marea muerta (545 – 5,550 nM), puede deberse al acarreo de MOD por la inundación de planicies lodosas, y zonas de marisma, zonas en las cuales diatomeas bentónicas y plantas vasculares como *Spartina foliosa* contienen un elevado contenido de xilan, polisacárido rico en xilosa. El enriquecimiento de los desoxiazúcares durante marea muerta, combinado con la disminución en la concentración de ANHT y CACT, indican que los carbohidratos acarreados del intermareal, y principalmente la xilosa, son un sustrato importante en el enlace microbiano de esta laguna.

ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Definición e importancia de la materia orgánica disuelta	1
1.2 Fuentes de la MOD	4
1.3 Utilización de aldosas como biomarcadores	8
1.4 Acumulación de MOD en lagunas costeras	11
2 OBJETIVOS	12
3 HIPÓTESIS	12
4 ÁREA DE ESTUDIO	13
5 MÉTODOS	17
5.1 Mediciones de exudación foliar de COD en laboratorio	17
5.1.1 Recolecta de <i>Zostera marina</i> en Bahía San Quintín.	17
5.1.2 Acondicionamiento del material.	17
5.1.3 Selección de material	18
5.1.4 Ensayos de exudación	18
5.2 Colecta de muestras de agua	19
5.3 Análisis de aldosas	20
5.3.1 Secado de las muestras	20
5.3.2 Hidrólisis	20
5.3.3 Neutralización	21
5.3.4 Eliminación de sales	21
5.3.5 Detección de Aldosas	22
5.3.5.1 Preparación de la fase móvil	22
5.3.6 Cálculo de la concentración de aldosas	23
5.3.7 Precisión en la determinación de la concentración de aldosas	24
6 RESULTADOS	25
6.1 Ensayos de exudación	25

6.1.1	Ensayo preliminar de exudación	25
6.1.2	Ensayo sin adición de nutrientes	27
6.1.3	Composición de aldosas durante los ensayos	34
6.2	Análisis de muestras de campo	37
6.2.1	Distribución de COD en la Bahía	37
6.2.2	Distribución de la concentración de aldosas	39
6.2.3	Composición de aldosas	41
6.2.3.1	Marea viva	41
6.2.3.2	Marea muerta	43
7	DISCUSIONES	45
7.1	La exudación como fuente potencial de acumulación de COD en San Quintín	45
7.2	Utilización de aldosas en los ensayos como indicadores de fuentes de MOD	51
7.3	Distribuciones espaciales y variaciones entre muestreos de COD y ANHT	54
7.4	Aldosas como indicadoras del estado diagenético de la MOD	60
7.5	Dominancia de la xilosa en la composición de aldosas	64
8	CONCLUSIONES	71
9	REFERENCIAS	73

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Tasas de descomposición de hojas de pastos marinos	7
Tabla 2. Aldosas dominantes en material celular (MC) y materia orgánica disuelta (MOD) en cultivos de fitoplancton. CTA es la contribución porcentual del carbono de las aldosas al carbono orgánico total (COT). Las aldosas son presentadas en orden de abundancia. Los datos en la tabla se obtuvieron de Biersmith y Benner (1998).	9
Tabla 3. Tasas de consumo de nutrientes inorgánicos calculadas de los ensayos realizados con material foliar de <i>Z. marina</i> (promedio y D.S)	30
Tabla 4. Tasas de exudación de COD calculadas de los ensayos realizados con material foliar de <i>Z. marina</i> (promedio y D.S)	31
Tabla 5. Concentración y porcentaje molar de aldosas en 4 réplicas de un ensayo de exudación realizado con material foliar de <i>Z. marina</i> enriquecido con 16 μM NaNO_3 .	35
Tabla 6. Concentración de ANHT y contribución porcentual de las ANHT al contenido total de COD (CACT) en las estaciones muestreadas en Bahía San Quintín durante 2003.	40
Tabla 7. Porcentaje molar de aldosas y la suma de las concentraciones individuales en las estaciones muestreadas durante marea viva.	42
Tabla 8. Porcentaje molar de aldosas y la suma de las concentraciones individuales en las estaciones muestreadas durante marea muerta.	44
Tabla 9. Tasa de exudación foliar de COD calculada a partir de un valor de fotosíntesis de $0.6 \mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ P.H. min}^{-1}$ (Cabello <i>et al.</i> , 2003) suponiendo que se exuda 10% del C fijado, y tasas de exudación calculadas a partir de tres ensayos: sin adición de nutrientes (S),	

adicionando 16 μM NaNO_3 (16) y adicionando 36 μM de NaNO_3 (36).
Se incluyen los flujos no conservativos de COD reportados para esta
zona. 48

Tabla 10. Puntos probables de sobrestimación y subestimación en los
ensayos de exudación foliar 50

Tabla 11. Promedio (\pm DS) de la salinidad y concentración de COD en las
zonas muestreadas durante este estudio. 55

Tabla 12. Concentración de azúcares neutras hidrolizables totales (ANHT) y
contribución de aldosas al carbono orgánico total en diferentes sitios. 59

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Localización de las estaciones muestreadas dentro de Bahía San Quintín para la determinación de azúcares neutras hidrolizables totales (ANHT). 16
- Figura 2. Sistema de cromatografía de iones con PAD acoplado. 23
- Figura 3. Cromatograma del estándar 1000 nM con las 7 aldosas detectadas. 24
- Figura 4. Concentración promedio de COD (μM) en 4 réplicas del ensayo de exudación con material foliar de *Z. marina* recolectado en el Estero de Punta Banda, B.C. (las barras muestran \pm D. S). 26
- Figura 5. Concentración promedio de COD (μM) en 3 réplicas de un ensayo realizado con material foliar de *Z. marina* recolectado en Bahía San Quintín (las barras muestran \pm D. S). 27
- Figura 6. Concentración promedio de COD, NID y PO_4 (μM) en 2 réplicas del ensayo de exudación realizado con medio sin enriquecer (las barras muestran \pm D.S.). 28
- Figura 7. Comportamiento de la concentración de COD (A) y la concentración de NH_4 (B) en dos experimentos realizados sin adición de nutrientes. La línea punteada muestra los puntos utilizados para calcular la tasa de exudación. 29
- Figura 8. Concentración promedio de COD, NID y PO_4 (μM) en 5 replicas del ensayo de exudación en medio enriquecido con 16 μM de NaNO_3 (las barras muestran \pm D.S.). 32
- Figura 9. Concentración promedio de NID y PO_4 (μM) en 3 réplicas del ensayo de exudación en medio enriquecido con 36 μM de NaNO_3 (las barras muestran \pm D.S.). 33

- Figura 10. Concentración promedio de COD (μM) en 3 replicas del ensayo de exudación en medio enriquecido con $36 \mu\text{M}$ de NaNO_3 (las barras muestran \pm D.S.). 34
- Figura 11. Contribución porcentual de las aldosas al carbono total (CACT) en 4 replicas del ensayo de exudación realizado con material foliar de *Z. marina* en medio enriquecido con $16 \mu\text{M}$ de NaNO_3 . 36
- Figura 12. (a) Distribución de la salinidad con respecto a la distancia de la estación 1 y (b) distribución de la concentración de COD (μM) a lo largo del gradiente de salinidad (i.e. diagrama de mezcla) durante los dos eventos de marea muestreados. 38
- Figura 13. Promedio y D.S. de las ANHT (reportado como porcentaje molar) en agua de 10 estaciones en Bahía San Quintín. 41
- Figura 14. Promedio y D.S. de la contribución de aldosas al carbono orgánico total (CACT) en 4 réplicas de un ensayo realizado con material foliar de *Z. marina*. 53
- Figura 15. Proporción entre la concentración de las distintas aldosas y la concentración de glucosa en muestras recolectadas durante marea viva. 66
- Figura 16. Proporción entre la concentración de las distintas aldosas y la concentración de glucosa en muestras recolectadas durante marea muerta. 67
- Figura 17. Esquema que muestra la diagénesis temprana de la MOD de alto peso molecular por la acción de bacterias en la columna de agua (modificado de Skoog *et al.*, 1999) y el enriquecimiento de desoxiazucres posterior a la muerte o lisis celular. 70

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Definición e importancia de la materia orgánica disuelta

La materia orgánica puede ser definida como cualquier molécula que tenga en su estructura carbono e hidrógeno (McKee y Mckee, 2003). En los sistemas acuáticos se encuentra presente desde estructuras perceptibles a simple vista hasta formas que por su tamaño no pueden ser clasificadas con métodos convencionales. Operacionalmente y gracias a métodos de separación mecánicos la materia orgánica puede clasificarse en formas disuelta, coloidal y particulada. La materia orgánica disuelta (MOD) se define como la suma de compuestos orgánicos que pasan a través de un filtro GF/F o diámetro de poro menor a 0.2 μm . (Carlson, 2002); cualquier material que quede atrapado en dicho filtro sería clasificado como material orgánico particulado (MOP). El carbono contenido en MOD se le denomina carbono orgánico disuelto (COD) (Romankevich, 1984). La MOD a su vez, se puede clasificar en material de alto peso molecular y de bajo peso molecular; el de alto peso molecular (0.001-1.0 μm) también denominado material coloidal, incluye partículas enlazadas por una sola cadena hasta partículas de varios cientos de micras unidas por polímeros (Verdugo *et al.*, 2004).

En el presente trabajo se hará referencia a la materia orgánica disuelta incluida la fase coloidal y la verdaderamente disuelta.

La MOD es la forma más abundante de materia orgánica en los ambientes acuáticos y el más grande reservorio de carbono orgánico en el océano (Findlay y Sinsabaugh, 2003). La MOD en el océano es comparable con la cantidad de CO_2 presente en la atmósfera (0.66×10^{18} g C; Hedges, 1992) y en algunos estuarios como el Loire y Delaware el COD representa entre el 50-70% del carbono orgánico total (Mantoura y Woodward, 1983).

El destino de la MOD esta íntimamente ligado a los microorganismos que son los encargados de transferir el carbono a distintos niveles en la cadena trófica. En el enlace microbiano (Azam *et al.*, 1983) el carbono fluye desde la MOD a las bacterias, las cuales son consumidas por protistas y estas a su vez por metazoarios. El enlace microbiano puede ser también un sumidero de carbono orgánico y un regenerador de nutrientes (Kirchman, 2000). La teoría del enlace microbiano es relativamente nueva y su adición en la estructura de los ecosistemas un tema que aún tiene una amplia gama de tópicos por resolver. (Azam *et al.*, 1983; Foreman y Covert, 2003)

En los ambientes acuáticos la biosíntesis de la MOD por los productores primarios y su remineralización bacteriana son dos procesos entrelazados en el ciclo global del carbono. Comparando las tasas de producción primaria global y las tasas de remineralización del detritus orgánico reactivo, Hedges (1992) demuestra la eficacia del reciclamiento del carbono reducido y que solo un pequeño porcentaje de la producción escapa la remineralización. Estudios realizados en la plataforma continental y en zonas estuarinas muestran que el tamaño de las moléculas es una propiedad importante en la utilización de la MOD y que existe una relación entre el tamaño y el estado diagenético de la materia orgánica. Las moléculas mayores a 10 kDa son de formación reciente (1 a 30 días), mientras que la fracción de 1-10 kDa es mucho más vieja, siendo la fracción menor a 1 kDa la más antigua (380-4500 años) y refractaria (Mannino y Harvey, 2000). Incubaciones con bacterias y MOD fraccionada por tamaños proveniente de distintos ambientes revelan la consistencia de estas observaciones (Amon y Benner, 1996; Gardner *et al.*, 1996) indicando que la fracción de peso molecular más alto contiene la fuente preferida de carbono para las bacterias. Estos estudios sugieren diferencias químicas en la materia orgánica y la preferencia de algunos de sus componentes por las bacterias, lo cual tiene un impacto considerable en el ciclo del carbono debido a que se seleccionan compuestos que por su composición pueden conducir el flujo del

carbono hacia la regeneración y producción de CO₂ o hacia la producción de partículas (Foreman y Covert, 2003). Se necesitan análisis químicos detallados para describir los componentes que son selectivamente removidos. Debido a la baja concentración (típicamente de orden de nM) de los compuestos orgánicos en el agua y su heterogeneidad química, un alto porcentaje de la MOD en el océano (46-87%; Benner, 2003) no ha sido caracterizada a nivel molecular. En la actualidad solo algunos compuestos bioquímicos, como aldosas y aminoácidos, pueden ser medidos directamente de aguas naturales.

Los azúcares neutros (aldosas) y los aminoácidos son considerados componentes biorreactivos de la MOD y se ha demostrado que la baja concentración de estos dos componentes de la MOD es el resultado de su remoción durante la descomposición (Cowie y Hedges, 1994). El análisis típico de aldosas y aminoácidos requiere la hidrólisis previa para producir monómeros de los componentes de la materia orgánica disuelta. Las unidades monoméricas son separadas con cromatografía, cuantificadas y reportadas en términos porcentuales de carbono orgánico disuelto (COD) o nitrógeno orgánico disuelto (NOD) según el caso (Skoog y Benner, 1997; Skoog *et al.*, 1999; Benner, 2003). Un total de 7 azúcares neutros, o aldosas, (fucosa, ramnosa, arabinosa, galactosa, glucosa, manosa, xilosa), han sido detectados y cuantificados en agua de mar utilizando cromatografía de iones y detección amperométrica (Borch y Kirchman, 1997; Skoog y Benner, 1997). De estas aldosas, la D-glucosa es el combustible principal para la mayor parte de los organismos, y es también la unidad estructural básica de los polisacáridos más abundantes tales como el almidón y la celulosa (Nelson y Cox, 2000). La glucosa por si sola puede sostener entre 5-10% de la producción bacteriana en el Golfo de México (Skoog *et al.*, 1999) y hasta el 40% en el Pacífico Ecuatorial (Rich *et al.*, 1996).

1.2 Fuentes de la MOD

Las fuentes alóctonas de la MOD están comúnmente dominadas por el aporte directo de ríos y aguas subterráneas, ya que solo una pequeña fracción es introducida como precipitación directa o como escurrimiento. La MOD alóctona es el resultado de diversas transformaciones que ocurren a lo largo de la cuenca de drenaje (las cuales incluyen su utilización incompleta en la cadena trófica). Solo algunas macromoléculas como la lignina y la celulosa originadas en tierras altas pueden escapar la asimilación microbiana y ser detectadas en sedimentos marinos (Aitkenhead-Peterson *et al.*, 2003).

La MOD autóctona en los ambientes acuáticos es esencialmente debida a los productores primarios. En el océano abierto la síntesis de materia orgánica es realizada principalmente por el fitoplancton y su contribución a la puede tener distintas vías:

- i) Mientras envejecen las células, las sustancias orgánicas fijadas durante la fotosíntesis son liberadas en el agua circundante. Este material puede ser liberado directamente en forma disuelta o como detritus que posteriormente actuará como una fuente secundaria de MOD (Azam y Cho, 1987).
- ii) Durante la ruptura celular debida al pastoreo por zooplancton ("sloppy feeding") una fracción significativa de la biomasa del fitoplancton puede ser liberada al medio más que ser asimilada por el consumidor (Lambert, 1978; Bertilsson y Jones, 2003).
- iii) Sumado a la producción de MOD por la muerte celular, una fracción del carbono fijado durante la fotosíntesis es liberado en forma disuelta vía exudación como resultado del crecimiento celular.

La liberación extracelular de MOD del fitoplancton durante el crecimiento ha sido reconocido desde hace más de 70 años, sin embargo es altamente variable dependiendo las especies y el ambiente acuático (Fogg, 1983). La liberación extracelular puede ocurrir por difusión pasiva o por excreción activa. El mecanismo y la función de esta liberación no han sido del todo entendidas pero pueden representar una pérdida sustancial del carbono fijado durante la fotosíntesis (0-25% de la producción primaria; Fogg, 1977; Bertilsson y Jones, 2003).

En la zona costera la importancia del fitoplancton como fuente de MOD es compartida con las macrofitas. Las macrofitas (plantas vasculares y macroalgas entre ellas) han recibido menor atención como fuentes autóctonas de carbono, lo cual es sorprendente ya que estos organismos llegan a dominar la producción primaria de algunos cuerpos acuáticos y por lo tanto también ser una fuente importante de MOD.

Ziegler y Benner (1999) señalan 3 procesos potenciales de generación de MOD desde el bentos en una laguna costera cubierta por pastos:

- 1) Exudación por pastos marinos y algas
- 2) Descomposición y lixiviación de algas y pastos marinos
- 3) La liberación de COD por aguas intersticiales

Como ocurre con el fitoplancton las macrofitas generan MOD por liberación celular de los fotoproductos o por la liberación subsecuente de sus constituyentes disueltos debido a la lisis celular o al pastoreo directo por herbívoros. Se conoce que *Halodule wrightii* y *Cymodosea serrulata* liberan carbono orgánico al medio y que el fotoproducto glicolato es liberado por lo menos por dos pastos marinos, *Thalassia hemprichii* y *Halodule ovalis* (Fogg, 1975). Existe poca información acerca de la liberación extracelular de MOD en

las macrofitas. La excreción de compuestos orgánicos puede representar una incompleta adaptación de estas plantas sumergidas a un medio totalmente acuoso (Wetzel, 1983; Touchette y Burkholder, 2002).

Ziegler y Benner (1999) subrayan la importancia de la MOD derivada de pastos marinos en la cadena trófica basada en bacterias. Sin embargo, son pocos los estudios realizados para cuantificar directamente la exudación tanto de rizomas como hojas. Debido a las diferencias metodológicas, el porcentaje reportado de COD exudado puede variar desde 1.3% hasta el 17.6% del carbono fijado durante la fotosíntesis (Brylinsky, 1977; Wetzel y Penhale, 1979).

La liberación de MOD por la descomposición de detritus ha recibido mayor atención. En general la literatura revisada muestra que un gran porcentaje del material es perdido en las primeras etapas de descomposición. En experimentos de descomposición realizados en laboratorio, la cantidad de carbono contenido en las hojas de *Cymodocea nodosa* disminuyó en un 30% durante los primeros 60 días del experimento (Peduzzi y Herndl, 1991), mientras que en un experimento con hojas secas de *Thalassia testudinum* y *Syringodium filiforme* disminuyó 16-19% durante los primeros 3 días (Robertson *et al.*, 1982).

Algunas estimaciones realizadas por Duarte y Cebrián (1996) y Cebrián (2002) señalan que en una comunidad de pastos marinos más del 50% de la producción primaria neta se descompone dentro de la pradera, mientras que el 24% es exportada. Trabajos realizados *in situ* comparando la producción y el destino de 4 especies sugieren que las bajas tasas de descomposición de hojas de *Z. marina* y *P. oceanica* pueden acumular grandes cantidades de material refractario (Tabla 1) además las bajas tasas de descomposición de *Z. marina* sugieren que hay un porcentaje importante de la producción que escapa del consumo de herbívoros y de la descomposición por los detritívoros en el primer

año. Es probable que un alto contenido de carbohidratos (no estructurales) más que de lignina pueda favorecer la rápida descomposición de las hojas en algunas especies como *Zostera. noltii* y *Cymodocea nodosa* (Cebrián *et al.*, 1997).

Tabla 1. Tasas de descomposición de hojas de pastos marinos

Especie	Tasa (mol C m ⁻² año ⁻¹)	Cita
<i>Enhalus acoroides</i>	6.1	(Holmer y Bachmann, 2002)
<i>Zostera marina</i>	1.8	(Cebrián <i>et al.</i> , 1997)
<i>Zostera marina</i>	1.7	(Ziegler y Benner, 1999)
<i>Cymodocea nodosa</i>	6.2	(Cebrián <i>et al.</i> , 1997)
<i>Zostera noltii</i>	9.4	(Cebrián <i>et al.</i> , 1997)
<i>Posidonia oceanica</i>	3.2	(Cebrián <i>et al.</i> , 1997)

Los carbohidratos son el mayor constituyente en el tejido de las plantas vasculares en comparación con las proteínas y los lípidos (Burke *et al.*, 1996; Opsahl y Benner, 1999; Vichkovitten y Holmer, 2005). Dentro de los carbohidratos totales, las aldosas (fucosa, ramnosa, galactosa, glucosa, manosa y xilosa) son constituyentes importantes ya que la mayoría de los monosacáridos que forman los polímeros estructurales (ej. celulosa, hemicelulosa y pectina) están incluidos en esta clase (Opsahl y Benner, 1993). En un estudio realizado por Opsahl y Benner (1993) con hojas de *Halodule wrightii* se observó la remoción de aldosas en experimentos de descomposición. La glucosa fue la aldosa mayormente removida (61%), mientras que la galactosa (6.4 mg g⁻¹ peso seco) y la fucosa (1.2 mg g⁻¹ peso seco) fueron removidas en menor proporción. Después de 419 días del experimento se mostró que de las 7 aldosas analizadas la manosa fue la más estable, mientras que la glucosa se perdió más rápidamente.

La glucosa y la xilosa representaron la mayor cantidad de carbono en las aldosas tanto en los tejidos frescos como los senescentes (Opsahl y Benner, 1993).

1.3 Utilización de aldosas como biomarcadores

La composición y la abundancia de aldosas en la MOD han sido utilizadas en distintos ambientes como indicadores del estado diagenético y como herramienta para identificar fuentes de su producción (Cowie y Hedges, 1984a; Cowie y Hedges, 1984b; Ittekkot, 1988; Hedges *et al.*, 1994; Amon y Benner, 2003). Estudios como los de Hedges *et al.* (1994) y Cowie y Hedges (1984a; 1984b) señalan que la composición y abundancia de aldosas es distinta entre ambientes estuarinos y ambientes oceánicos debido tal vez al cambio en el dominio de los productores primarios. Biersmith y Benner (1998) compararon el contenido celular de azúcares neutros en cultivos de 4 especies de fitoplancton (comúnmente encontradas en los océanos de todo el mundo) con su contenido en la MOD y el material generado durante la liberación extracelular (Tabla 2). Con solo algunas excepciones, las 4 especies estudiadas liberaron al medio aldosas similares a su contenido celular. Esta observación concuerda con la composición observada en la superficie oceánica y sugiere que la MOD recientemente producida por el fitoplancton tiene una huella distintiva, la cual puede ser utilizada para identificar fuentes de producción de MOD en el océano abierto (Biersmith y Benner, 1998; Aluwihare y Repeta, 1999).

Algunos estudios muestran la distribución y la abundancia relativa de las azúcares neutros hidrolizables en el océano (Aluwihare *et al.*, 1997; Borch y Kirchman, 1997; Skoog y Benner, 1997; Amon y Benner, 2003).

Tabla 2. Aldosas dominantes en material celular (MC) y materia orgánica disuelta (MOD) en cultivos de fitoplancton. CTA es la contribución porcentual del carbono de las aldosas al carbono orgánico total (COT). Las aldosas son presentadas en orden de abundancia. Los datos en la tabla se obtuvieron de Biersmith y Benner (1998).

Fracción	Cultivo	CTA % CO	Aldosas dominantes
MC	<i>Phaeocystis</i>	14	Glucosa, Galactosa, Manosa
	<i>E. huxleyi</i>	25	Glucosa, Galactosa, Manosa
	<i>S. bacillaris</i>	17	Glucosa, Manosa, Ramnosa, Galactosa
	<i>S. costatum</i>	5	Glucosa, Manosa, Fucosa
MOD	<i>Phaeocystis</i>	29	Galactosa, Glucosa, Manosa, Arabinosa, Xilosa
	<i>E. huxleyi</i>	30	Galactosa, Xilosa, Glucosa, Manosa
	<i>S. bacillaris</i>	41	Galactosa, Fucosa, Glucosa, Xilosa
	<i>S. costatum</i>	39	Glucosa, Manosa, Fucosa, Galactosa

En ambientes dominados por macrofitas y algas la composición de la MOD es el reflejo de diversos procesos relacionados con la producción pelágica y bentónica; la remineralización en los sedimentos y la lixiviación de las estructuras foliares tienen también una influencia directa en la composición y abundancia de la MOD de estos ambientes (Opsahl y Benner, 1999; Vichkovitten y Holmer, 2005).

En trabajos realizados en ríos (Ittekkot, 1988) y estuarios (Cowie y Hedges, 1994) se ha observado que el grado de oxidación de la MOD presenta una relación negativa con el número de moles de azúcares neutras (o aminoácidos) por mol de carbono orgánico. Esta relación permitió la utilización de las azúcares neutras y los aminoácidos como indicadores del estado diagenético y la biodisponibilidad de la MOP y la MOD a lo largo del Amazonas (Hedges *et al.*, 1994). Amon y Benner (2003) separaron la materia orgánica disuelta fresca y lábil de la vieja y degradada utilizando como referencia el valor

de la contribución porcentual de las aldosas al carbono total (CACT; referida en inglés como "aldose yield"), considerando como fresco el material con una CACT mayor a 4.5%. La CACT y la contribución de los aminoácidos al contenido de carbono han sido utilizadas como indicadores diagenéticos en distintas escalas de tiempo. Biersmith y Benner (1998) señalaron que la MOD y MOP recientemente producida (semanas) por fitoplancton, tienen altos valores de CACT. También, Amon *et al.* (2001) demostraron la influencia de la actividad bacteriana en la composición molecular de la MOD con experimentos de incubación con bacterias en los que los valores de CACT disminuyeron de 14% a un 4% en una semana. La composición uniforme (porcentaje molar) de aldosas y el bajo CACT sugieren que el material ha sido sujeto de una considerable degradación.

El dominio de la glucosa en la MOD ha sido reportado en diversas regiones oceánicas como la costa de Oregon (44-48% molar), Mar del Sargaso (35% molar, Borch y Kirchman, 1997) y el Pacífico Ecuatorial (21-60 % molar, Skoog y Benner, 1997). Amon y Benner (2003) mostraron que el dominio de la glucosa frecuentemente observado en agua de mar superficial y en cultivos con fitoplancton marino declina con el tiempo (219 h) y a su vez aumenta el porcentaje molar de los desoxiazucres ramnosa y fucosa. La importancia relativa de la glucosa como sustrato para los microorganismos es solamente debida a su mayor abundancia (Skoog y Benner, 1997). Al contrastar el porcentaje molar de las aldosas de la materia orgánica fresca y de la degradada, Amon *et al.* (2001) también observaron un enriquecimiento de los desoxiazucres en el material degradado, por lo que el enriquecimiento de estas aldosas puede ser utilizado como indicador de un estado avanzado de diagénesis de la materia orgánica; el mismo comportamiento fue observado en experimentos de degradación microbiana de MOD (Aluwihare y Repeta, 1999).

La reactividad de las aldosas fue estimada por Skoog y Benner (1997) en el Golfo de México en varias fracciones de tamaño. El contenido de estos monosacáridos relativo al carbono orgánico total decrece de la superficie al océano profundo en todas las clases de tamaño. En general, las azúcares más abundantes fueron la glucosa y la galactosa. Los cambios en la abundancia relativa de estos compuestos con la profundidad reflejan su importancia en el crecimiento y la respiración bacteriana e indican que las aldosas son componentes reactivos que son selectivamente removidos de la materia orgánica conforme envejecen en el océano (Skoog *et al.*, 1999).

1.4 Acumulación de MOD en lagunas costeras

Existen varios estudios que muestran que el contenido de COD en ecosistemas estuarinos es mayor que en el mar adyacente y esta acumulación se explica principalmente por el aporte alóctono de MOD desde los ríos (Cifuentes y Eldridge, 1998; Guo *et al.*, 1999). Estos aportes riverinos generan gradientes con concentraciones que aumentan desde la región oceánica (con valores de COD típicamente menores a 80 μM) hasta valores que pueden exceder 400 μM en la cabeza de los estuarios (Mantoura y Woodward, 1983; Van Heemst *et al.*, 2000). En contraste, existen muy pocos estudios sobre la distribución y acumulación de COD en lagunas costeras con poco o nulo aporte riverino como las de Baja California. Sin embargo, existen evidencias de que en lagunas costeras los aportes autóctonos de COD combinados con su relativa escasa dinámica física pueden ser suficientemente intensos como para generar concentraciones de COD similares a la de algunos estuarios (Aveytua-Alcázar, 2002). Por ejemplo, Ziegler y Benner (1999) reportaron concentraciones de COD entre 160 y 415 μM para la Laguna Madre (Texas), y sugieren que la lixiviación y la descomposición de los pastos marinos pueden representar las fuentes dominantes de COD.

En el caso de Bahía San Quintín, Aveytua-Alcázar (2002) reportó un gradiente de concentraciones de aprox. 84 μM para la región marina hasta máximos entre 200 y 210 μM para el interior del brazo este. En ese trabajo se calcularon flujos no conservativos (i.e. flujos netos autóctonos) de COD que variaron entre 4 y 14 y -3 a 13 $\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ para los sitios respectivamente. Rodríguez-Cardozo (2004) reportó a su vez gradientes de concentración de COD de 78 a 172 μM y de NOD de 3.1 y 11.3 μM , confirmando así la importancia de los aportes autóctonos en la acumulación de MOD en esta laguna costera.

2 OBJETIVOS

Determinar si el proceso de exudación foliar de *Zostera marina* contribuye en forma significativa a la concentración de COD observada en el brazo este de Bahía San Quintín.

Caracterizar la materia orgánica disuelta en cuatro zonas fisiográficamente contrastantes dentro de Bahía de San Quintín mediante la determinación de la abundancia relativa y la concentración de aldosas bajo condiciones de marea viva y marea muerta.

3 HIPÓTESIS

Si las tasas de exudación obtenidas mediante ensayos con hojas de *Z. marina* son similares a los flujos de COD obtenidos mediante balances de carbono en la zona de mayor cobertura dentro de la laguna, entonces este proceso juega un rol significativo en la acumulación de MOD del sistema.

Bahía San Quintín es un ecosistema lagunar donde se presenta un gradiente en la presencia y abundancia de productores primarios, con dominancia de fitoplancton en el área marina adyacente a la boca y dominancia de *Zostera marina* en los brazos internos. Si la contribución y abundancia de las

azúcares neutras en la MOD son indicadores sensitivos de la fuente de la materia orgánica, se espera observar diferencias espaciales y temporales en la concentración y composición de aldosas disueltas a lo largo de la bahía.

4 ÁREA DE ESTUDIO

La Bahía San Quintín es una laguna costera con una extensión de más de 42 km² ubicada en la costa Noroeste del Pacífico mexicano (Figura 1). Está constituida por tres subsistemas fisiográficamente divididos que se conocen localmente como Bahía Falsa (brazo oeste destinado al cultivo de ostión), Bahía San Quintín (brazo este dominado por pastos marinos y vegetación de marisma) y la boca del sistema (área de mayor influencia oceánica). La profundidad promedio de la bahía es de 2 m con canales de ~ 10 m de profundidad que se extienden a lo largo de los subsistemas. Los escasos aportes de agua dulce durante el año (media de precipitación anual 150 mm) y la alta evaporación (media anual 1400 mm) registrada en la zona confieren al sistema un carácter hipersalino (Camacho-Ibar *et al.*, 2003).

Los eventos de surgencia son comunes durante todo el año como resultado de vientos provenientes del noroeste pero incrementan su intensidad durante la primavera y el principio del verano. Los eventos de surgencia son una fuente importante de nutrientes para la bahía y la zona oceánica adyacente. La bahía intercambia agua, nutrientes y material orgánico con el océano por corrientes de marea. Las mareas son semidiurnas con un rango máximo de 2 m. El tiempo de residencia es mayor en la zona de mayor cobertura de pastos marinos (Bahía San Quintín) en relación a la zona de producción ostrícola y la cercana a la boca (11, 4 y 2 días respectivamente, Camacho-Ibar *et al.*, 2003), lo cual posiblemente contribuye a la baja concentración de nitrógeno inorgánico total reportada por Rodríguez-Cardozo (2004) y la elevada concentración de carbono orgánico disuelto reportada por Aveytua-Alcazar (2002) para el brazo este de la laguna.

Además del fitoplancton, al menos tres productores primarios han sido reportados como abundantes en la laguna. El pasto marino *Zostera marina* con una cobertura casi del 40%, la presencia, en ocasiones abundante, de algas macrofitas (*Ulva* sp.) cerca de la boca de la laguna y la vegetación de marisma (*Salicornia* sp. y *Spartina foliosa*) presente principalmente en los extremos internos de ambos brazos (Ward *et al.*, 2003). Al parecer, la cobertura y biomasa de diatomeas bentónicas y algas epífitas no ha sido aún cuantificada, sin embargo Ibarra-Obando *et al.*, (2004) estimaron que la cobertura de estos dos grupos vegetales puede ser hasta 40% del total de la bahía.

La abundancia fitoplanctónica disminuye de la boca hacia las zonas internas de la laguna, especialmente hacia la cabeza de Bahía San Quintín, en donde los valores son un orden de magnitud menores que en la boca del sistema (Millán-Núñez *et al.*, 1982; Millán-Núñez *et al.*, 2004). La concentración de clorofila a en la boca se encuentra relacionada con el estado de la marea; la mayor abundancia de fitoplancton ocurre durante el flujo de la marea. Dos géneros de diatomeas (*Nitzschia* y *Cocconeis*) dominan la abundancia de fitoplancton en el brazo dominado por pastos marinos, sin embargo Millán-Núñez *et al.* (2004), con la utilización de cromatografía líquida y el programa de taxonomía CHEMTAX, reportaron que un grupo específico de cianobacterias (*Prochlorococcus*) puede contribuir hasta en un 40% al total de la clorofila a en toda la bahía

La maricultura es la actividad pesquera más importante en la región. Desde su introducción como actividad comercial de gran escala en el año de 1991 (Aguirre- Muñoz *et al.*, 2001; 57 estantes) esta actividad ha crecido hasta casi establecerse en todo Bahía Falsa (484 estantes). El aumento en la producción ostrícola ha sido relacionada con la presencia invasora de *Ulva spp* en zonas que antes eran dominadas en su totalidad por *Z. marina*.

El sistema ha sido denominado como netamente heterotrófico, exportador neto de COD hacia el océano adyacente y netamente desnitrificante (Camacho-Ibar *et al.*, 2003), lo cuál indica que el sistema consume por respiración más materia orgánica de la que es sintetizada por los productores primarios y es una fuente de N a la atmósfera. Para sustentar esta heterotrofia el sistema debe importar materia orgánica particulada desde el océano (Aveytua-Alcázar, 2002).

La utilización de las aldosas como indicadores de la fuente de MOD en San Quintín es un reto debido al escaso o nulo aporte de ríos y la diversidad de factores que co-actúan en el sistema. Además de los productores primarios antes mencionados procesos como la descomposición de detritus y la producción de intensa de *Crassostrea gigas* en el brazo de Bahía Falsa son otras fuentes potenciales de aldosas posibles para su identificación.

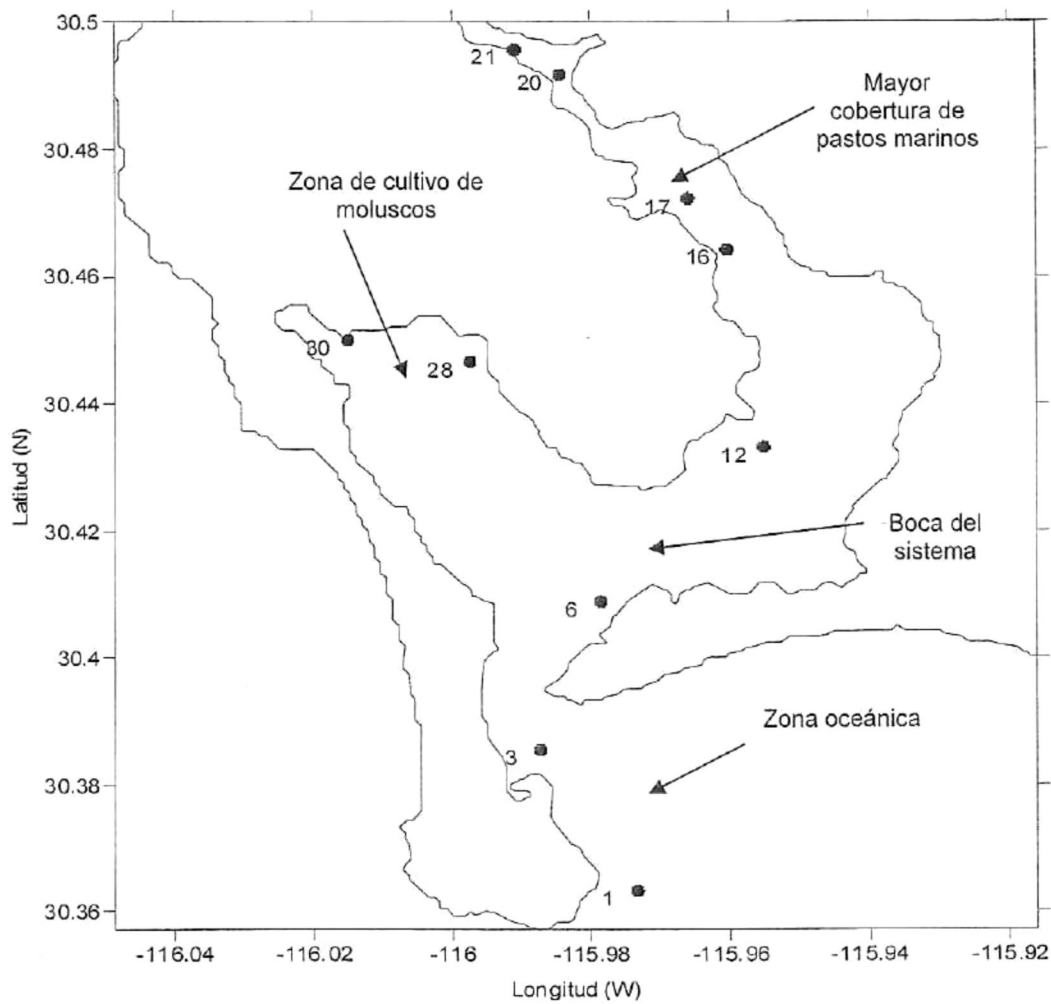


Figura 1. Localización de las estaciones muestreadas dentro de Bahía San Quintín para la determinación de azúcares neutras hidrolizables totales (ANHT).

5 MÉTODOS

5.1 Mediciones de exudación foliar de COD en laboratorio

Con el fin de determinar la contribución del proceso de exudación de los pastos marinos a la acumulación de carbono orgánico disuelto registrada en la zona de mayor cobertura de *Zostera marina* en Bahía San Quintín (Aveytua-Alcázar, 2002) se realizaron estimaciones de exudación foliar mediante ensayos en laboratorio como se describe a continuación.

5.1.1 Recolecta de *Zostera marina* en Bahía San Quintín.

Se seleccionaron haces con la menor cantidad de epifitas visiblemente presentes en la pradera de mayor cobertura ubicada el brazo este de Bahía San Quintín. Las praderas seleccionadas siempre estuvieron sumergidas y se muestrearon a profundidades entre 0.5m y 2m en marea baja y alta respectivamente. El material fue retirado manualmente con ayuda de equipo de buceo libre teniendo cuidado de mantener el material foliar y los rizomas intactos, el sedimento fue lavado en el sitio y los haces fueron almacenados en hieleras para su transporte a estanques de acondicionamiento. En el mismo sitio de recolecta se extrajo sedimento suficiente para transplantar los haces. El tiempo transcurrido entre la recolecta y el transplante para su acondicionamiento no fue mayor de 24 horas.

5.1.2 Acondicionamiento del material.

Con el objeto de plantar los haces se prepararon macetas de plástico forradas con bolsas para facilitar la extracción del material y la compactación del sedimento. Se plantaron 10 haces por maceta anclados al sedimento por medio de ganchos de alambre de acero inoxidable. Los haces plantados en las macetas fueron colocados en estanques cuadrados de 1000 l facilitados por el grupo de macroalgas del Instituto de Investigaciones Oceanológicas.

Los haces se mantuvieron en aclimatación con agua de flujo corriente suministrada directamente por bombeo desde el océano. El agua del estanque se recambiaba totalmente aproximadamente cada semana (recambio de 6 l h^{-1}) y su calidad estaba sujeta a las fluctuaciones ambientales. Los estanques fueron sombreados con malla plástica que redujeron la incidencia de la luz solar en un 40%.

5.1.3 Selección de material

Transcurridos 2 días de aclimatación se seleccionó el material foliar para los experimentos. Las hojas seleccionadas fueron las número 2 según la definición de Mazzella y Alberte (1986), siendo la más joven la 1 y la más vieja la 3. Las hojas fueron retiradas manualmente y cortadas en secciones de 5 cm las cuales fueron limpiadas cuidadosamente del material orgánico adherido. Los cortes limpios fueron contenidos en cápsulas de malla y llevados de nuevo a los estanques de aclimatación para liberar cualquier material resultado de la lisis celular.

5.1.4 Ensayos de exudación

Después de 12 h de aclimatación en las cápsulas, los cortes fueron llevados al laboratorio, limpiados cuidadosamente con hojas Kimwipe y enjuagados con agua de mar, agua desionizada y con agua filtrada y esterilizada con luz ultravioleta proporcionada por el laboratorio de cultivo de microalgas del Instituto de Investigaciones Oceanológicas.

Se utilizó una balanza analítica para pesar 1 g (peso húmedo) de los cortes limpios. La incubación del material se realizó en cámaras con capacidad de 100 ml (Kontes). Agua filtrada y esterilizada con luz ultravioleta fue utilizada como medio en las incubaciones. Las cámaras fueron conectadas a un termocirculador que mantuvo la temperatura constante del experimento a $19 \text{ }^\circ\text{C}$. Se utilizaron lámparas fluorescentes General Electric (Flu Lux) para producir

300 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de irradiancia, dicha irradiancia es necesaria para alcanzar el 100% de saturación de fotosíntesis ($\approx 0.6 \mu\text{mol O}_2 \text{ g peso húmedo}^{-1} \text{ min}^{-1}$, Cabello-Pasini *et al.*, 2003). Las cámaras fueron montadas sobre planchas de agitación (Fisher Scientific) y ajustadas a la irradiancia antes mencionada con la ayuda de un irradiómetro (Fisher Scientific); se utilizaron microagitadores magnéticos a velocidad constante para permitir el intercambio de CO_2 entre el experimento y la atmósfera.

Una vez transcurrido el tiempo de las incubaciones (teniendo como mínimo 1 minuto y como máximo 360 minutos) se extrajo el agua de las cámaras por medio de jeringas de plástico (Nalgene) de 60 ml y el agua fue filtrada con filtros GF/F previamente calcinados. El agua obtenida fue almacenada en refrigeración para análisis de COD, nutrientes inorgánicos y aldosas.

5.2 Colecta de muestras de agua

Durante los meses de septiembre y octubre de 2003 se realizó una campaña de muestreo en Bahía San Quintín. Muestras de agua superficial fueron colectadas para posteriores análisis de COD y aldosas. El rango de marea durante el muestreo en marea viva (27 y 28 de Septiembre) fue de 1.5 m y durante marea muerta (3 y 4 de Octubre) 0.5 m. Durante cada evento de marea se seleccionaron 10 sitios, 4 en la cabeza (dominada por pastos marinos), 2 cerca de los cultivos de ostiones y un transecto de 4 estaciones de la zona oceánica a la boca del sistema (Figura 1).

Para el análisis de carbohidratos se filtraron 20 ml del agua con filtros GF/F, los cuales fueron colectados en viales de borosilicato previamente calcinados y lavados en HCl 50%; cada estación fue muestreada por triplicado. Las muestras para el análisis de COD fueron filtradas y posteriormente se adicionaron 5 μl de H_3PO_4 por cada ml de muestra. Todas las muestras fueron

enfriadas en hielo y almacenadas posteriormente en congelación. El análisis de aldosas se llevó a cabo mediante un sistema de cromatografía de iones con un detector de pulsos amperométricos (Figura 2) en el laboratorio de química analítica del Departamento de Ciencias Marinas de la Universidad de Connecticut (ver detalles en la sección 5.3). El análisis de COD se llevó a cabo por el principio de oxidación catalítica de alta temperatura con un analizador Shimadzu TOC 5000 en el Instituto de Investigaciones Oceanológicas (ver detalles en Aveytua-Alcázar, 2002).

5.3 Análisis de aldosas

Toda la manipulación de las muestras en el laboratorio se llevó a cabo con guantes de latex. El material de vidrio fue calcinado por 6 h a 500 °C, los filtros GF/F fueron calcinados por 6 h a 450 °C. El tratamiento de las muestras se realizó en un cuarto limpio de clase 1000, asignado exclusivamente al tratamiento y manipulación de muestras con compuestos orgánicos traza. La preparación de muestras y el análisis en el equipo se llevó a cabo siguiendo el protocolo de Skoog y Benner (1997) como se describe a continuación.

5.3.1 Secado de las muestras

Las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente después de lo cual se pipetearon 9 ml en tubos de centrifugación y colocadas para su secado en un sistema Savant speed vac. Las muestras fueron dejadas en el sistema de secado por 12 h. después de lo cual se forma una costra de sales en el fondo de los tubos.

5.3.2 Hidrólisis

Se adicionó al residuo en los tubos 1 ml de H₂SO₄ (12M). Debido a que las muestras analizadas tenían un alto contenido de sales, los tubos fueron dispuestos en un baño ultrasónico por 15 minutos para ayudar a disolverlas. Las mezclas del ácido y las muestras secas fueron homogenizadas con barras

de vidrio, después de lo cual se dejaron en reposo a temperatura ambiente por 1.75 h. Transcurrido este tiempo se adicionaron 9 ml de agua MQ y se homogenizó con barras de vidrio. La solución obtenida fue transferida con pipetas Pasteur a ampolletas que fueron selladas con calor. Las ampolletas fueron introducidas en un baño de agua caliente por 3 h a 100 °C. La hidrólisis se detuvo colocando las ampolletas en hielo durante 5 min.

5.3.3 Neutralización

Las muestras hidrolizadas fueron transferidas a tubos de centrifugación de 50 ml que contenían 1.44 g de CaCO_3 (previamente calcinado a 500 °C durante 3 h) cuidadosamente para controlar la efervescencia. La muestra fue homogenizada con barras de vidrio. Los tubos fueron cerrados con tapas cubiertas de teflón e introducidas en baño ultrasónico por 20 min para completar la reacción. Después de este procedimiento el pH fue siempre cercano a 6. Las muestras fueron centrifugadas a máxima velocidad (12,000 rpm; 12,200 g) por 10 min. El sobrenadante fue extraído con pipetas Pasteur y transferido a viales de centelleo con tapas cubiertas de teflón. Las muestras fueron congeladas hasta su análisis.

5.3.4 Eliminación de sales

Se empacaron 4ml de una mezcla 1:1 de las resinas Biorad AG 2X8 (para aniones) y AG 50W-X8 (para cationes) en jeringas de vidrio con filtros GF/F en el fondo (ambos calcinados previamente). La mezcla de resinas fue enjuagada 3 veces con agua MQ, después de lo cual se hizo pasar 1.5 ml de la muestra descongelada a temperatura ambiente. Para asegurar que la muestra fuera totalmente desionizada la adición se hizo gota por gota con pipeta Pasteur. La elución de la muestra se realizó con la ayuda de un ligero vacío.

Para confirmar que la muestra fue totalmente desionizada se hizo reaccionar una gota del extracto con una solución débil de nitrato de plata, la formación de un precipitado en la solución (cloruro de plata) indicaba que no

todos los iones habían sido removidos de la muestra y que el procedimiento tenía que repetirse una vez más. La muestra desionizada fue colectada en viales ámbar y almacenada inmediatamente en congelación hasta su análisis.

5.3.5 Detección de Aldosas

Las aldosas fueron separadas mediante una elución isocrática con una solución 24 mM NaOH. Se utilizó una columna Dionex Carbopac PA-10 montada en un sistema de cromatografía de iones Dionex 500 con un detector PAD (Pulse Amperometric Detector; Figura 2). El detector emplea un electrodo de oro y un electrodo de referencia de Ag/AgCl. Con este sistema cromatográfico las aldosas son separadas como aniones en una solución alcalina por medio de cromatografía líquida de alta resolución (Jørgensen y Jensen, 1994). Con el PAD se obtiene una alta sensibilidad y precisión en el análisis de carbohidratos presentes en baja concentración (Jørgensen y Jensen, 1994; Kerhervé *et al.*, 1995; Gremm y Kaplan, 1997; Cheng y Kaplan, 2001).

5.3.5.1 Preparación de la fase móvil

Se burbujeó agua MQ con He durante 15 minutos antes de adicionarle NaOH líquido bajo en carbonato (Fisher), el burbujeo continuó 5 minutos más después de adicionar el NaOH y posteriormente la fase móvil se mantuvo presurizada con He a 2000 psi. La fase móvil tuvo una concentración de 24 mM NaOH, ya que es esta la concentración que ha dado mejor resolución en trabajos anteriores (Skoog y Benner, 1997).

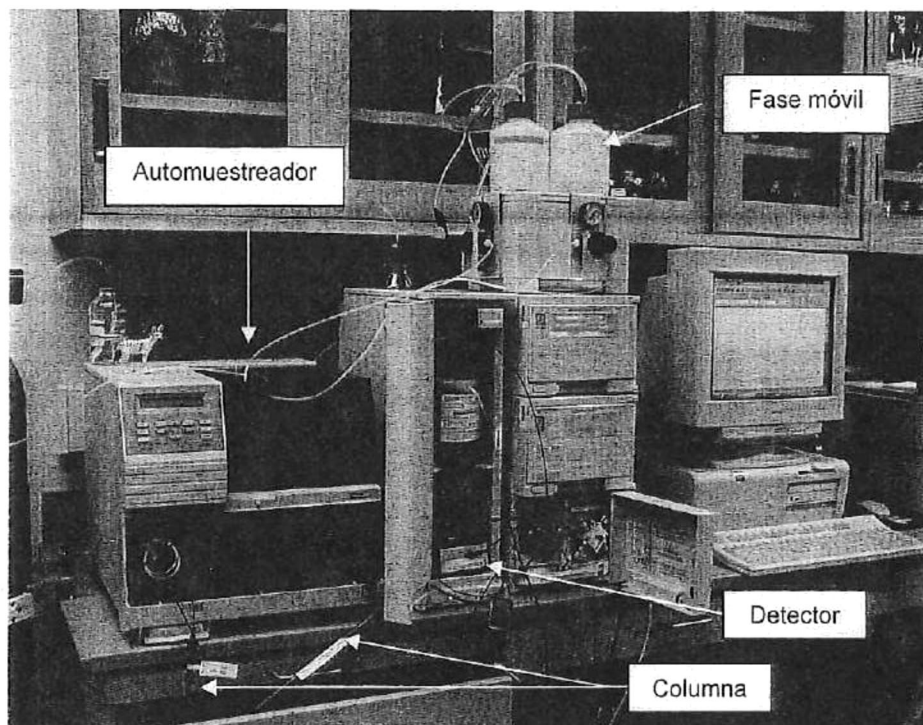


Figura 2. Sistema de cromatografía de iones con PAD acoplado.

5.3.6 Cálculo de la concentración de aldosas

Se inyectó un estándar con una concentración de 1000 nM para cada una de las 7 aldosas a determinar (Figura 3). El sistema realiza la curva de calibración automáticamente disminuyendo el volumen de inyección del estándar (100, 75, 50, 25, 10 μ l). El coeficiente de determinación (r^2) entre el volumen inyectado y la respuesta (en coulombs) del aparato fue siempre mayor a 0.9. El volumen de inyección de las muestras fue de 100 μ l y la integración de los picos se realizó con el programa Peak net (Dionex). El método aún no ha sido perfeccionado y causa la coelución en mayor o menor grado de la galactosa, la glucosa, la manosa y la xilosa (Figura 3).

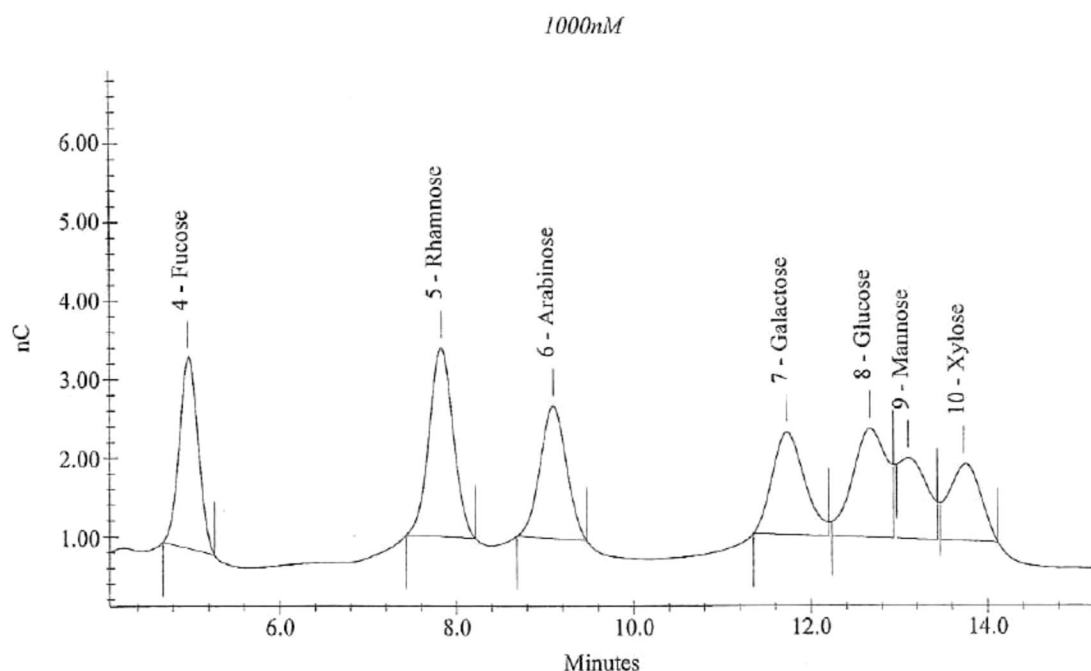


Figura 3. Cromatograma del estándar 1000 nM con las 7 aldosas detectadas.

5.3.7 Precisión en la determinación de la concentración de aldosas

Se ha reportado que, con el método utilizado en el presente estudio, la desviación estándar entre réplicas en el análisis de aldosas en muestras de agua de mar puede variar entre 5 y 30% y que el porcentaje de recuperación se encuentra entre 70 y 90% (Skoog y Benner, 1997); ya que con el sistema cromatográfico acoplado a un PAD se obtiene una alta sensibilidad y precisión en el análisis de carbohidratos presentes en baja concentración (Jørgensen y Jensen, 1994; Kerhervé *et al.*, 1995; Gremm y Kaplan, 1997; Cheng y Kaplan, 2001), se sugiere que el error estándar obtenido se debe principalmente al laborioso pretratamiento de las muestras antes de la cuantificación de las aldosas. En el presente estudio, la precisión en el análisis cromatográfico (i.e. el error estándar de un mismo extracto inyectado por triplicado) varió entre 0.1% y 11%. La precisión entre réplicas varió entre 2.24 y %38.7, aunque con la mayoría de las muestras la precisión fue < 16%.

6 RESULTADOS

6.1 Ensayos de exudación

6.1.1 Ensayo preliminar de exudación

Con el fin de evaluar si los cambios de concentración de COD durante los ensayos de exudación serían detectables con el analizador Shimadzu TOC-5000, antes de realizar los ensayos de exudación con hojas de *Zostera marina* recolectadas en Bahía San Quintín, se llevó a cabo un ensayo preliminar de exudación foliar con hojas de *Zostera marina* recolectadas en el Estero de Punta Banda, una laguna costera ubicada al sur de la ciudad de Ensenada. Durante este ensayo de corta duración (15 minutos) en el que se incluyeron cuatro réplicas, se observó una adición casi instantánea con promedio de 22 μM de COD (intervalo entre 7 y 37 μM) una vez transcurrido el primer minuto (Figura 4). Una vez transcurridos 15 minutos el incremento promedio fue de 27 μM (Figura 4). Estos resultados equivalen a tasas de adición promedio de COD de 0.18 y 2.2 μmol por gramo de peso húmedo por minuto ($\mu\text{mol g PH}^{-1} \text{min}^{-1}$) para los tiempos de 1 min y 15 min respectivamente. Estas tasas de adición de COD son mucho mayores que los valores máximos esperados únicamente debido al proceso de exudación ($\sim 0.06 \mu\text{mol COD g PH}^{-1} \text{min}^{-1}$) por lo que los resultados de este ensayo sugirieron la adición de COD por otros procesos asociados a la manipulación de las hojas durante los ensayos. La tasa máxima de exudación esperada se estimó considerando que bajo las condiciones experimentales de iluminación se esperaría que la tasa fotosintética fuera equivalente a 0.6 μmol de O_2 g $\text{PH}^{-1} \text{min}^{-1}$ (Cabello-Pasini *et al.*, 2003) y que el valor de la tasa de exudación equivaliera al 10% de la fotosíntesis neta reportado en otros estudios (Ziegler y Benner, 1999).

El incremento notable en la concentración de COD al primer minuto de agregar el material foliar al medio de incubación sugirió que el incremento era principalmente resultado de la desadsorción de MOD adherida a las hojas.

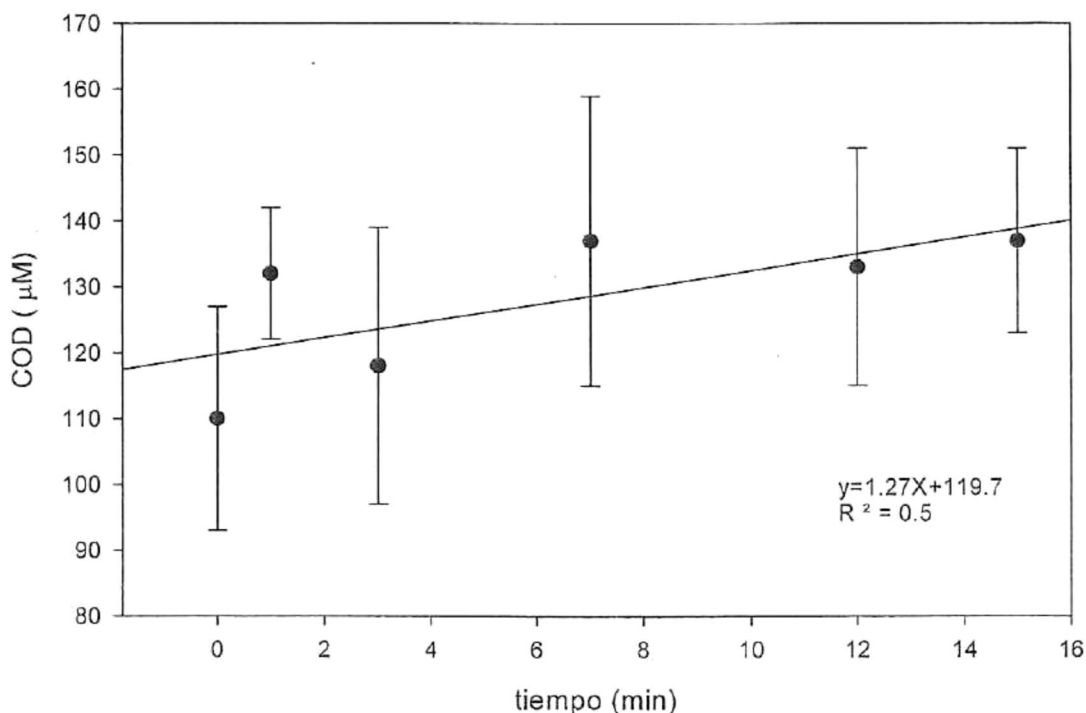


Figura 4. Concentración promedio de COD (μM) en 4 réplicas del ensayo de exudación con material foliar de *Z. marina* recolectado en el Estero de Punta Banda, B.C. (las barras muestran \pm D. S).

La posible adición de MOD por desadsorción fue minimizada incluyendo en el protocolo una limpieza escrupulosa, pero sin dañar el material foliar (ver metodología). Dicha limpieza permitió reducir el incremento de COD después de adicionar el material foliar a solo $5 \mu\text{M}$ una vez transcurrido 1 min (Figura 5). El incremento en la concentración de COD durante el ensayo que incluyó la limpieza exhaustiva fue relativamente constante a lo largo de la incubación (Figura 5), en contraste con el ensayo anterior (Figura 4) donde el incremento

siguió una cinética típica de los experimentos de desadsorción (por ejemplo ver Ortiz-Hernández *et al.*, 2004). Estos resultados sugieren que los incrementos en la concentración de COD observados durante los ensayos posteriores de este estudio reflejan procesos de adición diferentes a la desadsorción e incluyen principalmente a los procesos de exudación y lixiviación foliar.

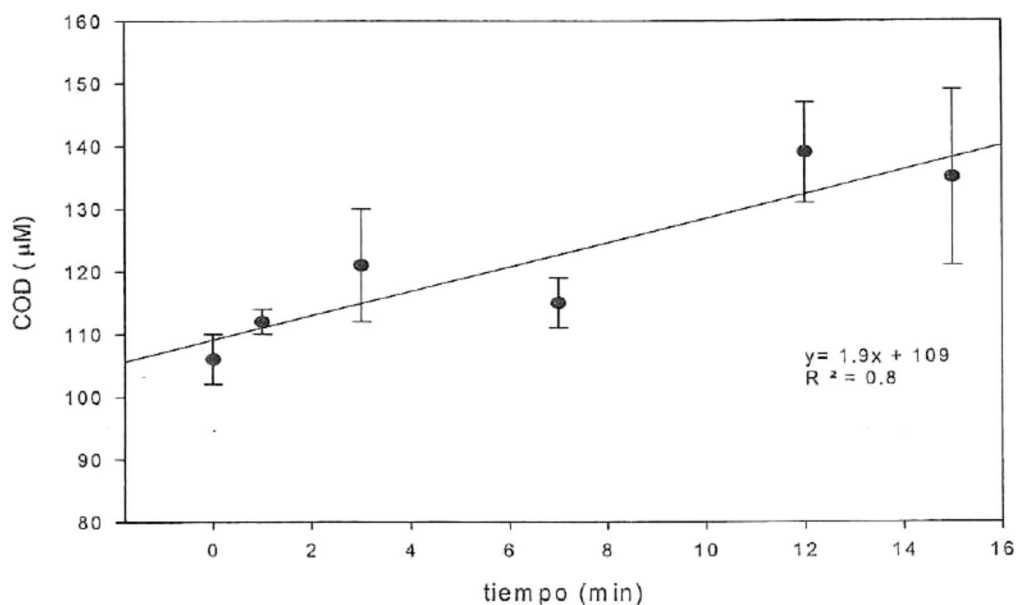


Figura 5. Concentración promedio de COD (μM) en 3 réplicas de un ensayo realizado con material foliar de *Z. marina* recolectado en Bahía San Quintín (las barras muestran \pm D. S).

6.1.2 Ensayo sin adición de nutrientes

Se realizó un ensayo sin adición de nutrientes y con réplicas realizadas el 9 y el 11 de marzo de 2004 respectivamente, con un intervalo de tiempo mayor (210 min) que en los dos anteriores, para conocer si la disponibilidad de nutrientes era un factor limitante en la exudación de COD (Figura 6). Los resultados del consumo de nutrientes mostraron que durante los primeros 15 minutos del ensayo la concentración de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y PO_4 disminuyeron rápidamente y continuaron disminuyendo a lo largo del

ensayo (Figura 6). Sin embargo, mientras que la concentración de NID disminuyó hasta casi agotarse, esto no ocurrió en el caso del PO_4 (Figura 6; Tabla 3).

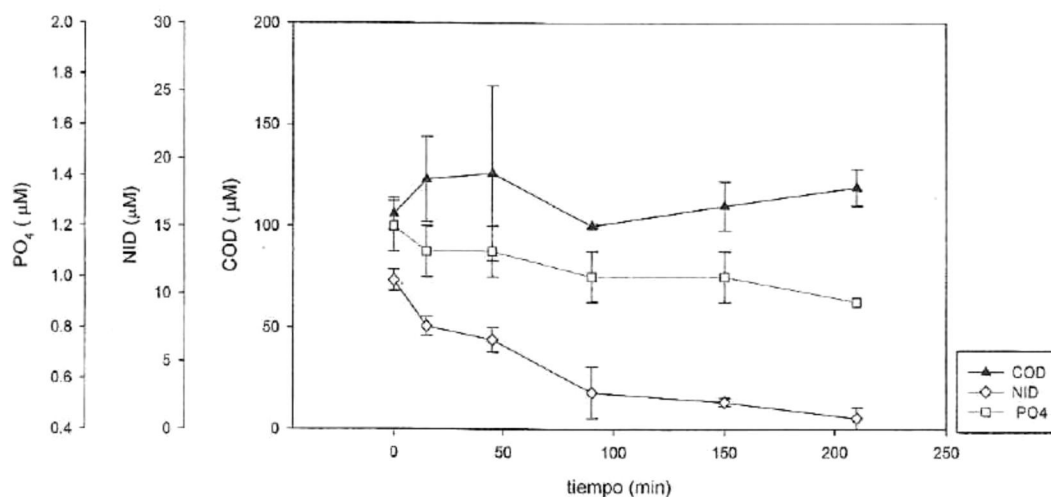


Figura 6. Concentración promedio de Cód, NID y PO_4 (μM) en 2 réplicas del ensayo de exudación realizado con medio sin enriquecer (las barras muestran \pm D.S.).

Al analizar la cinética de consumo del NH_4 en particular, el comportamiento fue distinto en los dos experimentos. Durante el experimento realizado el 9 de marzo se observó un máximo de NH_4 y un mínimo de COD entre los 45 y 90 minutos (Figura 7), lo cual puede sugerir que la remineralización bacteriana del COD fue mayor que la adición de COD por exudación en este periodo del experimento. Aunque el experimento realizado el 11 de marzo no mostró un enriquecimiento de NH_4 , la cinética del COD tampoco fue la esperada después de los primeros 45 minutos cuando la concentración de COD disminuyó notablemente. Aunque la limpieza de las hojas con las que fueron realizados los ensayos redujo considerablemente la adición de COD debido a la desadsorción de MOD, este procedimiento no

elimina las bacterias asociadas a las hojas. Es posible que la diferencia en el contenido bacteriano entre ensayos explique las diferencias en la cinética del COD observadas entre réplicas.

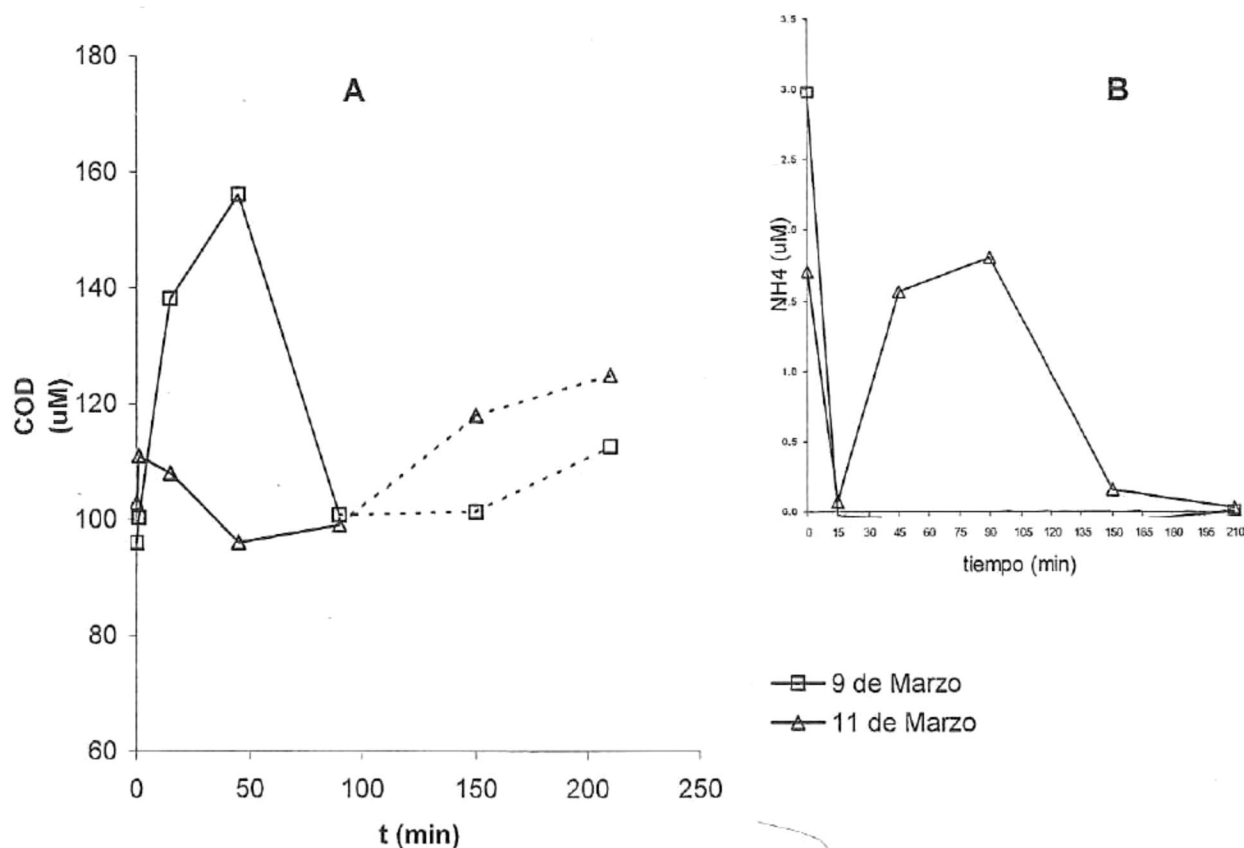


Figura 7. Comportamiento de la concentración de COD (A) y la concentración de NH_4 (B) en dos experimentos realizados sin adición de nutrientes. La línea punteada muestra los puntos utilizados para calcular la tasa de exudación.

La tasa de exudación se calculó en este ensayo restando la concentración de COD registrada al final del ensayo (210 min) a la concentración registrada al primer minuto de los experimentos. En ambos casos la tasa calculada fue $\sim 0.4 \mu\text{mol g}^{-1} \text{PH h}^{-1}$. Esta tasa de exudación representa

probablemente una subestimación de la tasa de exudación que se esperaría calcular si las hojas de *Z. marina* se hubieran mantenido a una fotosíntesis máxima (P_{max}) durante los 210 min de duración del experimento ($\sim 3.6 \mu\text{mol COD g PH}^{-1} \text{ h}^{-1}$ suponiendo que la exudación correspondiera al 10% de la producción primaria).

Si bien la intensidad y calidad de la luz, así como la temperatura se mantuvieron constantes, es posible que después de 90 minutos la producción fotosintética (y por lo tanto la exudación) fue limitada en los experimentos por la baja disponibilidad de nitrógeno inorgánico (Figura 6).

Tabla 3. Tasas de consumo de nutrientes inorgánicos calculadas de los ensayos realizados con material foliar de *Z. marina* (promedio y D.S)

	Sin adición de NID *		Enriquecido 16 μM °		Enriquecido 36 μM °	
	NID	PO ₄	NID	PO ₄	NID	PO ₄
C_{ini} (μmol)	11 \pm 0.8	1.2 \pm 0.1	16.1 \pm 0.4	1 \pm 0.3	37 \pm 3.6	0.6 \pm 0.4
C_f (μmol)	2 \pm 0.3	1 \pm 0.1	2.3 \pm 0.7	0.8 \pm 0.1	24.2 \pm 0.8	0.3 \pm 0.2
Tasa ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	0.36	0.010	0.69	0.011	0.65	0.007

C_{ini} , concentración en el medio de cultivo; C_f , concentración al finalizar el ensayo

$$\text{Tasa} = (C_f - C_{ini} / 10) / 120$$

* duración 210 minutos; ° duración 360 minutos

Para verificar si la disponibilidad de NID estaba limitando la exudación de COD, se realizó un ensayo enriqueciendo con NaNO_3 el medio de incubación, obteniéndose una concentración inicial de 16 μM en el medio de cultivo (Figura 8). La tasa de exudación calculada transcurridas 2 horas durante este ensayo (5 replicas) mostró un aumento en relación con la tasa de exudación calculada transcurridas 1.5 horas en el ensayo realizado sin adicionar nutrientes (Tabla 4),

sin embargo, el NID reduce su concentración a menos de 5 μM después de 2 horas y es consumido en su totalidad transcurridas 6 horas (Figura 8).

La tasa de consumo de NID, calculada después de 2 horas de iniciado el ensayo, aumento de 0.36 en el ensayo realizado sin enriquecer a 0.69 $\mu\text{mol gPH}^{-1}\text{h}^{-1}$ en el ensayo con 16 μM (Tabla 3). Las tasas de consumo de PO_4 no muestran una diferencia aparente en ambos tratamientos (Tabla 3).

Tabla 4. Tasas de exudación de COD calculadas de los ensayos realizados con material foliar de *Z. marina* (promedio y D.S)

	Sin enriquecer con NID ⁺	Sin enriquecer con NID [*]	Enriquecido con 16 μM [°]	Enriquecido con 36 μM [°]
C_{ini} (μmol)	106 \pm 4	100 \pm 5	86 \pm 13	83 \pm 13
C_1 (μmol)	112 \pm 2	106 \pm 8	n.d	89 \pm 2
C_f (μmol)	135 \pm 14	110 \pm 12	126 \pm 27	162 \pm 88
Tasa ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$)	9	0.4	2	4

C_{ini} , concentración en el medio de cultivo; C_1 , concentración después de 1 minuto de adicionar el material foliar; C_f , concentración al finalizar el ensayo

Tasa = $(C_f - C_{\text{ini}} / 10) /$ numero de horas del ensayo

⁺ tasa calculada a los 15 minutos; ^{*} tasa calculada a 1.5 h; [°] tasa calculada a 2 h

Debido a que la concentración de NID disminuyó hasta casi agotarse transcurridas 4 horas (Figura 8), se consideró realizar un ensayo adicionando una cantidad de 36 μM , ya que se pretendía conocer el comportamiento del proceso de exudación sin que el NID fuera un probable factor limitante durante la duración total del ensayo (6 h).

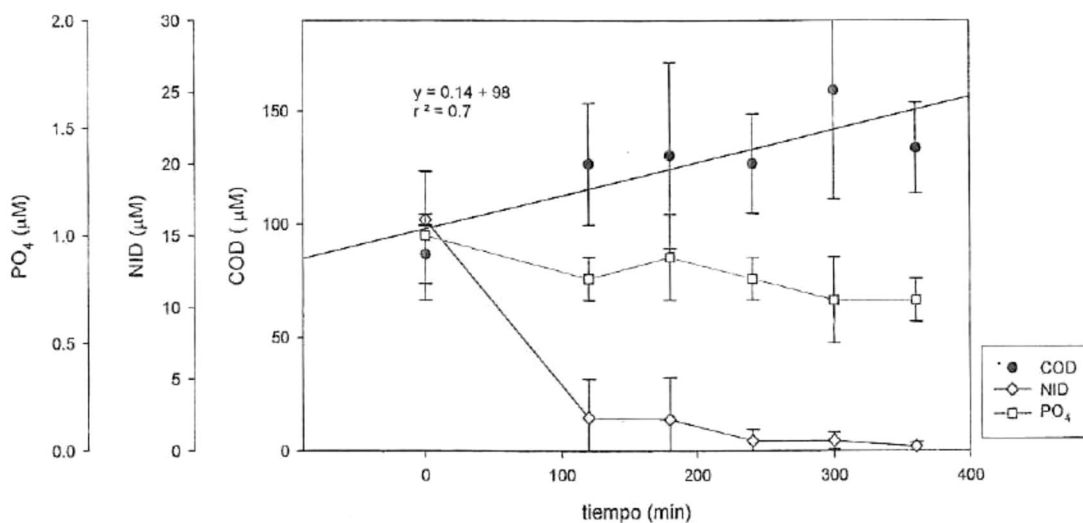


Figura 8. Concentración promedio de COD, NID y PO₄ (µM) en 5 replicas del ensayo de exudación en medio enriquecido con 16 µM de NaNO₃ (las barras muestran ± D.S.).

En el ensayo en medio enriquecido con 36 µM de NaNO₃ tanto NID como PO₄ mostraron una tendencia a disminuir con el tiempo, sin embargo, en contraste con los ensayos anteriores, el NID decreció casi linealmente a lo largo del tiempo sin llegar a consumirse en su totalidad (Figura 9). La tasa de consumo de NID calculada después de 2 horas es muy parecida a la tasa registrada en el ensayo realizado en medio enriquecido con 16 µM (Tabla 3).

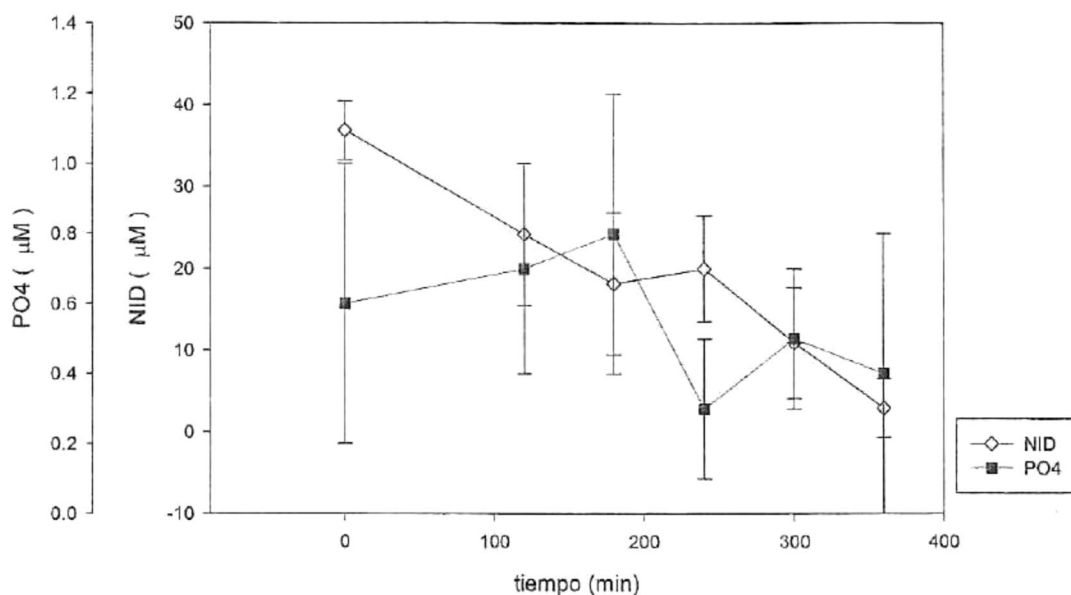


Figura 9. Concentración promedio de NID y PO_4 (μM) en 3 réplicas del ensayo de exudación en medio enriquecido con $36 \mu\text{M}$ de NaNO_3 (las barras muestran \pm D.S.).

La concentración de COD registrada en el medio enriquecido con $36 \mu\text{M}$ aumentó considerablemente durante el ensayo (Figura 10). La tasa de exudación de COD calculada durante este tratamiento fue mayor que la calculada en el ensayo sin adicionar nutrientes y adicionando $16 \mu\text{M}$ de NID (Tabla 4), lo cual sugiere que la tasa de exudación está relacionada con la disponibilidad de nutrientes en el medio de cultivo con que fueron realizados los ensayos.

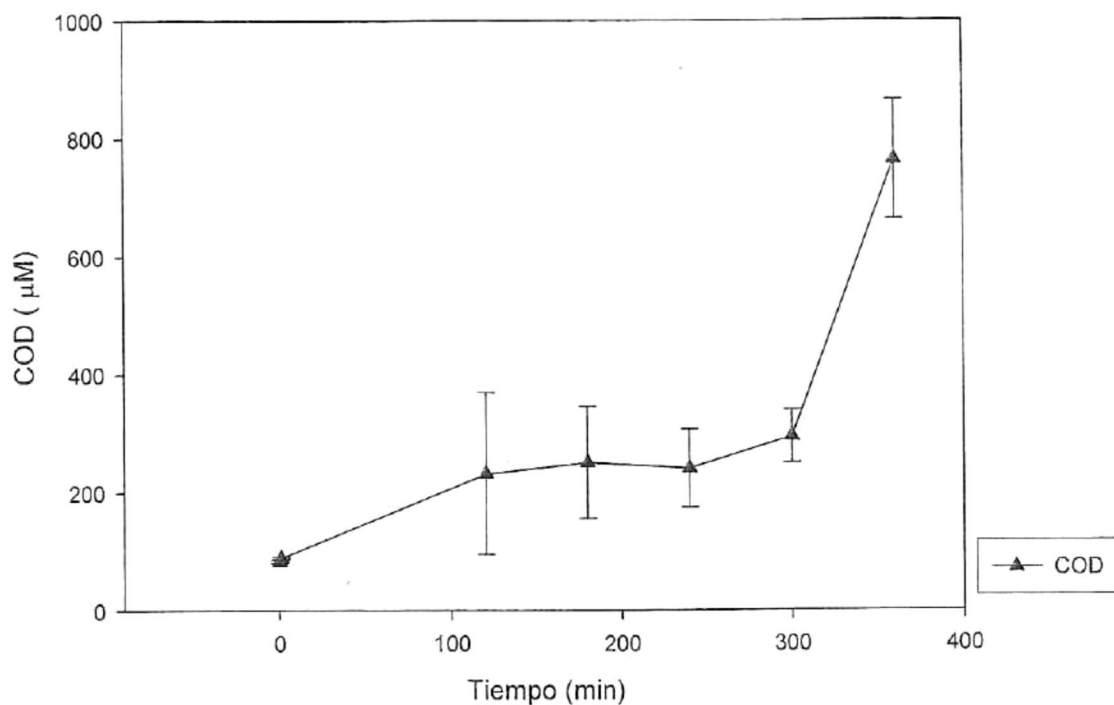


Figura 10. Concentración promedio de COD (μM) en 3 replicas del ensayo de exudación en medio enriquecido con $36 \mu\text{M}$ de NaNO_3 (las barras muestran \pm D.S.).

6.1.3 Composición de aldosas durante los ensayos

Se determinó la composición de aldosas en 4 de las 5 repeticiones del ensayo realizado en medio enriquecido con $16 \mu\text{M}$ de NaNO_3 . Las muestras para el análisis de aldosas fueron tomadas en el agua con la que se realizó el cultivo (t_0) y transcurridos 360 minutos de incubación (t_{360}). Se observó un incremento en la concentración de aldosas y COD en las muestras tomadas al t_{360} de las 4 replicas al ser comparadas con la composición del medio utilizado para su incubación (Tabla 5).

Tabla 5. Concentración y porcentaje molar de aldosas en 4 réplicas de un ensayo de exudación realizado con material foliar de *Z. marina* enriquecido con 16 μM NaNO_3 .

	R1		R2		R3		R4	
	T ₀	t ₃₆₀	T ₀	t ₃₆₀	T ₀	t ₃₆₀	T ₀	t ₃₆₀
COD (μM)	74	105	85	102	82	156	84	141
Aldosas (nM)	115	443	194	302	127	654	54	760
Aldosas (nM C)	691	2478	1166	1816	760	3903	306	4535
CACT	0.83	2.36	1.37	1.8	0.93	2.5	0.36	3.22
Fuc. %	50	21	n.d	n.d	50	30	28	41
Gluc. %	50	8	95	97	19	32	33	23
Man. %	n.d	31	n.d	n.d	31	25	11	26
Xil. %	n.d	40	5	3	n.d	12	28	11

n.d, no detectado

Como se mencionó anteriormente, el agua utilizada como medio de cultivo en los ensayos fue previamente filtrada y esterilizada con luz U.V. Típicamente el agua oceánica superficial presenta un CACT de entre 2-6% (Skoog y Benner, 1997). En este ensayo el agua utilizada como medio de cultivo se mantuvo entre 74 y 85 μM de COD y presentó una alta variación de CACT (0.4-1.4%). Aunque se registró un incremento en la concentración del COD al t₃₆₀ en las cuatro réplicas, la composición y abundancia de las aldosas fue muy distinta entre réplica y réplica (Tabla 5). El CACT incrementó al t₃₆₀ en las cuatro replicas (Figura 11, Tabla 5), sin embargo, no se encontró alguna aldosa dominante en la composición relativa de las 4 replicas del ensayo (Tabla 5). No se detectó arabinosa, galactosa ni ramnosa en t₀ y t₃₆₀.

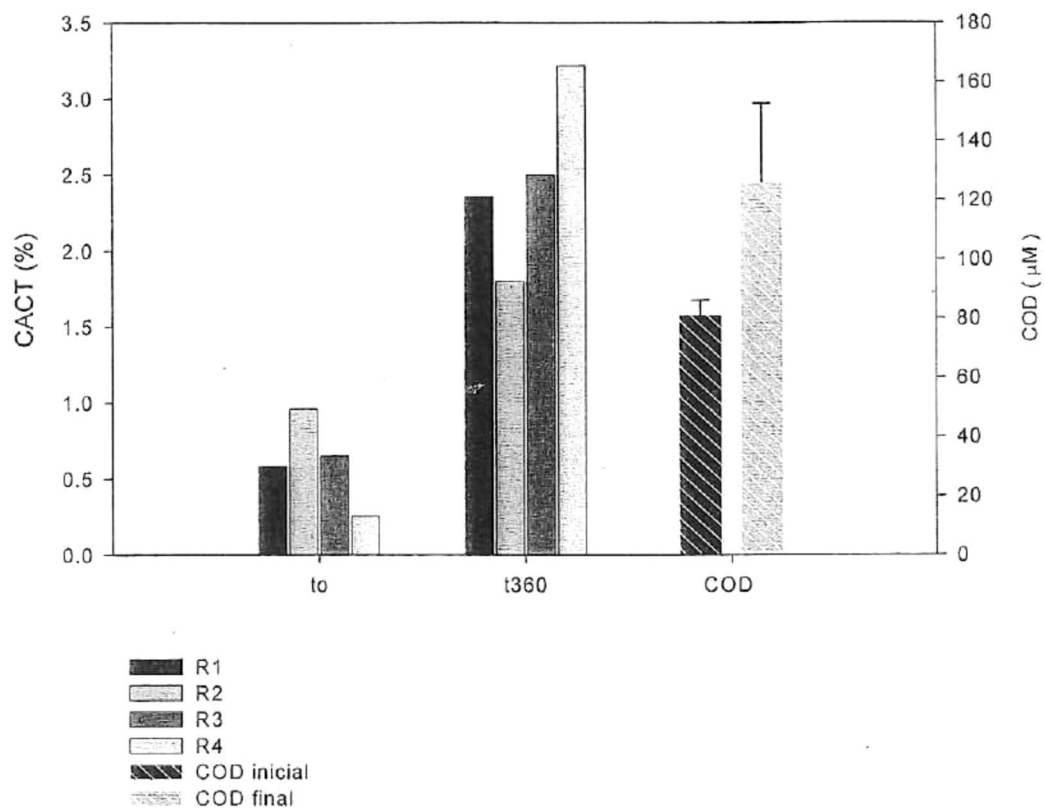


Figura 11. Contribución porcentual de las aldosas al carbono total (CACT) en 4 replicas del ensayo de exudación realizado con material foliar de *Z. marina* en medio enriquecido con 16 µM de NaNO_3 .

6.2 Análisis de muestras de campo

6.2.1 Distribución de COD en la Bahía

El COD mostró la misma tendencia reportada en trabajos anteriores realizados en Bahía San Quintín (Aveytua-Alcázar, 2002; Rodríguez-Cardozo, 2004). En general existe un incremento hacia los brazos internos de la laguna de tal forma que la concentración de COD muestra una relación lineal con la salinidad (Figura 12).

Las estaciones 1 y 3 registraron salinidades bajas (~ 33.3), mientras que los valores incrementaron hacia el interior de la laguna hasta alcanzar máximos entre 35.5 y 36.5 en el extremo interno del brazo este (estaciones 20 y 21) durante mareas muertas (Fig. 12a). La concentración de COD tiende a incrementar desde el océano ($83 \pm 12 \mu\text{M}$) hacia los brazos internos de la bahía registrándose la menor de ellas durante marea muerta ($66 \mu\text{M}$). Las mayores concentraciones de COD y salinidad registradas coinciden con la zona de mayor cobertura de pastos marinos (estaciones 16, 17, 20, 21), sin embargo la concentración de COD registrada durante marea viva fue menor en este sitio en comparación a la registrada durante marea muerta (222 y $304 \mu\text{M}$, respectivamente). Las estaciones de la zona de cultivo de ostiones ubicadas en Bahía Falsa (estaciones 28 y 30) muestran salinidades intermedias (~ 33.8) y concentraciones de COD menores que las registradas en las estaciones con cobertura de pastos marinos en ambos eventos de marea.

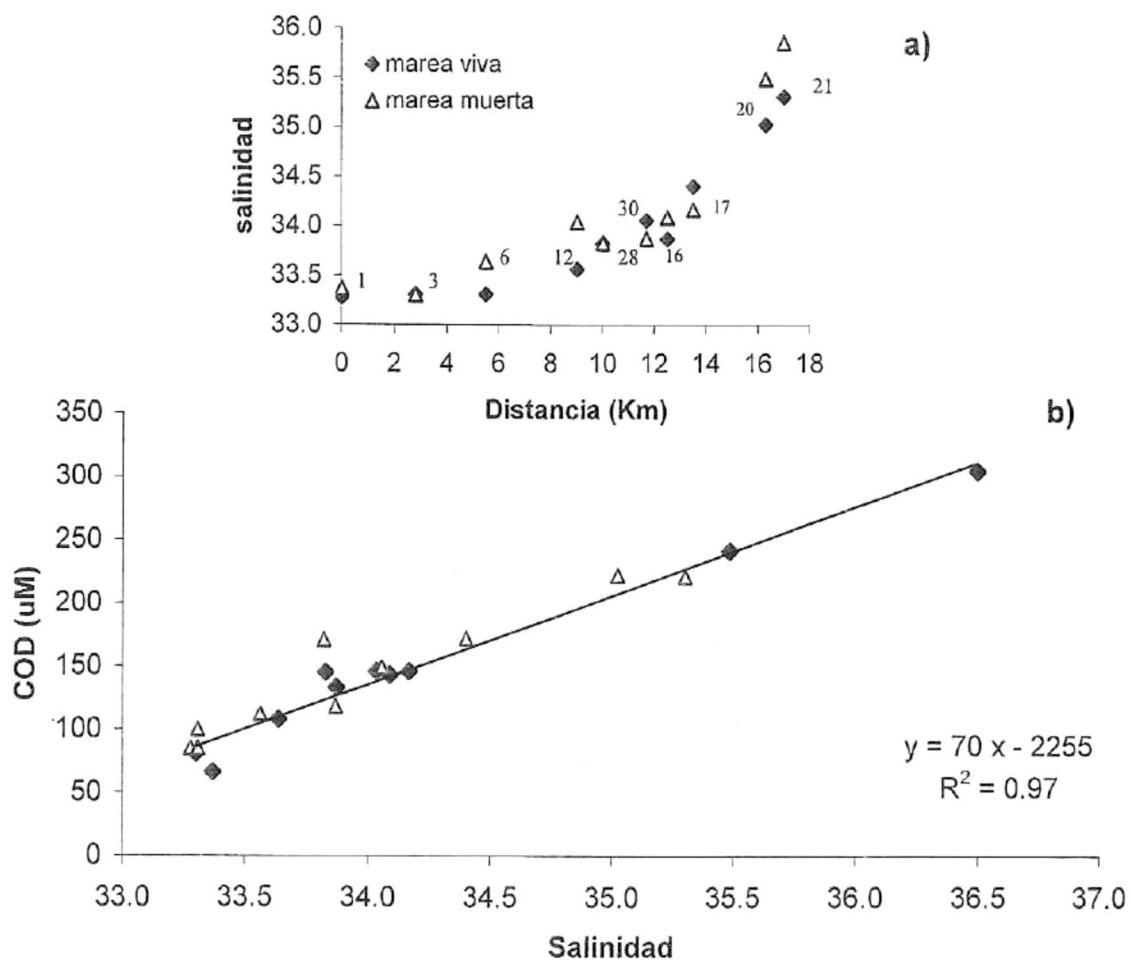


Figura 12. (a) Distribución de la salinidad con respecto a la distancia de la estación 1 y (b) distribución de la concentración de COD (μM) a lo largo del gradiente de salinidad (i.e. diagrama de mezcla) durante los dos eventos de marea muestreados.

6.2.2 Distribución de la concentración de aldosas

La concentración de azúcares neutros hidrolizables totales (ANHT) fue mayor en el evento de marea viva en todas las estaciones excepto la estación 6. La mayor concentración fue detectada en la zona de mayor cobertura de pastos para los dos eventos de marea. La concentración más alta (16737 nM) se registró en la estación 20 durante evento de marea viva. La menor concentración (545 nM) en la estación 1 durante marea muerta (Tabla 6). Las estaciones de mayor influencia oceánica (1 y 3) mostraron valores altos en relación con la zona de la boca (6 y 12) durante el muestreo en marea viva. Esta tendencia parece invertirse durante el evento de marea muerta, en donde las concentraciones de la boca son mayores que las de las estaciones oceánicas (Tabla 6).

La concentración de ANHT en términos porcentuales del COD (CACT) fue mayor en las estaciones internas del brazo Este de Bahía San Quintín en ambos eventos de marea. Al igual que la concentración de ANHT, durante mareas vivas se observó una CACT mayor que durante mareas muertas. La CACT fue de 3 a 10 veces mayor en siete de las diez muestras analizadas durante mareas vivas; únicamente en las estaciones 6 y 17 se registró una CACT similar en ambos muestreos aún cuando las concentraciones de DOC son diferentes en ambos eventos (Tabla 6). Al igual que la concentración de ANHT, en la estación 20 la CACT disminuyó notablemente del muestreo en marea viva (38%) al evento en marea muerta (3%).

Tabla 6. Concentración de ANHT y contribución porcentual de las ANHT al contenido total de COD (CACT) en las estaciones muestreadas en Bahía San Quintín durante 2003.

Estación	Marea viva (27-28 Septiembre)				Marea muerta (3 - 4 de Octubre)			
	Aldosas (nM)	Aldosas (nM C)	COD (μ M)	CACT (%)	Aldosas (nM)	Aldosas (nM C)	COD (μ M)	CACT (%)
1	4433	23570	85	27	545	3042	66	4
3	4834	25497	100	25	758	4197	81	5
6	1156	6684	85	8	1526	8106	108	7
12	2323	12304	112	11	812	4493	146	3
16	3913	20188	118	17	2544	13677	143	9
17	5723	29415	172	17	5550	29002	146	19
20	16737	85839	222	38	1405	7934	241	3
21	13299	31554	221	31	5128	28192	304	9
28	5952	30960	171	18	1188	6584	145	5
30	5481	28768	149	19	910	5170	133	4

La concentración de aldosas tiene un comportamiento parecido al de COD durante marea viva, en general hay un enriquecimiento de COD y aldosas desde el océano al interior de la laguna, lo cual es evidenciado por la relación lineal entre estas dos variables (coeficiente de determinación $R^2 = 0.78$). Esta tendencia es menos evidente durante el evento de marea muerta en el cual las dos variables se relacionan pobremente (coeficiente de determinación $R^2 = 0.31$) debido a que la materia orgánica disuelta analizada durante este muestreo este estaba empobrecida en carbohidratos.

6.2.3 Composición de aldosas

6.2.3.1 Marea viva

Las aldosas predominantes durante el muestreo en marea viva fueron la xilosa y la glucosa (Figura 13). Excluyendo la estación 6, en la que se observó una concentración y composición de aldosas muy diferente al resto de las estaciones (Tabla 7), la suma de estas aldosas varió entre 80 y 85% de las ANHT en el transecto de las estaciones 1 a 21. En el interior de Bahía Falsa (estaciones 28 y 30), estas aldosas suman alrededor del 90% de las ANHT (Tabla 7). En todas las estaciones (excluyendo la estación 6) la xilosa se presentó como la aldosa dominante, con un intervalo del porcentaje molar entre 63 y 78%. Durante este muestreo, los desoxiazucares (fucosa y ramnosa) y la galactosa fueron poco abundantes (1 – 2%) en todas las estaciones (excluyendo la estación 6).

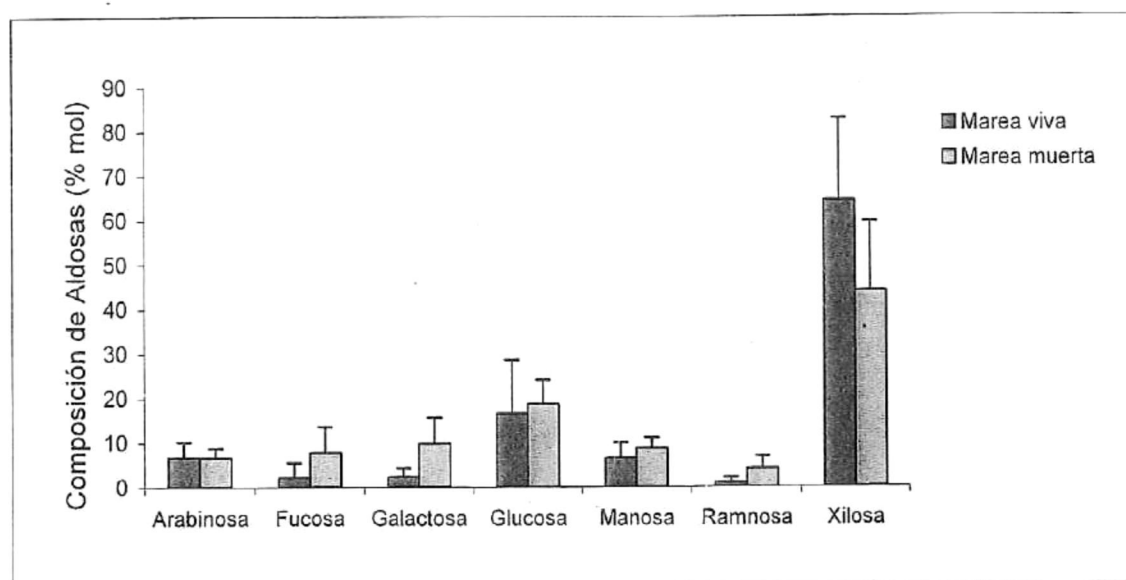


Figura 13. Promedio y D.S. de las ANHT (reportado como porcentaje molar) en agua de 10 estaciones en Bahía San Quintín.

En las estaciones más oceánicas (1 y 3) y la estación 12, la concentración relativa presentó el orden xilosa > glucosa > manosa > arabinosa. La xilosa se mantuvo debajo del 70% y la glucosa entre 14 y 18%, mientras que la manosa representó el 8% y la arabinosa entre 5 y 7%. Dentro del brazo este, en las estaciones 16, 17 y 20 el orden de abundancia relativa fue xilosa > glucosa > arabinosa > manosa. En esta zona la xilosa se enriqueció a más del 70% y la glucosa disminuyó a menos del 10%, mientras que la arabinosa subió a ~ 10% mientras que la manosa decreció a ~ 2%. Si bien estas diferencias sugieren un gradiente espacial claro en la composición de las ANHT, el porcentaje molar de las aldosas en la muestra colectada en el extremo interno del brazo este fue más parecido a las muestras “oceánicas” que las muestras en la zona de mayor cobertura de pastos.

Tabla 7. Porcentaje molar de aldosas y la suma de las concentraciones individuales en las estaciones muestreadas durante marea viva.

Estación	Fuc (%)	Ramn (%)	Arab (%)	Gala (%)	Gluc (%)	Man (%)	Xil (%)	Xil + Gluc (%)	Fuc + Ramn (%)	Sum (nM)
1	1	<1	5	2	18	11	63	81	1	4433
3	1	1	7	2	16	8	66	82	2	4836
6	11	4	8	8	48	7	14	64	15	1156
12	1	1	5	2	18	8	65	83	2	2323
16	3	1	12	2	8	2	72	80	4	3913
17	1	1	12	2	8	1	74	83	2	5723
20	1	1	9	1	7	2	78	85	2	16737
21	2	<1	4	2	14	9	68	83	2	13299
28	<1	2	2	1	11	7	77	89	2	5952
30	1	1	3	1	20	2	72	92	2	5481

Fuc, fucosa; Ramn, ramnosa; Arab, arabinosa; Gala, galactosa; Gluc, glucosa; Man, manosa, Xil, Xilosa.

Las muestras de la zona de mayor influencia de los ostricultivos mostró un incremento notorio en la contribución tanto de la xilosa como de la glucosa, mientras que la arabinosa tuvo una contribución de ~3%.

6.2.3.2 Marea muerta

Al igual que en el muestreo de marea viva las aldosas dominantes durante el muestreo en marea muerta fueron la xilosa y la glucosa, sin embargo se observó un enriquecimiento de deoxiazúcares (fucosa y ramnosa) (Figura 13). Dicho enriquecimiento parece estar relacionado con un porcentaje molar de xilosa + glucosa menor al 70% ya que en las estaciones en donde se presenta un porcentaje menor a este valor la suma de los deoxiazúcares representan más del 10% (Tabla 8). La suma de los porcentajes molares de fucosa y ramnosa alcanzó un máximo en la estación 1 (27% del porcentaje molar) en donde la suma de xilosa + glucosa representó el 53% del porcentaje molar.

De forma general las estaciones con mayor influencia oceánica (con salinidad menor a 33.3) registraron un orden de importancia en el porcentaje molar que va de xilosa > glucosa > fucosa. Las demás aldosas registraron porcentajes molares variables y no fue posible establecer un patrón de importancia (Tabla 8).

De la estación 3 al interior del brazo este de bahía San Quintín se registró un porcentaje molar constante en manosa (entre 9 y 10% molar), con excepción de la estación 20 en donde el porcentaje molar de esta aldosa fue de 7%. Las estaciones con mayor cobertura de pastos marinos se caracterizaron por bajos porcentajes molares de fucosa y ramnosa (~2%) y una composición uniforme en el porcentaje molar de arabinosa (5%), esta tendencia no se registró en la estación 20 en donde el bajo porcentaje molar de xilosa (26%) estuvo acompañado por el enriquecimiento de fucosa y ramnosa (Tabla 8).

Las estaciones de la zona de cultivo de ostiones (28 y 30; Figura 1) mostraron porcentajes molares parecidos a la zona oceánica registrando bajas concentraciones de xilosa (promedio de 32% en la zona) y altos porcentajes molares de fucosa y ramnosa (~12 y 5% respectivamente)

Tabla 8. Porcentaje molar de aldosas y la suma de las concentraciones individuales en las estaciones muestreadas durante marea muerta.

Estación	Fuc (%)	Ramn (%)	Arab (%)	Gala (%)	Gluc (%)	Man (%)	Xil (%)	Xil + Gluc (%)	Fuc + Ramn (%)	Sum (nM)
1	19	8	7	7	19	5	34	53	27	545
3	9	4	6	8	22	10	40	62	13	759
6	3	2	6	4	13	9	62	75	5	1526
12	9	7	10	14	14	9	36	50	16	811
16	2	2	5	7	18	9	57	75	4	2544
17	1	>1	5	3	13	10	66	79	1	5550
20	10	5	9	20	23	7	26	49	15	1405
21	2	1	5	7	29	10	46	75	3	5128
28	10	5	9	12	20	7	37	57	15	1188
30	13	5	5	18	19	14	27	46	18	909

Fuc, fucosa; Ramn, ramnosa; Arab, arabinosa; Gala, galactosa; Gluc, glucosa; Man, manosa, Xil, Xilosa.

7 DISCUSIONES

7.1 La exudación como fuente potencial de acumulación de COD en San Quintín

Recientes estudios han demostrado que Bahía San Quintín es una laguna costera que en balance es una exportadora neta de COD hacia el océano (Aveytua-Alcázar, 2002; Rodríguez-Cardozo, 2004). La concentración de COD tiende a incrementar desde el océano a los brazos internos del sistema, y alcanza su máximo en el brazo de mayor cobertura de pastos marinos (Aveytua-Alcázar, 2002; Rodríguez-Cardozo, 2004), probablemente debido al carácter refractario de la materia orgánica disuelta generada y el alto tiempo de residencia en ese sitio (Aveytua-Alcázar, 2002). Ziegler y Benner (1999) observaron que en Laguna Madre (Texas), un sistema dominado por la presencia de *Z. marina*, la liberación de COD desde el bentos ocurre principalmente durante las horas de luz, casi exclusivamente en sedimentos cubiertos por pastos y que dicha liberación está directamente relacionada con la producción primaria neta del bentos. Estas observaciones indican que la liberación de COD desde el bentos en Laguna Madre se debe principalmente al proceso de exudación, aunque la lixiviación del detritus de pastos puede ser de magnitud equivalente (Ziegler y Benner, 1999). Para evaluar la relevancia potencial del proceso de exudación foliar en la acumulación de COD en el brazo este de Bahía San Quintín, se extrapolaron los datos obtenidos en los ensayos de laboratorio a escala de todo el brazo.

Las tasas de exudación calculadas en el presente trabajo pueden ser extrapoladas a nivel de pradera (producción de COD por metro cuadrado) conociendo la biomasa promedio. Cabello-Pasini *et al.* (2003) reportaron que, bajo condiciones de fotosíntesis máxima, un gramo de peso húmedo de

material recolectado en Bahía San Quintín produce aproximadamente $0.6 \mu\text{mol O}_2 \text{ min}^{-1}$. Ya que la relación entre la evolución de O_2 y la fijación de CO_2 durante la fotosíntesis en los pastos es aproximadamente 1 a 1 (Roberts y Moriarty, 1987), la tasa fotosintética por hora expresada en términos de la fijación de CO_2 sería de $36 \mu\text{mol de C g PH}^{-1} \text{ h}^{-1}$. La tasa de exudación esperada por gramo de material foliar sería de $3.6 \mu\text{mol C g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, considerando que la tasa de exudación equivaliera al 10% de la fotosíntesis neta (Ziegler y Benner, 1999). La biomasa promedio en las praderas de la zona este de Bahía San Quintín es aproximadamente 500 g peso húmedo de material foliar por m^2 ($\sim 250 \text{ g}$ peso seco, Cabello-Pasini *et al.*, 2003), lo que equivale a una biomasa de 250 g PH m^{-2} para todo el brazo este, considerando que los pastos cubren un 50% de dicho brazo (Ward *et al.*, 2003). Con los datos anteriores se calculó una tasa de exudación de COD para esta zona de $\sim 9 \text{ mmol C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. Este valor oscilaría entre aproximadamente 1 y $15 \text{ mmol C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ considerando el amplio intervalo de valores reportados para el porcentaje de exudación de pastos que varían desde el 1% hasta el 17% del carbono fijado durante la fotosíntesis (Penhale y Smith, 1977; Wetzel y Penhale, 1979; Moriarty *et al.*, 1986; Bertilsson y Jones, 2003).

Las estimaciones de exudación reportadas en la literatura presentan un amplio intervalo, tal vez porque han sido obtenidas utilizando diferentes métodos y segmentos de los haces. Las estimaciones de exudación específicamente para hojas de *Z. marina* son muy escasas, reportándose que esta puede representar entre 1.2 y 4.9% de la producción primaria neta (Penhale y Smith, 1977; Wetzel y Penhale, 1979). Con las tasas de exudación obtenidas con los ensayos (Tabla 4) y considerando la tasa fotosintética para *Z. marina* de $36 \mu\text{mol C g}^{-1} \text{ PH h}^{-1}$, en el presente estudio se calcularon porcentajes de exudación foliar con un intervalo entre 1 y 11% de la producción neta (Tabla 9), lo cual es consistente con los porcentajes de exudación reportados en la literatura antes citada. Las tasas de exudación calculadas con los ensayos

enriquecidos con 16 y 36 μM produjeron tasas de exudación extrapoladas a nivel del brazo este de Bahía San Quintín en el intervalo de los flujos no conservativos de COD calculados por Aveytua-Alcázar (2002) y por Rodríguez-Cardozo (2004) para el mismo brazo (Tabla 9).

Si bien las tasas calculadas pueden sugerir que la exudación por las hojas de *Z. marina* por si sola puede explicar la acumulación de COD en el brazo este de Bahía San Quintín, es importante resaltar que dichas tasas de exudación se obtuvieron en laboratorio bajo concentraciones de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) que no son típicas de la columna de agua de dicha región en la laguna (las concentraciones de NID en esta región típicamente son $< 5 \mu\text{M}$; Camacho-Ibar, datos no publicados). Rodríguez-Cardozo (2004) señaló que el sistema es alimentado con nitrógeno inorgánico nuevo (NO_3) desde el océano particularmente en épocas de surgencias intensas. Dicho nitrógeno es consumido intensamente por productores primarios en la región de la boca, lo cual genera una escasez de especies nitrogenadas (particularmente NO_3) en el brazo este de la bahía. Los resultados en el presente estudio (Tabla 4, Tabla 9) indican que la exudación foliar de COD incrementa con el incremento en la concentración de NID, lo cual sugiere a su vez que, por lo menos en los ensayos sin adición y con adición de 16 μM de NID, la fotosíntesis estuvo limitada por la disponibilidad de nitrógeno. Esta observación es acorde con lo reportado en la literatura, donde la fotosíntesis de las macrofitas suele aumentar bajo condiciones de enriquecimiento de NID, debido tal vez a que los pigmentos fotosintéticos que contienen nitrógeno incrementan al enriquecer el medio (Valiela *et al.*, 1990). Por otro lado, sin embargo, es difícil determinar si la producción primaria (y por tanto la exudación) de los pastos, es limitada por la escasez de NID en la columna de agua en Bahía San Quintín ya que las hojas de estas macrofitas obtienen NID no solo de la columna de agua sino también desde los sedimentos vía las raíces. Pedersen y Borum (1993) demostraron que la captación de nitrógeno por pastos es sustentada en un 73% por el medio

externo (49% por la columna de agua y 51% desde los sedimentos) y el 23% restante es reciclado internamente. Por esta razón, a pesar de las bajas concentraciones de NID en la columna de agua, la mayor producción primaria de pastos suele ocurrir en verano, cuando la disponibilidad de nutrientes es escasa y otros autótrofos (fitoplancton y algas efímeras) sufren de una limitación severa de nutrientes (Sandjensen y Borum, 1991).

Tabla 9. Tasa de exudación foliar de COD calculada a partir de un valor de fotosíntesis de $0.6 \mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ P.H. min}^{-1}$ (Cabello *et al.*, 2003) suponiendo que se exuda 10% del C fijado, y tasas de exudación calculadas a partir de tres ensayos: sin adición de nutrientes (S), adicionando $16 \mu\text{M NaNO}_3$ (16) y adicionando $36 \mu\text{M de NaNO}_3$ (36). Se incluyen los flujos no conservativos de COD reportados para esta zona.

Tratamiento	Tasa de exudación [mmol C m ⁻² d ⁻¹]	% fotosíntesis neta	Flujos del brazo este (caja A) [mmol C m ⁻² d ⁻¹]	
			(Aveytua- Alcázar, 2002)	(Rodríguez- Cardozo, 2004)
Calculada	9	10	4-14	8-16
S	0.9	1		
16	5.4	5.5		
36	9.8	11		

Los resultados en este trabajo sugieren que la exudación de COD durante la fotosíntesis activa no es un proceso que suministre un enriquecimiento significativo a la elevada concentración observada en la zona este de Bahía San Quintín debido a que el nitrógeno en columna de agua limita este proceso, pero no se descarta la posibilidad de que la exudación por los rizomas pueda ser significativa ni que el transporte acropetal (de las raíces a los

haces) de nutrientes actúe de la misma forma que el NID en la columna de agua.

Es importante mencionar que los valores de exudación foliar aquí calculados presentan algunas limitaciones que pueden producir subestimación o sobrestimación de las tasas de exudación reales. En la Tabla 10 se presentan algunos de los factores que pueden conducir a tal sobrestimación o subestimación. Las tasas de exudación fueron probablemente subestimadas por la selección y el tratamiento del material foliar para realizar los ensayos. Mientras que en este estudio las hojas se acondicionaron siempre cubiertas por agua, la literatura señala que el COD liberado puede aumentar después de periodos de desecación (Ogata y Matsui, 1965; Mazzella y Alberte, 1986). Otro factor que podría haber limitado la exudación de COD es la utilización de hojas jóvenes en los ensayos, ya que se ha comprobado que la liberación de COD es mayor en incubaciones con material envejecido (Mazzella y Alberte, 1986). En las praderas de pastos marinos se encuentra coexistiendo material de distinta edad y con distinto potencial de exudación (Peduzzi y Herndl, 1991). El agua utilizada como medio de cultivo fue filtrada y esterilizada pero no fue tratada con ningún bactericida, por lo tanto las tasas pueden haber sido subestimadas debido al consumo de la MOD por las bacterias presentes en el medio de cultivo y asociadas a las hojas.

Tabla 10. Puntos probables de sobrestimación y subestimación en los ensayos de exudación foliar

VARIABLE	SOBRESTIMACIÓN	SUBESTIMACIÓN
Duración del ensayo (90 min)		Uso de 90 min para cálculo de razón de exudación cuando aparentemente las pendientes serían mayores si se hubieran colectado datos en tiempos menores
Iluminación (300 $\mu\text{mol quanta cm}^{-2}$)	Esta representa la irradiancia máxima que solo se presenta durante primavera (Cabello-Pasini <i>et al.</i> , 2003).	
Concentraciones de nutrientes a $t = 0$	Aún en el experimento sin adición, la concentración inicial de NID fue de 10 μM , valor mayor que las concentraciones naturales reportadas por Rodríguez-Cardozo (2004)	
Uso de hojas jóvenes		Se ha observado que la acumulación de COD aumenta en ensayos en que se utilizan hojas viejas, en las cuales la lixiviación combinada con la exudación puede ser importante.
Uso solo de hojas para estimación de exudación		El proceso de exudación no es particular de las hojas. Tanto rizomas como raíces pueden exudar COD.
Estimación de exudación "neta"		No se usó un bactericida por lo que una porción del COD exudado pudo ser consumido por las bacterias en los ensayos
Conversión peso-seco peso-húmedo para estimación de biomasa por unidad de área		Se supuso que las hojas contienen 53% de agua, cuando se ha reportado hasta 80% (Touchette y Burkholder, 2002)
Extrapolación de minutos a día (multiplicación por 10 h de luz)	Incluye la suposición de que los pastos en BSQ están expuestos durante 10 h a una iluminación de 300 $\mu\text{mol quanta cm}^{-2}$ cuando en realidad las horas de saturación de fotosíntesis (H_{sat}) en BSQ presentan una marcada estacionalidad llegando a ser hasta 4 h en otoño-invierno (Cabello-Pasini <i>et al.</i> , 2003).	

7.2 Utilización de aldosas en los ensayos como indicadores de fuentes de MOD

Los experimentos con material foliar de *Z. marina* realizados en el presente trabajo muestran un incremento en la concentración de COD, así como en la concentración de ANHT, como producto de la fotosíntesis. De hecho, la razón de incremento de las ANHT es mayor que la del COD total, lo cual se refleja en un incremento del CACT de $0.81\% \pm 0.41$ en el medio de cultivo antes de iniciar el experimento a $2.47\% \pm 0.58$ después de 360 min (Figura 14). Si bien el incremento en el CACT sugiere que el carbono exudado está enriquecido en carbohidratos que contienen aldosas, al comparar estos resultados con experimentos de exudación de fitoplancton los valores obtenidos en este trabajo parecen bajos. Biersmith y Benner (1998) reportaron que la MOD en cultivos realizados con *S. bacillaris* presentó un CACT de 41%, mientras que un cultivo con *Phaeocystis* presentó un CACT de 29%. Estos datos indican que un alto porcentaje del material exudado por el fitoplancton está constituido por carbohidratos que contienen aldosas. En el caso de los pastos marinos, desafortunadamente no existe literatura en la que se reporte la composición detallada de los exudados vía foliar. Se ha sugerido que dichos exudados pueden contener componentes como el glicolato, el cual ha sido reportado como producto de la fotorespiración en, por lo menos, dos especies de pastos marinos (*T. hemprichii* y *H. ovalis*; Fogg, 1976). De acuerdo con Wood y Hayasaka (1981) también pueden contener una proporción alta de aminoácidos, cuya liberación hacia la columna de agua y al agua intersticial fue reportada para *P. oceanica* y *C. Nodosa* (Jørgensen *et al.*, 1981).

El hecho de que el CACT en las muestras de agua de la bahía fuera ~20% durante mareas vivas y ~7% durante mareas muertas, mientras que en los ensayos sea < 3%, puede sugerir que la exudación foliar no contribuye de manera significativa al carbono total disuelto en Bahía San Quintín. De hecho, si

bien la materia orgánica disuelta exudada no presentó un patrón constante de aldosas entre los diferentes ensayos (i.e., no se determinó con los ensayos una “huella digital” clara de la composición del exudado foliar), al final de todos los ensayos estuvieron ausentes la ramnosa, la arabinosa y la galactosa. En contraste, estas aldosas estuvieron presentes en las muestras de la laguna, si bien como componentes menores de las ANHT durante mareas vivas (5-17%) y su presencia fue mayor en mareas muertas (8-40%).

Con la información con que se cuenta es difícil explicar por qué no se encontró un patrón regular en la composición de aldosas en la MOD exudada en las distintas réplicas. Si bien cada réplica se realizó en diferentes días dentro de un periodo de una semana, siempre se seleccionaron hojas jóvenes para las incubaciones (ver metodología) y el agua para su acondicionamiento se reemplazó continuamente y provino de la misma fuente (se espera que su composición haya sido relativamente constante). Burke et al. (1996) indicaron que la composición de la MO originada por plantas vasculares, en particular los carbohidratos no estructurales, podría ser afectada por condiciones limitantes de luz. Dado que el acondicionamiento de los haces de *Z. marina*, previo a los ensayos, se llevó a cabo en la intemperie, este factor no puede ser descartado como fuente de variación en la composición de los exudados entre réplicas.

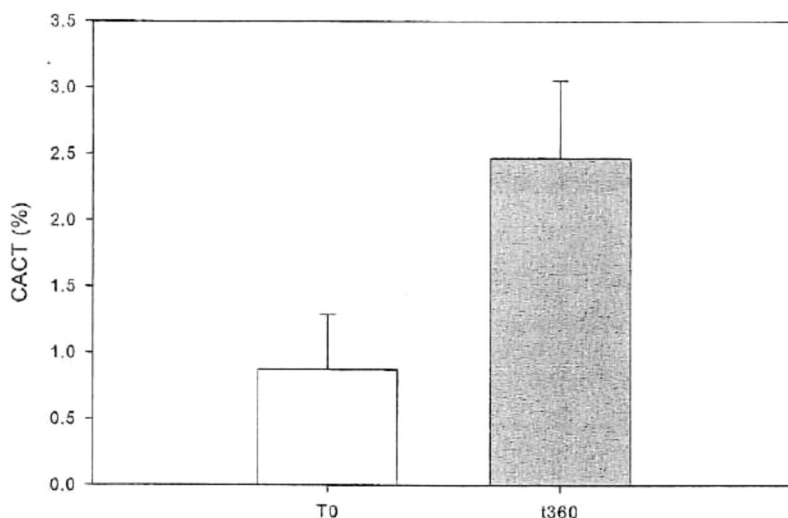


Figura 14. Promedio y D.S. de la contribución de aldosas al carbono orgánico total (CACT) en 4 réplicas de un ensayo realizado con material foliar de *Z. marina*.

Si bien con los experimentos de exudación realizados en este trabajo no se puede concluir que el material exudado por *Zostera marina* sea el causante de la alta concentración de COD registrada en Bahía San Quintín, el incremento en el CACT (Fig. 14) sugiere que los pastos exudan carbohidratos con características potencialmente lábiles. La liberación de MOD durante la fotosíntesis en macrofitas es un proceso que no ha sido del todo entendido, sin embargo, trabajos como el de Ziegler y Benner (1999) sugieren que este proceso puede ser responsable de sustentar la cadena trófica basada en bacterias en Laguna Madre y que por lo tanto el material exudado es de características lábiles. Chin-Leo y Benner (1991) mostraron que la mayor producción bacteriana estaba relacionada con el momento del día de mayor incidencia solar, sugiriendo con esto que algún proceso relacionado con la fotosíntesis activa (ej. la exudación de COD) podría ser el causante de tal incremento en la actividad bacteriana.

7.3 Distribuciones espaciales y variaciones entre muestreos de COD y ANHT

En contraste con el mar abierto, la concentración de COD en los estuarios suele ser particularmente alta debido principalmente a los aportes de material orgánico disuelto vía los ríos, a los que se suman los aportes autóctonos originados por la alta producción primaria (Kirchman y Borch, 2003). Si bien Bahía San Quintín tiene escasos aportes terrestres vía los arroyos, la concentración de COD en su interior suele ser tan alta como en varios sistemas estuarinos (ver comparaciones con otros sitios en Aveytua-Alcázar, 2002). Esto indica que la producción primaria autóctona de manera directa (ej. vía la liberación de COD mediante procesos como la exudación) o de manera indirecta (ej. vía la lixiviación del detritus vegetal) produce material orgánico disuelto a una razón mayor que la dilución causada por la mezcla con el mar adyacente.

En este estudio la concentración de COD presentó un comportamiento similar a lo anteriormente reportado para este sitio (Aveytua-Alcázar, 2002; Rodríguez-Cardozo, 2004). El COD muestra una relación lineal con la salinidad (Figura 12) y concentraciones que aumentan de la boca (con valores tan bajos como 66 μM) hacia el interior de ambos brazos, observándose los valores máximos (hasta 304 μM) hacia el interior del brazo este de la laguna. La salinidad más alta (36.5) que es registrada en el brazo este es indicadora de un alto tiempo de residencia del agua, lo cual, combinado con los aportes asociados a una mayor cobertura de pastos marinos y de vegetación de marisma (Ward *et al.*, 2003) permite la acumulación del COD. En la zona de cultivo de ostiones (Bahía Falsa) las concentraciones de COD y las salinidades promedio son más bajas que en el brazo este (Tabla 11), lo que indica que su proximidad con el océano permite una mezcla más eficiente con aguas del exterior de la bahía.

La comparación entre las áreas al interior de Bahía San Quintín, de los valores promedio de las concentraciones de COD, parece sugerir que ocurrió un ligero enriquecimiento en la región Boca y la región BSQ al transitar de las mareas vivas hacia las mareas muertas (Tabla 11). Los valores altos de salinidad y COD observados en el extremo interno de BSQ, que corresponden a las estaciones 20 y 21 (Figura 12), sesgaron hacia arriba el valor promedio para este brazo y reflejan que durante las mareas muertas la “alberca” formada en el extremo interno de esta sección de la laguna (Figura 1) presenta un tiempo de residencia mayor que durante mareas vivas. Sin embargo, dada la dispersión de los datos de COD en cada sección de la bahía, las diferencias entre los dos muestreos para las medias COD no fueron estadísticamente significativas (se realizaron pruebas de Mann-Whitney y de Kolmogorov-Smirnov, ambas con el programa XLSTAT 7.5 con una $\alpha = 0.05$).

Tabla 11. Promedio (\pm DS) de la salinidad y concentración de COD en las zonas muestreadas durante este estudio.

Zona	Estaciones	Salinidad		COD (μ M)	
		Marea Viva	Marea muerta	Marea viva	Marea muerta
Océano	1, 3	33.3 \pm 0.01	33.3 \pm 0.04	92 \pm 10	73 \pm 11
Boca	6, 12	33.4 \pm 0.1	33.8 \pm 0.2	96 \pm 14	134 \pm 22
BSQ	16, 17, 20, 21	34.6 \pm 0.6	34.9 \pm 0.9	183 \pm 49	208 \pm 78
Bahía Falsa	28, 30	33.8 \pm 0.2	33.8 \pm 0.1	148 \pm 23	129 \pm 19

Como en el caso del COD, las ANHT mostraron en este estudio una tendencia general (pero más irregular que el COD) a aumentar hacia los extremos internos de la laguna (Tabla 6). Sin embargo, en contraste con el COD, las concentraciones de ANHT fueron notablemente mayores durante

mareas vivas que durante mareas muertas, particularmente en los extremos internos de la laguna (estaciones 20 y 21 en BSQ; estaciones 28 y 30 en Bahía Falsa) así como en la región oceánica (estaciones 1 y 3). En la región oceánica, los valores de ANHT disminuyeron por un factor de ~ 7 , desde valores de $\sim 4,500$ nM en mareas vivas a valores de ~ 650 nM en mareas muertas. En la estación 20 que mostró el valor máximo de la concentración de ANHT en este estudio (16,737 nM en mareas vivas) también se observó el cambio temporal más notorio ya que en mareas muertas presentó una concentración de 1,405 nM. En la zona de los ostricultivos, el cambio en la concentración de ANHT fue por un factor de ~ 5 (Tabla 6). En todos los casos, las diferencias de concentración entre mareas vivas y muertas fueron significativas (pruebas de Mann-Whitney y Kolmogorov-Smirnov; $\alpha = 0.05$).

Las comparaciones que se pueden hacer entre los valores observados de ANHT en este estudio y en otros ecosistemas costeros someros parecidos a San Quintín son limitadas. Actualmente son escasos los estudios en los que se reportan concentraciones de ANHT para sistemas marinos en general, y para sistemas costeros someros (estuarios, lagunas costeras, etc.) en particular. En general, existen más estudios en los que se reportan los carbohidratos totales y/o monosacáridos totales (Pakulski y Benner, 1994; Gómez-Moreno *et al.*, 1997; Bhosle *et al.*, 1998; Børshøj *et al.*, 1999; Nieto-Cid *et al.*, 2004), ya que el método colorimétrico para su determinación (ej. ver método de MBTH reportado por Pakulski y Benner, 1994) es comparativamente más sencillo que el método para determinar aldosas individuales (ver método por IC-PAD en Skoog y Benner, 1997; y método por HPLC-PAD en Kirchman y Borch, 2003). Si bien las aldosas pueden constituir una fracción importante de los carbohidratos disueltos totales en agua de mar, existen otras clases de carbohidratos como los ácidos urónicos (Mopper *et al.*, 1995) y los aminoazúcares (Kerhervé *et al.*, 1995) que hacen que la contribución de los ANHT al reservorio de carbohidratos totales sea variable en diferentes

ambientes. Por lo anterior, si bien en algunos casos las concentraciones de ANHT en este estudio son comparadas con las concentraciones de carbohidratos totales en otros sitios, estas comparaciones se deben interpretar con precaución.

Las concentraciones de ANHT medidas dentro de Bahía San Quintín durante el periodo de mareas muertas (8-29 $\mu\text{M-C}$), son similares a las concentraciones de azúcares totales medidas dentro de la Ría de Vigo (Nieto-Cid *et al.*, 2004), único sistema estuarino influenciado por surgencias para el cual se encontraron datos de carbohidratos publicados en la literatura. Otros sistemas estuarinos como el Delaware (E.U.A.) (Kirchman y Borch, 2003), para el que se reportaron ANHT, el Trondheimsfjord (Noruega) (Børsheim *et al.*, 1999) para el que se reportaron carbohidratos totales y estuarios del Mar Artico para los que se reportaron ANHT en materia orgánica disuelta ultrafiltrada (>1 kD) (Amon y Benner, 2003), presentaron intervalos de concentración similares al de Bahía San Quintín durante mareas muertas (Tabla 12). De manera similar, la concentración de ANHT de $\sim 3 \mu\text{M-C}$ en las muestras oceánicas en Bahía San Quintín durante mareas muertas es cercana a la de sistemas oceánicos como el Pacífico Ecuatorial (Skoog y Benner, 1997), el Mar Báltico (Mopper *et al.*, 1980) y el Mar Artico (Amon y Benner, 2003) (Tabla 12).

En contraste con las concentraciones durante marea muerta, las ANHT en marea viva presentan valores mayores, tanto en el interior de la laguna (20-86 $\mu\text{M-C}$) como en el mar adyacente ($\sim 24 \mu\text{M-C}$), que la mayoría de los sistemas análogos (Tabla 12). El único sitio para el que se reportan concentraciones de carbohidratos disueltos tan altos como en el interior de Bahía San Quintín es en la Bahía Galveston (23.6-96.7 $\mu\text{M-C}$., Hung *et al.*, 2001).

La diferencia notoria en las concentraciones de ANHT entre mareas vivas y mareas muertas, así como otros indicadores que se discuten posteriormente (ej. los valores de CACT y el porcentaje molar de la xilosa), sugiere que el enriquecimiento durante mareas vivas se debe a los aportes de carbohidratos desde las partes altas de la región intermareal de la laguna. La mayoría de los sistemas estuarinos contra los que se compara este estudio (Tabla 12) son relativamente grandes y profundos, por lo que los principales productores primarios (i.e fuentes de carbohidratos recientes) son el fitoplancton. En el caso de Bahía San Quintín, el "lavado" de las marismas en partes altas de la laguna puede causar un incremento en las concentraciones de ANHT ya que en dichas zonas se pueden acumular grandes cantidades de detritus en descomposición que liberan carbohidratos en cantidades importantes como se ha observado en marismas con *Spartina alterniflora* (ej., Pakulski, 1986, reportó una pérdida de 14-54 $\mu\text{g C g}^{-1}$ de peso seco h^{-1}) o aún en planicies lodosas donde los sedimentos superficiales pueden contener entre 100 y 300 μg de carbohidratos por cada gramo de sedimento superficial (Brouwer *et al.*, 2003). De manera complementaria al lavado de las marismas, la mezcla promovida por corrientes de mareas más intensas pueden incrementar los flujos de materiales disueltos desde los sedimentos sumergidos, los cuales suelen ser ricos en COD y ANHT (ej. Arnosti y Holmer, 1999 reportaron 2000 $\mu\text{M C}$ y 1000 $\mu\text{M C}$ de COD y carbohidratos disueltos totales respectivamente, en sedimentos de un ambiente dominado por plantas vasculares y algas).

Tabla 12. Concentración de azúcares neutras hidrolizables totales (ANHT) y contribución de aldosas al carbono orgánico total en diferentes sitios.

Sitio	ANHT μM C (μM)		CACT (%)	Autores
	Min.	Máx.		
Delaware River (Philadelphia, PA)	n. r.	n. r.	15	(Repeta <i>et al.</i> , 2002)
West Neck Bay (Long Island, NY)	n. r.	n. r.	38	(Repeta <i>et al.</i> , 2002)
Trepagnier Bayou (New Orleans, LA)	n. r.	n. r.	38 ^a	(Engelhaupt y Bianchi, 2001)
Ría de Vigo (España)	5 ^a	25 ^a	7-25	(Nieto-Cid <i>et al.</i> , 2004)
Estuario Delaware (Delaware)	10 (2)	19 (3)	4-12	(Kirchman y Borch, 2003)
Trondheimsfjord (Noruega)	11 ^a	33 ^a	19-21	(Børsheim <i>et al.</i> , 1999)
Pacífico Ecuatorial	1 (0.2)	2 (0.4)	6-10	(Skoog y Benner, 1997)
Mar Báltico	2 (0.3)	6 (1)	n. r.	(Mopper <i>et al.</i> , 1980)
Ártico	0.4 ^p (0.07)	2 ^b (0.4)	2-9.6	(Amon y Benner, 2003)
Ártico (estuario)	5 ^p (0.9)	11 ^b (2)	1.7-3.5	(Amon y Benner, 2003)
Bahía San Quintín (zona oceánica) Marea viva	23 (4)	25 (5)	25.5-27	Este estudio
Bahía San Quintín (zona oceánica) Marea muerta	3 (0.5)	4 (0.7)	4.6-5	Este estudio
Bahía San Quintín (interior de la Bahía) Marea viva	20 (4)	86 (17)	17-38	Este estudio
Bahía San Quintín (interior de la Bahía) Marea muerta	8 (1)	29 (5)	3-20	Este estudio

n. r., no reportado.

^a carbohidratos totales

^b MOD ultra filtrada

7.4 Aldosas como indicadores del estado diagenético de la MOD

La fracción de carbohidratos que contiene la materia orgánica disuelta (CACT) ha sido usada como un indicador del grado de "frescura" o de la labilidad de la materia orgánica disuelta (Skoog y Benner, 1997; Amon *et al.*, 2001; Amon y Benner, 2003; Amon y Meon, 2004). La MOD producida en cultivos de fitoplancton de importancia global muestra un CACT de 20-40% y presenta frecuentemente una composición y abundancia de aldosas variable (Biersmith y Benner, 1998; Aluwihare y Repeta, 1999). Por otro lado, los perfiles verticales del CACT en aguas oceánicas y de plataforma suelen mostrar una tendencia a decrecer desde la superficie hacia el fondo, con los cambios más intensos observados en los primeros metros de la superficie (Skoog y Benner, 1997; Børsheim *et al.*, 1999; Amon y Benner, 2003; Engbrodt y Kattner, 2005). Estos perfiles reflejan el hecho que la zona eufótica es una zona de producción neta de MOD fresca por la actividad fotosintética, mientras que con la profundidad aumenta el estado de degradación de dicha MOD (Amon y Benner, 2003). Amon y Benner (2003) reportaron el uso de la CACT como un indicador cuantitativo de la cantidad de MOD lábil en el Océano Ártico ya que la fuerte relación entre las azúcares neutras y el estado diagenético de la MOD fue bien representada por el CACT.

Los valores de CACT encontrados para Bahía San Quintín durante mareas vivas, tanto en la zona oceánica como en el interior de la laguna (17 – 38%), están en el intervalo de los valores altos reportados tanto para ecosistemas costeros como oceánicos. Es común que en sitios donde hay aportes de materia orgánica fresca el COD esté constituido por una fracción de carbohidratos mayor al 15% (y no es raro encontrar valores mayores al 25%) como se ha reportado tanto para sistemas estuarinos (ej. el Trondheimsfjord y la Ría de Vigo) como para aguas superficiales de mar abierto donde valores tan

altos de CACT como 46% han sido observados en el Pacífico Ecuatorial (Pakulski y Benner, 1994; Tabla 12).

Los valores relativamente bajos de CACT encontrados durante mareas muertas en el interior y en la zona oceánica en Bahía San Quintín (3-9% en todas las muestras excepto una; Tabla 6), son mayores que los reportados para estuarios con una fracción muy baja de carbohidratos en el reservorio de COD total. Kirchman y Borch (2003) reportaron para el Estuario Delaware valores de CACT en su mayoría entre 2 y 4% y concluyen que la MOD en el Estuario Delaware es degradada intensamente antes de ser exportada al mar adyacente. Una observación similar es reportada para los estuarios de los ríos Ob y Yenesei, sitios para los cuales el CACT osciló entre 1.7 y 3.5%, valores menores que los medidos en el mar adyacente al que drenan en el Océano Ártico (Amon y Benner, 2003). Amon y Benner (2003) concluyen que el bajo valor promedio del CACT (< 6%) en aguas del Océano Ártico indican que el enlace microbiano ("microbial-loop") en esta región es menos activo que en aguas superficiales en otras regiones como el Mar de Ross, el Océano Pacífico y el Océano Atlántico.

La magnitud de los cambios en el CACT, y en el contenido de ANHT en general, entre muestreos en este estudio se puede explicar en términos del consumo bacteriano de carbohidratos lábiles. Se ha demostrado que las bacterias pueden modificar de manera importante la composición de la materia orgánica disuelta en periodos relativamente cortos (i.e. pocos días). Por ejemplo, Amon et al. (2001) mostraron que en una semana las bacterias degradaron alrededor del 80% de las ANHT en muestras de agua de mar en las que el CACT disminuyó de 14 a 4%. Por lo tanto, es probable que durante mareas vivas exista un lavado de los sedimentos en las partes altas de las marismas en Bahía San Quintín y/o una adición desde los sedimentos sumergidos, donde no solo pueden presentarse altas cantidades de

carbohidratos, sino además dichos carbohidratos constituyen un alto porcentaje de la materia orgánica fresca. De hecho, se ha reportado que el agua intersticial en zonas de pastos marinos los carbohidratos disueltos llegan a representar hasta ~ 80% del COD en las capas superficiales de sedimento (Arnosti y Holmer, 1999) y esta proporción disminuye rápidamente después de pocos (5-10 cm) centímetros de profundidad en el sedimento (Arnosti y Holmer, 1999; Burdige *et al.*, 2000).

Si bien el CACT, que ha sido reportado como un robusto indicador del estado diagenético de la MOD (Cowie y Hedges, 1994; Benner, 2002; Amon y Benner, 2003; Benner, 2003), sugiere que la MOD en Bahía San Quintín era más lábil durante mareas vivas, la composición de las aldosas también ayuda a sostener esta hipótesis. Específicamente, se ha sugerido que un incremento en el porcentaje molar de las desoxiazucars (ramnosa y fucosa) es evidencia de un incremento en el estado diagenético de la MOD. Durante la diagenesis temprana de la MOD, la acción bacteriana suele alterar su composición (Aluwihare *et al.*, 1997; Aluwihare y Repeta, 1999; Amon y Benner, 2003) ya que algunas biomoléculas son preferentemente degradadas, mientras que otras son selectivamente preservadas (Benner, 2003). Se ha sugerido que el incremento en el porcentaje molar de desoxiazucars refleja la magnitud de la acción bacteriana sobre la MOP o de la MOD (Cowie y Hedges, 1984a; Hamilton y Hedges, 1988; Hedges *et al.*, 1994) debido a que estas aldosas son sintetizadas por bacterias como polisacáridos de reserva (Amon y Benner, 2003). La ruta biosintética de la ramnosa por *Escherichia coli* ha sido descrita por Liu y Thorson (1994).

Experimentos de degradación de la MOD rica en glucosa, derivada de cultivos de fitoplancton, muestran que esta aldosa declina su porcentaje molar mientras que la fucosa y la ramnosa lo incrementan (Aluwihare *et al.*, 1997; Aluwihare y Repeta, 1999; Meon y Kirchman, 2001). De manera similar, durante

un experimento de descomposición de MOD los desoxiazucars aumentaron de ~2% a ~10% del porcentaje molar de aldosas después de 9 días de experimento (D'Souza y Bhosle, 2001). D'Souza y Bhosle (2001) señalaron el incremento en el % molar de desoxiazucars (de 5.6% a 23.3%) y el consumo aparente de glucosa (81 a 26 % molar) al comparar la MOP durante un evento de florecimiento fitoplanctónico y siete días después en la Bahía Dona Paula (Oste de la India), los autores señalaron que la relación inversa entre glucosa y desoxiazucars puede deberse a los desoxiazucars son más estables durante la degradación de la MO o a la presencia bacterias.

En el presente trabajo, fue notorio el incremento en el porcentaje molar de la fucosa y la ramnosa durante las mareas muertas (Tabla 8). A nivel de toda la laguna, la media geométrica de la fucosa + ramnosa subió de 2% en mareas vivas a 9% en mareas muertas. Sin embargo, el incremento fue particularmente notorio en la zona oceánica (estaciones 1 y 3), donde fucosa + ramnosa incrementó de ~ 2% a ~20%, y en la zona de cultivos de ostión (estaciones 28 y 30) donde el cambio fue de ~ 2% a ~16%. De hecho, en estas estaciones no solo incrementó el porcentaje molar, sino contrario a la tendencia de la mayoría de las aldosas, la suma de estas desoxiazucars incrementó su concentración (estación 1 de 43 a 149 nM; estación 3 de 72 a 103 nM; estación 28 de 93 a 183 nM y en la estación 30 de 83 a 167 nM). Esto sugiere que en estas estaciones la actividad bacteriana fue particularmente intensa.

7.5 Dominancia de la xilosa en la composición de aldosas

Uno de los rasgos más notables de la composición de las ANHT en las muestras de Bahía San Quintín es la dominancia de la xilosa con relación a las demás aldosas, incluyendo la glucosa (Figura 15). La mayoría de los estudios sobre la composición de ANHT disueltas tanto en ambientes oceánicos como estuarinos reportan una composición y abundancia de aldosas relativamente uniforme (Aluwihare *et al.*, 1997; Repeta *et al.*, 2002; Amon y Benner, 2003; Maie *et al.* 2005). Sin embargo, cabe hacer notar que los estudios que reportan esta uniformidad, en su mayoría se refieren a la composición de azúcares en materia orgánica disuelta de alto peso molecular que fue aislada mediante ultrafiltración (Skoog y Benner, 1997; Amon y Benner, 2003). Además, la mayoría de los citados artículos se refieren a ecosistemas donde el fitoplancton es el productor primario dominante y tal vez eso contribuya a explicar la aparente homogeneidad en la composición de aldosas (Benner y Opsahl, 2001; Hama y Yanagi, 2001; Amon y Benner, 2003). Sin embargo, en los casos en los que se ha estudiado la composición de ANHT en agua de mar con aportes de MOD fresca (aguas oceánicas superficiales), se suele reportar una ligera dominancia de la glucosa sobre el resto de las aldosas (Ittekkot, 1988; Benner y Opsahl, 2001; Hama y Yanagi, 2001), aunque en cultivos fitoplanctónicos la aldosa dominante varía entre especies y con el estado fisiológico de las células cultivadas (Aluwihare *et al.*, 1997; Amon y Benner, 2003).

En el caso de Bahía San Quintín, la dominancia tan notoria de la xilosa sugiere que existen fuentes de carbohidratos en las que esta aldosa es dominante. El polisacárido que contiene una proporción notoriamente dominante de xilosa es el xilan, polisacárido estructural que se ha reportado está presente en algunas macroalgas (Graham y Wilcox, 2000), vegetación de marisma como *Spartina* sp. (Haddad, 1989), pastos marinos (Hamilton y Hedges, 1988) e incluso algunas especies de fitoplancton (diatomeas y primnesofitas, Biersmith y Benner, 1998).

Desafortunadamente son muy pocos los estudios que reportan la composición de aldosas disueltas en la columna de agua en ecosistemas costeros someros, donde productores primarios como los pastos, las macroalgas y la vegetación de marisma sean dominantes. Un estudio reciente realizado en la zona de los Everglades en Florida (Maie *et al.*, 2005), reporta un porcentaje molar de xilosa y galactosa mayor que el de la glucosa ($xil / gluc = 1.2$ y $gal / gluc = 1.1$), lo que sugieren los autores es resultado del alto contenido de xilan, polisacárido abundante en la hemicelulosa de macrofitas (manglares y pastos) dominantes en ese ambiente.

Entre las fuentes más probables de enriquecimiento de xilosa en Bahía San Quintín se encuentran las plantas vasculares de marisma como *Spartina foliosa*, el pasto *Zostera marina* y/o las diatomeas bentónicas en planicies lodosas. Opsahl y Benner (1999) y Pakulski (1986) realizaron estudios de descomposición de *Spartina sp.*, cuyos tejidos frescos contienen una alta proporción de xilosa (~ 16% y una razón de $xil / gluc = 0.6$). La "perdida" de esta aldosa del detritus en estos experimentos sugiere su potencial aporte a la columna de agua cuando las planicies cubiertas por estas plantas son inundadas durante mareas vivas. Por otro lado, Vichkovitten y Holmer (2005) determinaron el contenido de aldosas en sedimentos (fase sólida y agua intersticial) dominados por *Zostera marina*, y los contrastaron con la composición de aldosas en hojas de este pasto. Estos autores observaron la dominancia de xilosa y glucosa (presentes en una proporción xil / glu de ~2.5) en el tejido fresco, sin embargo, en el agua intersticial se observó una remoción selectiva de glucosa, promoviendo un enriquecimiento relativo de xil ($xil/glu = 2$ a 10 cm). El caso reportado en la literatura en el que el enriquecimiento de xilosa sobre las otras aldosas es más notorio es en planicies lodosas de inundación (Brouwer *et al.*, 2003). En dichas planicies se reportó la presencia de xilosa en una concentración 3 veces mayor que la glucosa, en una fracción

del sedimento extraíble con agua. Esto sugiere que en dichos ambientes, durante la inundación de las planicies puede ocurrir una rápida incorporación de carbohidratos enriquecidos con xilosa. La fuente más probable de dichas aldosas es el aporte de carbohidratos extracelulares por diatomeas bentónicas (Brouwer *et al.*, 2003; Underwood *et al.*, 2004). Es probable que el mayor % molar de xilosa registrado durante marea viva se deba a la resuspensión del material disuelto producto del detritus de plantas vasculares, así como a la inundación de zonas de marisma y / o planicies lodosas. Durante este muestreo la xilosa fue entre 4-8 veces más grande que glucosa en la zona oceánica y la zona de cultivo de ostiones respectivamente y es máximo (mas de 10 veces más grande que la glucosa) en la zona del brazo este (Figura 15).

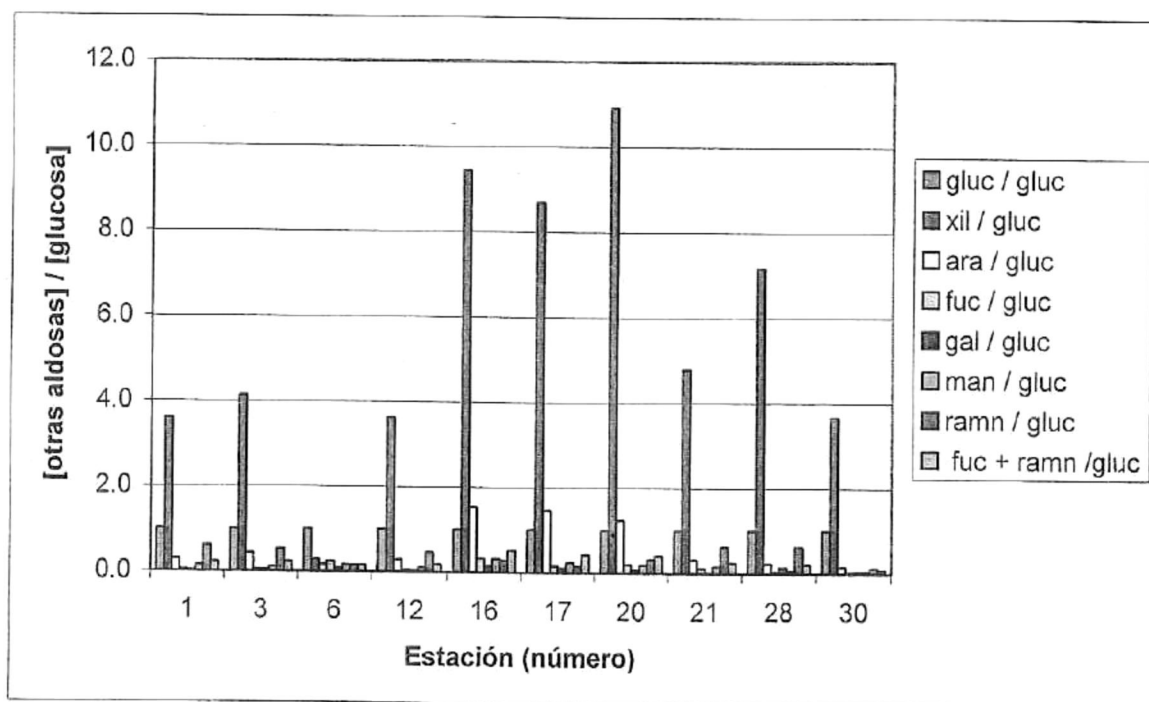


Figura 15. Proporción entre la concentración de las distintas aldosas y la concentración de glucosa en muestras recolectadas durante marea viva.

Los resultados obtenidos sugieren que la composición de aldosas más uniforme, sumado a la baja concentración de ANHT en relación con la marea viva y el enriquecimiento generalizado de desoxiazucares registrada durante marea muerta (Figura 16), son el reflejo del consumo bacteriano. A diferencia de marea viva, durante marea muerta la concentración de la xilosa fue 2 veces mayor que la concentración de la glucosa.

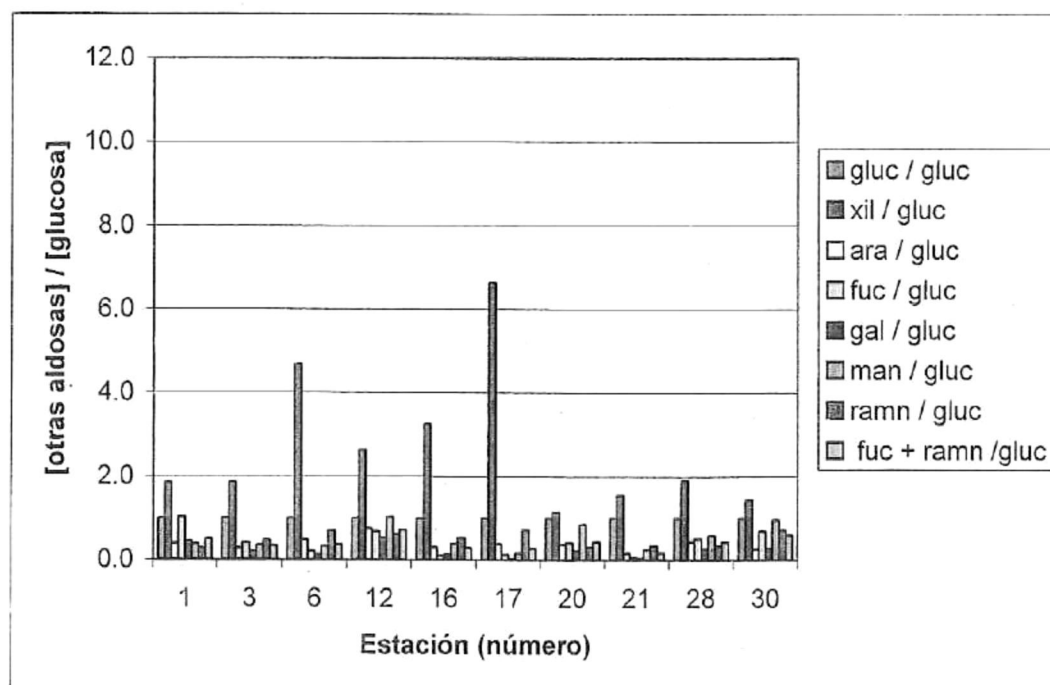


Figura 16. Proporción entre la concentración de las distintas aldosas y la concentración de glucosa en muestras recolectadas durante marea muerta.

Los estudios realizados con base en la utilización bacteriana del carbono proveniente de la degradación de plantas vasculares (Findlay *et al.*, 1986; Benner *et al.*, 1988; Moran y Hodson, 1989; Moran y Hodson, 1994; Anesio *et al.*, 2003) señalan que las bacterias pueden alimentarse en forma selectiva, asimilando solo algunos compuestos específicos, tales como mono y disacáridos, mientras que otros presumiblemente de menor calidad, tales como

compuestos fenólicos derivados de la lignina se difunden en la columna de agua.

Los compuestos intermediarios resultados de la degradación parcial de la lignocelulosa pueden estar compuestos de monómeros u oligoazúcares de glucosa, xilosa y manosa que son rápidamente descompuestos (Moran y Hodson, 1989). La labilidad de los compuestos conformados de xilosa y glucosa ha sido documentada, de siete aldosas detectadas xilosa y glucosa decrecen en abundancia durante la diagenesis de plantas vasculares (Opsahl y Benner, 1993; Opsahl y Benner, 1999), y la misma tendencia es observada en hojas de *Zostera marina* (Vichkovitten y Holmer, 2005) lo cual indica la labilidad de estas dos aldosas durante la descomposición del material. Debido al alto porcentaje de carbohidratos estructurales en tejidos vegetales (*Z. marina* en Bahía San Quintín puede contener ~ 23% del peso seco como carbohidratos, excluyendo la lignina; Cabello-Pasini et al., 2004), gran parte del flujo de carbono y energía se considera el resultado de la oxidación directa de carbohidratos (Opsahl y Benner, 1993). De hecho un estudio realizado en la Bahía de Delaware (Keith y Arnosti, 2001) señaló que de cuatro polisacáridos analizados (xilan, laminarian, polulan y fucoïdan) el xilan presentó la tasa de hidrólisis bacteriana más alta que las otras tres, siendo esta de 2-10 mayor que la del laminarian, polisacarido lineal de glucosa.

Durante el presente estudio se detectó un enriquecimiento de ANHT durante marea viva, con predominio de la xilosa, probablemente como consecuencia de la inundación de planicies lodosas y comunidades de marisma. El aumento en la concentración de desoxiazúcares, la disminución en la concentración de ANHT y el bajo CACT en las muestras colectadas durante marea muerta, con respecto a marea viva, permiten suponer que estos cambios se deben a la degradación de la MOD por bacterias. En la Fig. 17 se esquematiza la diagénesis temprana de la MOD (en el caso de la figura la MOD

se representa por un polisacárido complejo) por la acción bacteriana en la columna de agua, la cual sigue una serie de pasos que involucran exoenzimas hidrolíticas y de transporte; estos pasos culminan con el enriquecimiento de desoxiazucres en la columna de agua ya que estas son comúnmente detectadas en el interior de las células bacterianas (Cowie y Hedges, 1984a; Amon et al., 2001; Amon y Benner, 2003). En el primer paso de la diagénesis, las enzimas hidrolíticas fragmentan compuestos mayores a 1000 daltons para generar los monómeros que son acarreados posteriormente al interior de la célula mediante enzimas de transporte. Las bacterias pueden ser un enlace en la cadena trófica, o un destino del COD al ser este transformado a CO₂. En cualquier caso, su contenido celular es liberado al medio después de su muerte o rompimiento celular (Figura 17).

Como lo han indicado Amon y Benner (2003), la labilidad de los polímeros ricos en glucosa depende del origen de estos polisacáridos. La glucosa puede ser la aldosa dominante en los polisacáridos de reserva, como los glucanos, pero es menos abundante al asociarse a otros azúcares como la xilosa cuando forma heteropolisacáridos estructurales (Panagiotopoulos y Sempéré, 2005).

Skoog y Benner (1997) señalaron que la importancia relativa de la glucosa como sustrato para microorganismos se debe solo a su abundancia, es decir, que no hay una preferencia biológica por cierto tipo de aldosa en la MOD. La notoria disminución en la proporción de la xilosa durante mareas muertas, en comparación con otras aldosas, sugiere que el material originado en las zonas de marisma puede ser un sustento importante del enlace microbiano en Bahía San Quintín.

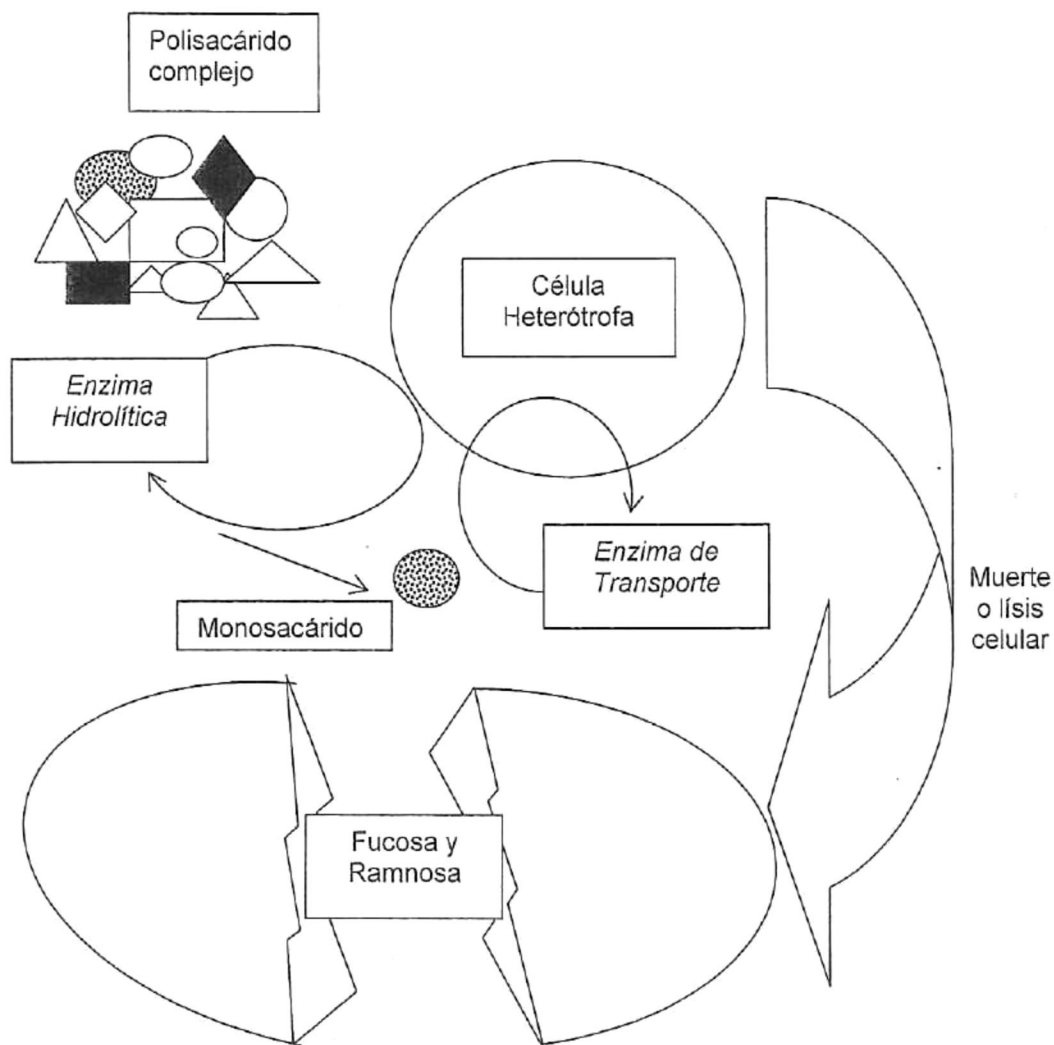


Figura 17. Esquema que muestra la diagénesis temprana de la MOD de alto peso molecular por la acción de bacterias en la columna de agua (modificado de Skoog *et al.*, 1999) y el enriquecimiento de desoxiazucars posterior a la muerte o lisis celular.

8 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de los ensayos sin adición de NID sugieren que el proceso de exudación foliar de *Z marina* contribuye entre 5 y 11% de la acumulación de COD registrada en el brazo este de Bahía San Quintín. Esto indica que los aportes desde el bentos en la praderas y/o el intermareal contribuyen más que la exudación foliar a los flujos no conservativos de COD en esta zona. Sin embargo, ya que el enriquecimiento de los ensayos con NID se reflejó en un incremento de la tasa de exudación foliar, la contribución foliar de COD *in situ* puede ser mayor que la antes mencionada si la traslocación de NID desde los rizomas hacia las hojas es intensa.

La caracterización de la MOD contenida en las incubaciones indica que un bajo porcentaje del material exudado está compuesto por aldosas, lo cual es evidenciado por el CACT menor al 10%. Esto sugiere que más del 90% de la MOD contenida en las incubaciones podría pertenecer a otras especies químicas, como aminoácidos, glicolato, u otro tipo de azúcares (amino-azúcares o azúcares alcohólicas) las cuales no fueron analizadas en este estudio.

Uno de los rasgos más notables de la composición de las ANHT en las muestras de Bahía San Quintín es la dominancia de la xilosa con relación a las demás aldosas, incluyendo la glucosa. Esta característica no ha sido observada en estudios previos sobre aldosas en agua de mar, sin embargo, dichos estudios se han realizado en mar abierto o en estuarios relativamente profundos dominados por fitoplancton en contraste con Bahía San Quintín, en donde la comunidad de productores primarios es muy diversa.

En el caso de Bahía San Quintín, la dominancia tan notoria de la xilosa sugiere que existen fuentes de xilán, polisacárido que contiene una proporción notoriamente dominante de xilosa. En esta laguna costera, las fuentes más probables de xilosa son las comunidades de marisma, particularmente *Spartina foliosa* y las diatomeas bentónicas de las planicies lodosas.

La disminución en la concentración de ANHT y del CACT durante mareas muertas, en comparación con mareas vivas, combinadas con el enriquecimiento de desoxiazucars, sugieren que los carbohidratos acarreados durante marea viva son consumidos por las bacterias, indicando que estos carbohidratos, y principalmente la xilosa, son un sustrato importante en el enlace microbiano en esta laguna costera.

9 REFERENCIAS

Aguirre- Muñoz, A., Buddemeier R., Camacho-Ibar V., Carriquiry J., Ibarra-Obando S., Massey B., Smith S. 2001. Sustainability of coastal resource use in San Quintin Bay, México. *Ambio*. 30, 142-149.

Aitkenhead-Peterson, J., McDowell, W. and Neff, J. 2003. Sources, production and regulation of allochthonous dissolved organic matter inputs to surface waters. In: S. Findlay and R. Sinsabaugh (Editors), *Aquatic ecosystems: Interactivity of dissolved organic matter*. Academic Press, San Diego Cal, EU, 26-59.

Aluwihare, L., Repeta D. 1999. A comparison of the chemical characteristics of oceanic DOM and extracellular DOM produced by marine algae. *Marine Ecology Progress Series*. 186, 105-117.

Aluwihare, L., Repeta D., Chen R. 1997. A major biopolymeric component to dissolved organic carbon in surface sea water. *Nature*. 387, 166-169.

Amon, R., Benner R. 1996. Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnology and oceanography*. 41, 41-51.

_____ 2003. Combined neutral sugars as indicators of the diagenetic state of dissolved organic matter in the Arctic Ocean. *Deep Sea Research*. 50, 151-169.

Amon, R., Fitznar H., Benner R. 2001. Linkages among the bioreactivity, chemical composition and diagenetic state of marine dissolved organic matter. *Limnology and oceanography*. 46, 287-297.

Amon, R., Meon B. 2004. The biogeochemistry of dissolved organic matter and nutrients in two large Arctic estuaries and potential implications for our understanding of the Arctic Ocean system. *Marine Chemistry*. 92, 311-330.

Anesio, A., Abreu P., Biddanda B. 2003. The role of free and attached microorganisms in the decomposition of estuarine macrophyte detritus. *Estuarine Coastal and Shelf Sciences*. 56, 197-201.

Arnosti, C., Holmer M. 1999. Carbohydrate dynamics and contribution to the carbon budget of an organic-rich coastal sediment. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 63, 393-403.

Aveytua-Alcázar, L. 2002. Carbono orgánico disuelto en Bahía San Quintín. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California. 68 pp.

Azam, F., Cho, B., 1987. Bacterial utilization of organic matter in the sea. In: M. Fletcher, C. Gray and J. Jones (Editors), *Ecology of microbial communities*. Cambridge Univ Press, Cambridge, UK, pp. 261-281.

Azam, F., Fenchel T., Field J., Gray J., Meyer-Reil L., Thingstad F. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series*. 10, 257 –263.

Benner, R., 2002. Chemical composition and reactivity. In: A. Hansell and C. Carlson (Editors), *Biogeochemistry of Marine Organic Matter*. Academic Press, San Diego Cal, EU, 59-90.

_____ 2003. Molecular indicators of the bioavailability of dissolved organic matter. In: S. Findlay and R. Sinsabaugh (Editors), *Aquatic ecosystems: Interactivity of dissolved organic matter*. Academic Press, San Diego Cal, EU, 121-135.

- Benner, R., Lay J., K'Neas E., Hodson R. 1988. Carbon conversion efficiency for bacterial growth on lignocellulose. Implications for detritus- based food webs. *Limnology and oceanography*. 33 (6-2), 1514-1526.
- Benner, R., Opsahl S. 2001. Molecular indicators of the sources and transformations of dissolved organic matter in the Mississippi River plume. *Organic Geochemistry*. 32, 597-611.
- Bertilsson, S., Jones, J., 2003. Supply of dissolved organic matter to aquatic ecosystems; autochthonous sources. In: S. Findlay and R. Sinsabaugh (Editors), *Aquatic ecosystems: Interactivity of dissolved organic matter*. Academic Press, San Diego Cal, EU, 3-19.
- Bhosle, N., Bhaskar P., Ramachandran S. 1998. Abundance of dissolved polysaccharides in the oxygen minimum layer on the Northern Indian Ocean. *Marine Chemistry*. 63, 171-182.
- Biersmith, A., Benner R. 1998. Carbohydrates in phytoplankton and freshly produced dissolved organic matter. *Marine Chemistry*. 63, 131-144.
- Borch, N., Kirchman D. 1997. Concentration and composition of dissolved combined neutral sugars (polysaccharides) in seawater determined by HPLC-PAD. *Marine Chemistry*. 57, 85-95.
- Børshem, K., Myklestad S., Jon-Arne S. 1999. Monthly profiles of DOC, mono and polysaccharides at two locations in the Trondheimsfjord (Norway) during two years. *Marine Chemistry*. 63, 255-272.
- Brouwer, J., Deckere E., Stal L. 2003. Distribution of extracellular carbohydrates in three intertidal mudflats in Western Europe. *Estuarine Coastal and Shelf Sciences*. 56, 313-324.

- Brylinsky, M. 1977. Release of dissolved organic matter by some marine macrophytes. *Marine Biology*. 39, 213-220.
- Burdige, D., Skoog A., Gardner K. 2000. Dissolved and particulate carbohydrates in contrasting marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 64 (6), 1029-1041.
- Burke, M., Dennison W., Moore K. 1996. Non-structural carbohydrates reserves on eelgrass *Zostera marina*. *Marine Ecology Progress Series*. 137, 195-201.
- Cabello-Pasini, A., Muñoz Salazar R., Ward D. H. 2003. Annual variations of biomass and photosynthesis in *Zostera marina* at its southern end of distribution in the North Pacific. *Aquatic Botany*. 76, 31-47.
- Cabello-Pasini, A., Muñoz Salazar R., Ward D. H. 2004. Caracterización bioquímica del pasto marino *Zostera marina* en el límite sur de su distribución en el Pacífico Norte . *Ciencias Marinas*. 30(1A):21-34.
- Camacho-Ibar, V., Carriquiry J., Smith S. 2003. Non-conservative P and N fluxes and net ecosystem production in San Quintin Bay, México. *Estuaries*. 26, 1220-1237.
- Carlson, C., 2002. Production and removal processes. In: A. Hansell and C. Carlson (Editors), *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. Academic Press, San Diego Ca, EU, 91-151.
- Cebrián, J. 2002. Variability and control of carbon consumption, export, and accumulation in marine communities. *Limnology and oceanography*. 47 (1), 11-22.

- Cebrián, J., Duarte C., Marbà N., Enríquez S. 1997. Magnitude and fate of production of four occurring Western Mediterranean seagrass species. *Marine Ecology Progress Series*. 155, 29-44.
- Cheng, X., Kaplan L. 2001. Improved analysis of dissolved carbohydrates in stream water with HPLC-PAD. *Analytical Chemistry*. 73, 458-461.
- Chin-Leo, G., Benner R. 1991. Dynamics of bacterioplankton abundance and production in sea grass communities of a hyper saline lagoon. *Marine Ecology Progress Series*. 73, 219-230.
- Cifuentes, L., Eldridge P. 1998. A mass- and isotope-balance model of DOC mixing in estuaries. *Limnology and oceanography*. 43, 1872-1882.
- Cowie, G., Hedges J. 1984a. Carbohydrate sources in a coastal marine environment. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 48, 2075-2088.
- _____ 1984b. Determination of neutral sugars in plankton, sediments and wood by capillary gas chromatography of equilibrated isomeric mixtures. *Analytical Chemistry*. 56, 497-504.
- _____ 1994. Biochemical indicators of diagenetic alterations in natural organic matter mixtures. *Nature*. 369, 304-307.
- D'Souza, F., Bhosle N. 2001. Variation in the composition of carbohydrates in the Dona Paula Bay (west of India) during May/June 1998. *Oceanologica Acta*. 24 (3), 221-237.
- Dionex. Analysis of carbohydrates by high performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAE-PAD), In Technical Note 21, Dionex Corporation. pp 13.

- Duarte, C., Cebrián J. 1996. The fate of marine autotrophic production. *Limnology and oceanography*. 41 (8), 1758-1766.
- Engbrodt, R., Kattner G. 2005. On the biogeochemistry of dissolved carbohydrates in the Greenland Sea (Arctic). *Organic Geochemistry*. 36, 937-948.
- Engelhaupt, E., Bianchi T. 2001. Sources and composition of high-molecular-weight dissolved organic carbon in a southern Louisiana tidal stream (Bayou Trepagnier). *Limnology and oceanography*. 46 (4), 917- 926.
- Findlay, S., Carlough L., Crocker M., Gill H., Meyer J., Smith P. 1986. Bacterial growth on macrophyte leachate and fate of bacterial production. *Limnology and oceanography*. 31 (6), 1335-1341.
- Findlay, S. 2003. Bacterial response to variation in dissolved organic matter. In: S. E. G. Findlay, and R. L. Sinsabaugh (Editors). *Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Academic Press/Elsevier Science, San Diego, Cal, EU, pp. 363-379.
- Fogg, G. 1975. *Algal cultures and phytoplankton ecology*. University of Wisconsin Press. 175 pp.
- _____ 1976. Release of glycollate from tropical marine plants. *Australian Journal of Plant Physiology*. 3, 57-61.
- _____ 1977. Excretion of organic matter by phytoplankton. *Limnology and oceanography*. 22, 576-577.
- _____ 1983. The ecological significance of extracellular products of phytoplankton photosynthesis. *Botanica Marina*. 26, 384-25.

Foreman, C., Covert, J., 2003. Linkages between dissolved organic matter composition and bacterial community structure. In: S. Findlay and R. Sinsabaugh (Editors), *Aquatic Ecosystems; Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Academic Press, San Diego Cal, EU, 343-359.

Gardner, W., Benner R., Amon R., Cotner J., Cavaletto J., Johnson F. 1996. Effects of high molecular weight dissolved organic matter on nitrogen dynamics in the Mississippi River plume. *Marine Ecology Progress Series*. 133, 287-297.

Gómez-Moreno, L., Cajal-Medrano R., Canino-Herrera S. 1997. Variación temporal de carbohidratos totales, polisacáridos, monosacáridos y actividad metabólica microbiana en el Estero de Punta Banda, México. *Ciencias Marinas*. 23 (3), 341-359.

Graham, L., Wilcox L. 2000. *Algae*. Prentice Hall, 640 pp.

Gremm, T., Kaplan L. 1997. Dissolved carbohydrates in stream water determined by HPLC and pulsed amperometric detection. *Limnology and oceanography*. 42, 385-393.

Guo, L., Santsci, P.H. and Bianchi, T.S., 1999. Dissolved organic matter in estuaries of Gulf of Mexico. In: S. Bianchi, P. J.R. and R.R. Twilley (Editors), *Biogeochemistry of Gulf of Mexico Estuaries*. John Wiley, New York, pp. 269-299.

Haddad, R. 1989. Sources and reactivity of organic matter accumulating in a rapidly depositing, coastal marine sediment. PhD thesis. University of North Carolina. .

- Hama, T., Yanagi K. 2001. Production and neutral sugars composition of dissolved carbohydrates excreted by natural marine phytoplankton populations. *Limnology and oceanography*. 46, 1945-1955.
- Hamilton, S., Hedges J. 1988. The comparative chemistries of lignins and carbohydrates in an anoxic fjord. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 52, 129-152.
- Hedges, J. 1992. Global biogeochemical cycles: progress and problems. *Marine Chemistry*. 39, 67-93.
- Hedges, J., Cowie G., Richey J., Quay P., Benner R., Strom M., Forsberg B. 1994. Origins and processing of organic matter in the Amazon river as indicated by carbohydrates and amino acids. *Limnology and oceanography*. 39, 743-761.
- Holmer, M., Bachmann A. 2002. Role of decomposition of mangrove and seagrass detritus in sediment carbon and nitrogen cycling in a tropical mangrove forest. *Marine Ecology Progress Series*. 230, 87-101.
- Hung, C., Tang, D., Warnsken, K., Santschi, P. 2001. Distribution of carbohydrates, including uronic acids, in estuarine waters of Galveston Bay. *Marine Chemistry*. 73: 305-318
- Ibarra-Obando, S., Smith S., Poumian-Tapia M., Camacho-Ibar V., Carriquiry J., Martín-Montes H. 2004. Benthic metabolism in San Quintin Bay, Baja California México. *Marine Ecology Progress Series*. 283, 99-112.
- Ittekkot, V. 1988. Global trends in the nature of organic matter in river suspensions. *Nature*. 332, 446-438.

Jørgensen, N., Blackburn T., Henriksen K., Bay D. 1981. The importance of *Posidonia oceanica* and *Cymodocea nodosa* as contributors of free amino acids in water and sediment of seagrass beds PSZNI. *Marine Ecology*. 2, 97-112.

Jørgensen, N., Jensen R. 1994. Microbial fluxes of free monosaccharides and total carbohydrates in fresh water determined by PAD-HPLC. *FEMS Microbiology Ecology*. 14, 79-94.

Keith, S., Arnosti C. 2001. Extracellular enzyme activity in a river-bay-shelf transect. Variations in polysaccharide hydrolysis rates with substrates and size class. *Aquatic Microbial Ecology*. 24, 243-253.

Kerhervé, P., Buscaill R., Gadel F., Serve L. 1995. Neutral monosaccharides in surface sediments of the northwestern Mediterranean Sea. *Organic Geochemistry*. 33, 421-435.

Kirchman, D. 2000. Uptake and regeneration of inorganic nutrients by marine heterotrophic bacteria. In: D. Kirchman (Editor), *Microbial ecology of the oceans*, Wiley, New York, pp. 261-288.

Kirchman, D., Borch N. 2003. Fluxes of dissolved combined neutral sugars (polysaccharides) in the Delaware Estuary. *Estuaries*. 26 (4A), 894-904.

Lambert, W. 1978. Release of dissolved organic carbon by grazing phytoplankton. *Limnology and oceanography*. 23, 831-834.

Liu, H., Thorson, S. 1994. Pathways and mechanisms in the biogenesis of novel deoxysugars by bacteria. *Annual review of microbiology*. 48, 223-256

Maie, N., Yang C., Miyoshi T., Parish K., Jaffé R. 2005. Chemical characteristics of dissolved organic matter in an oligotrophic subtropical wetland/estuarine ecosystem. *Limnology and oceanography*. 50 (1), 23-35.

Mannino, A., Harvey R. 2000. Biochemical composition of particles and dissolved organic matter along an estuarine gradient. Sources and implications of DOM reactivity. *Limnology and oceanography*. 45 (4), 775-778.

Mantoura, R., Woodward E. 1983. Conservative behavior of riverine dissolved organic carbon in the Severn estuary. Chemical and geochemical implications. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 47, 1293-1309.

Mazzella, L., Alberte R. 1986. Light adaptation and the role of autotrophic epiphytes in primary production of the temperate seagrass *Zostera marina*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 100, 165-180.

McKee, T., McKee, J. 2003. Biochemistry: the molecular basis of life. McGraw-Hill, Boston,EU. 771p.

Meon, B., Kirchman D. 2001. Dynamics and molecular composition of dissolved organic material during experimental phytoplankton blooms. *Marine Chemistry*. 75, 185-199.

Millán-Núñez, R., Alvarez-Borrego S., Nelson M. D. 1982. Effects of physical phenomena on the distribution of nutrients and phytoplankton productivity in a coastal lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 15, 317-335.

Millán-Núñez, R., Millán-Núñez E., Álvarez-Borrego S., Trees C., Santamaría Del Ángel E. 2004. Variabilidad de la comunidad del fitoplancton en Bahía San Quintín estimada mediante el análisis de pigmentos. *Ciencias Marinas*. 30 (1A), 145-153.

Mopper, K., Dawson R., Liebezeit G., Ittekkot V. 1980. the monosaccharides spectra of natural waters. *Marine Chemistry*. 10, 55-66.

Mopper, K., Zhou J., Ramana K., Passow U., Dam H., Drapeau T. 1995. the role of surface-active carbohydrates in the flocculation of a diatom bloom in a mesocosm. *Deep Sea Research*. 42, 47-73.

Moran, M., Hodson R. 1989. Formation and bacterial utilization of dissolved organic carbon derived from detrital lignocellulose. *Limnology and oceanography*. 34 (6), 1034-1047.

_____ 1994. Dissolved humic substances of vascular plant origin in a coastal marine environment. *Limnology and oceanography*. 39 (4), 762-771.

Moriarty, D., Iverson R., Pollard C. 1986. Exudation of organic carbón by seagrass *Halodule wrightii* Aschers and its effect on bacterial growth in the sediment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 96, 115-126.

Nelson, D. L., Cox M. 2000. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Worth publishers. 1149 pp.

Nieto-Cid, M., Álvarez-Salgado X., Brea S., Pérez S. 2004. Cycling of dissolved and particulate carbohydrates in a coastal upwelling system (NW Iberian Peninsula). *Marine Ecology Progress Series*. 283, 39-54.

Ogata, E., Matsui T. 1965. Photosynthesis in several marine plants on Japan as affected by salinity, drying and pH, with attention to their growth habits. *Botanica Marina*. 8, 199-217.

- Opsahl, S., Benner R. 1993. Decomposition of senescent blades of the seagrass *Halodule wrightii* in a subtropical lagoon. *Marine Ecology Progress Series*. 94, 191-205.
- _____ 1999. Characterization of carbohydrates during early diagenesis of five vascular plant tissues. *Organic Geochemistry*. 30, 83-94.
- Ortiz-Hernández, M., Camacho-Ibar V., Carriquiry J., Ibarra-Obando S., Daessle L. 2004. Contribución de la resuspensión de sedimentos a los flujos no conservativos de fósforo inorgánico disuelto en Bahía San Quintín, Baja California. Una estimación experimental. *Revista de Ciencia Marinas*. 30, 75-88.
- Pakulski, J. 1986. The release of reducing sugars and dissolved organic carbon from *Spartina alterniflora* Loisel in Georgia Salt Marsh. *Estuarine, Coastal and Shelf Sciences*. 22, 385-394.
- Pakulski, J., Benner R. 1994. Abundance and distribution of carbohydrates in the ocean. *Limnology and oceanography*. 39, 930-940.
- Panagiotopolus, C., Sempéré, R. 2005. Analytical methods for the determination of sugars in marine samples: A historical perspective and future directions. *Limnology and oceanography: Methods* 3, 419-454.
- Pedersen, M., Borum J. 1993. An annual nitrogen budget for seagrass *Zostera marina* population. *Marine Ecology Progress Series*. 101, 169-177.
- Peduzzi, P., Herndl G. 1991. Decomposition and significance of seagrass leaf litter (*Cymodocea nodosa*) for the microbial food web in coastal waters (Gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea). *Marine Ecology Progress Series*. 71, 163-174.

- Penhale, P., Smith W. 1977. Excretion of dissolved organic carbon by eelgrass (*Zostera marina*) and its epiphytes. *Limnology and Oceanography*. 22, 400-407.
- Repeta, D., Quan T., Aluwihare L., Accardi A. 2002. Chemical characterization of high molecular weight dissolved organic matter in fresh and marine waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 66 (6), 955-962.
- Rich, J., Ducklow H., Kirchman D. 1996. Concentrations and uptake of neutral monosaccharides along 140 W in the equatorial Pacific. Contribution of glucose to heterotrophic bacterial activity and the DOM flux. *Limnology and oceanography*. 41, 595-604.
- Roberts, D., Moriarty D. 1987. Lacunal gas discharge as a measure of productivity in the seagrass *Zostera capricorni*, *Cymodocea serruata* and *Syringodium isoetifolium*. *Aquatic Botany*. 28, 143-160.
- Robertson, M. L., Mills A. L., Zieman J. C. 1982. Microbial synthesis of detritus-like particulates from dissolved organic carbon released by tropical seagrasses. *Marine Ecology Progress Series*. 279- 285.
- Rodríguez-Cardozo, L. 2004. Evaluación del nitrógeno orgánico disuelto en los balances de nitrógeno en Bahía San Quintín. B C Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California. 56 pp.
- Romankevich, E. A. 1984. Geochemistry of organic matter in the ocean. Springer-Verlag. 334 pp.
- Sandjensen, K., Borum J. 1991. Interactions among phytoplankton, periphyton, and macrophytes in temperate freshwaters and estuaries. *Aquatic Botany*. 41, 137-175.

- Skoog, A., Benner R. 1997. Aldoses in various size fractions of marine organic matter. Implications for carbon cycling. *Limnology and oceanography*. 42, 1803 – 1813.
- Skoog, A., Biddanda B., Benner R. 1999. Bacterial utilization of dissolved glucose in the upper column of the Gulf of Mexico. *Limnology and oceanography*. 44, 1625-1633.
- Touchette, B., Burkholder J. 2002. Seasonal variations in carbon and nitrogen constituents in eelgrass (*Zostera marina* L.) as influenced by increased temperature and water-column nitrate. *Botanica Marina*. 45, 23-34.
- Underwood, G., Boulcott M., Raines C. 2004. Environmental effects on exopolymer production by marine benthic diatoms; dynamics, changes in composition, and pathways of production. *Journal of Phycology*. 40, 293-304.
- Valiela, I., Costa J., Foreman K., Teal J., Howes B., Aubrey D. 1990. Transport of ground-water borne nutrients from watersheds and their effects on coastal waters. *Biogeochemistry*. 10, 177-197.
- Van Heemst, J. D. H., Megens L., Hatcher P. G., De Leeuw J. W. 2000. Nature, origin and average age of estuarine ultrafiltered dissolved organic matter as determined by molecular and carbon isotope characterization. *Organic Geochemistry*. 31, 847-857.
- Verdugo, P., Alldredge A., Azam F., Kirchman D., Passow U., Santschi P. 2004. The oceanic gel phase; a bridge in the DOM-POM continuum. *Marine Chemistry*. 92 (1-4), 67-85.

- Vichkovitten, T., Holmer M. 2005. Dissolved and particulate organic matter in contrasting *Zostera marina* (eelgrass) sediments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 316, 183-201.
- Ward, D., Morton A., Tibbits T., Douglass D., Carrera-González E. 2003. Long – term change in eelgrass distribution at Bahía San Quintín, Baja California, México, using satellite imagery. *Estuaries*. 26 (6), 1529-1539.
- Wetzel, R. 1983. *Limnology*, 2 ed. Sounders College. 860 pp.
- Wetzel, R. G., Penhale P. A. 1979. Transport of carbon and excretion of dissolved organic carbon by leaves and roots/rhizomes in seagrasses and their epiphytes. *Aquatic Botany*. 6, 149-158.
- Wood, D., Havasaka S. 1981. Chemotaxis of rhizoplane bacteria to amino acids comprising eelgrass (*Zostera marina* L.) root exudate. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 50, 153-161.
- Ziegler, S., Benner R. 1999. Dissolved organic Carbon cycling in a subtropical seagrass dominated lagoon. *Marine Ecology Progress Series*. 94, 191-205.