

An. Inst. Inv. Mar. Punta de Betín	17	27-37'	Santa Marta Colombia, 1987	ISSN 0120-3959
---------------------------------------	----	--------	-------------------------------	-------------------

GRADIENTES DE FIJACION DE NITROGENO EN LOS SEDIMENTOS MARINOS ASOCIADOS A ARRECIFES CORALINOS EN EL SUROESTE DE PUERTO RICO

Felipe A. Nieves y Jorge E. Corredor

RESUMEN

Muestras de sedimento marino y de agua intersticial procedentes de cinco estaciones en el suroeste de Puerto Rico y con diferentes características en composición, fueron sometidas a la prueba de reducción de acetileno para cuantificación de fijación de nitrógeno y análisis de amonio respectivamente. En cada una de las estaciones se encontraron resultados positivos. La adición de glucosa a las muestras aumentó la fijación de nitrógeno en una proporción de 50-200. La correlación entre el porcentaje de materia orgánica y la fijación de nitrógeno indicó una proporcionalidad directa, así como la correlación del porcentaje de materia orgánica y la concentración de amonio. La fijación de nitrógeno correlacionada con la concentración de amonio por estación, demuestra que la fijación de nitrógeno puede estar limitada por la presencia del ión amonio en estos sistemas bentónicos.

ABSTRACT

Marine sediment samples and interstitial water from five stations at the southwest of Puerto Rico with different characteristics in composition, were submitted to acetylene reduction technique for nitrogen fixation quantification and ammonium analysis respectively. All stations showed positive results. Glucose addition to the samples increased nitrogen fixation in a proportion of 50 to 200. Organic matter per cent correlated to both: nitrogen fixation and ammonium concentration, indicated a direct proportionality. In addition nitrogen fixation correlated to the ammonium concentration per station, showed that nitrogen fixation could be limited by the ammonium ion presence in those benthic systems.

INTRODUCCION

Los ambientes marinos tropicales se caracterizan por su limitación en fuentes de nutrientes comparados con otros sistemas de altas lati-

tudes. El nitrógeno fijado se ha encontrado solo en pequeñas cantidades en estas aguas cálidas y se ha demostrado que es uno de los mayores factores limitantes para la producción de fitoplancton en áreas del Pacífico tropical (Thomas, 1970) y del mar Caribe (Corredor, 1979).

Recientemente la fijación de nitrógeno ha sido cuantificada por medio de la técnica de reducción de acetileno en una gran variedad de ambientes marinos (Carpenter y Capone, 1983). Sin embargo, nuevas y muchas interrogantes aún están por dilucidarse con respecto al papel que juega el nitrógeno en los sedimentos marinos. La variación en la fijación de nitrógeno entre diferentes ambientes bénticos y su relación a los procesos físicos y biológicos es de gran importancia en el entendimiento de estos sistemas.

El límite potencial de las bacterias heterotróficas ha sido cuestionado por varios investigadores en este campo. De acuerdo con Wilson (1940), $1 \mu\text{g N}_2$ es fijado por $100 \mu\text{g}$ de glucosa (ó $40 \mu\text{g C}$), consumido por *Azotobacter*. Toeriem y Cavari (1982), demostraron que las tasas máximas de utilización de glucosa eran similares en condiciones aeróbicas y anaeróbicas usadas en los procedimientos de sus ensayos en sedimentos lagunares. Estos autores sugieren que la mayoría de los microorganismos que son activos en el metabolismo de glucosa en los sedimentos, son anaeróbicos facultativos y que pueden cambiar fácilmente de metabolismo aeróbico a anaeróbico, ya que la presencia o ausencia de oxígeno aparentemente no afecta los valores de V_{max} para la toma de glucosa y mineralización.

La disponibilidad del nitrógeno en los sedimentos marinos se reconoce como un factor determinante en la limitación potencial de la población microbiana. En cultivos de bacterias químicamente regulados, Dalton y Postgate (1969) demostraron que la relación entre la razón de crecimiento, biomasa y el contenido de nitrógeno del medio era típica de bacterias limitadas por nitrógeno.

Se ha especulado que altas concentraciones de amonio pueden regular la tasa de fijación de nitrógeno (Capone, 1983), aseveración plausible dado el alto costo energético de este proceso. En ausencia de fuentes reducidas de nitrógeno, las bacterias fijadoras del nitrógeno molecular (N_2), cobran dominancia sobre otros grupos.

En el presente trabajo, se analizan las diferencias en tasas de fijación de nitrógeno en el bentos a lo largo de un transecto perpendicular a la costa sur de Puerto Rico pasando desde ambientes de alta productividad próximas a la costa hasta arrecifes coralinos en aguas oligotróficas. Se analiza igualmente el efecto de adiciones de sustrato

orgánico (glucosa) y el de la disponibilidad de nitrógeno fijado (amnio) sobre estos procesos.

METODOS

Se seleccionó un transecto de cinco estaciones como lugar de muestreo, las cuales se representan en el mapa del área de La Parguera, al suroeste de Puerto Rico (Figs. 1 y 2). Se colectaron muestras de agua intersticial y sedimento marino, entre junio de 1984 y agosto de 1985.

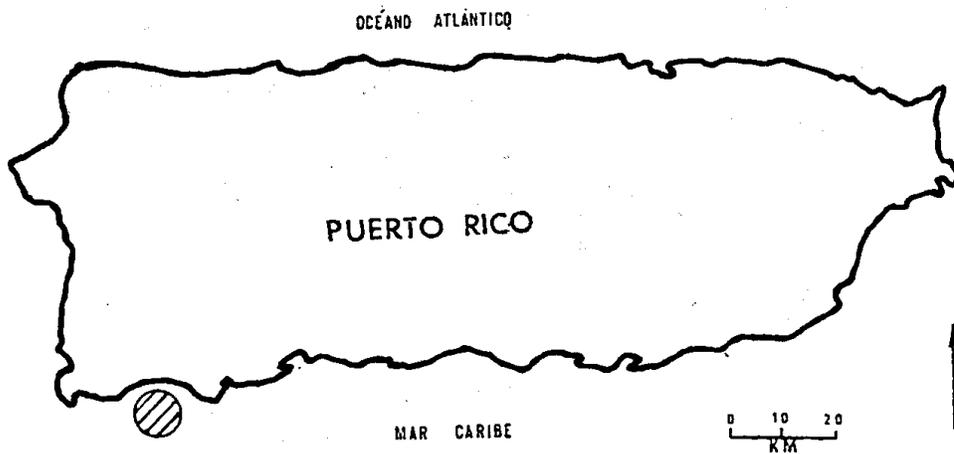


Figura 1: Mapa de Puerto Rico, el área sombreada al suroeste representa el lugar de estudio, $67^{\circ} 01'00''$ longitud $17^{\circ}56'20''$ latitud.

Figura 1. Mapa de Puerto Rico, el área sombreada al suroeste representa el lugar de estudio, $67^{\circ}01'00''$ longitud; $17^{\circ}56'20''$ latitud.

Un factor importante en la selección de este transecto particular, fue la disponibilidad de amplia información concerniente a las características químicas y físicas de estos sedimentos provista por Sawyer (1980). En la Tabla 1 se presenta una descripción de las estaciones y la composición del sedimento marino.

Las muestras de aguas intersticiales fueron coleccionadas utilizando una lanza de succión (sedimentos gruesos, ejemplo arena) o por medio de tubos de acrílico (6.7 cm de diámetro y 30 cm de largo; para sedimentos finos, ejemplo barro) seccionados a intervalos de 2 cm desde la superficie del sedimento hasta 10 cm de pro-

fundidad para todas las estaciones, excepto en la estación 5, cuyo intervalo de muestreo, fue de 5 cm, desde 0 hasta 25 cm de profundidad. El contenido de cada anilla se depositó en un tubo de ensayo plástico para ser centrifugado a 15.000 r.p.m. durante 10 minutos, recojiéndose luego el sobrenadante (aproximadamente de 10-15 ml de agua intersticial).

Los análisis de amonio se realizaron usando un autoanalizador marca Technicol II y/o un analizador por inyección en flujo, marca Lachat, usando la técnica de Solórzano, de fenol hipoclorito (Strickland y Parsons, 1972).

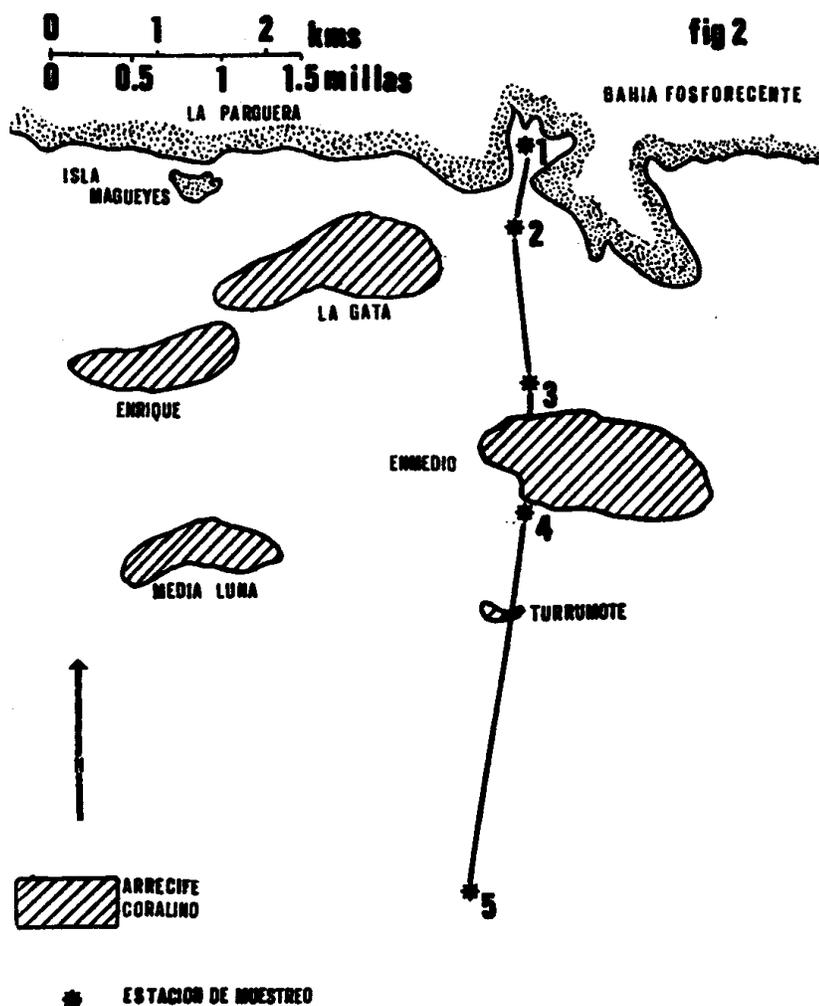


Fig. 2: ÁREA DE ESTUDIO: LOCALIZACIÓN DE ESTACIONES DE MUESTREOS A LO LARGO DE UN TRANSECTO SEGÚN SAWYER, 1980; MORELOCK, 1977.

Figura 2. Area de estudio: Localización de estaciones de muestreos a lo largo de un transecto según Sawyer, 1980; Morelock, 1977.

Tabla 1. Descripción y composición de los sedimentos marinos por estación (según Sawyer, 1981).

No. DE EST.	DESCRIPCION DE ESTACION	COMPOSICION DEL SEDIMENTO
1	CENTRO DE BAHIA FOSFORECENTE (15 pies prof.)	Este sedimento es 97% cieno y arcilla (barro marrón oscuro)
2	ENTRADA DE LA BAHIA FOSFORECENTE (70 pies prof.)	Arenas de grano fino compuesta de Halimeda (20-30%) y conchas de moluscos (10-50%).
3	ARRECIFE POSTERIOR (8 pies prof.)	Barro compactado color gris con arenas de grano entre mediano y grueso. En general estos sedimentos están compuestos de 50-60% de placas de Halimeda , 20-30% de residuos de coral, 10-20% de conchas de moluscos, 5% de fragmentos de equinoides.
4	ESCARPA ANTERIOR (25 pies prof.)	Sedimentos del almacén arrecifal. Granos de arena de mediano a grueso con fragmentos de coral y placas de Halimeda contribuyendo de 60 a 30% respectivamente a los sedimentos.
5	VERIL-ANTIGUA LAGUNA ARRECIFAL, SUMERGIDA POR CAMBIOS EN EL NIVEL DEL MAR (60 pies prof.)	El tamaño de la fracción dominante de estos sedimentos es arena de grano mediano. Los sedimentos están compuestos primeramente de fragmentos de coral con poca cantidad de moluscos, foraminíferos, algas coralinas y fragmentos de Halimeda .

Las muestras de sedimento marino fueron coleccionadas con tubos plásticos de acrílico, como lo antes descrito. El contenido de cada anilla se depositó en un matraz cónico de 125 ml de boca ancha y tapado con un tapón de goma reforzado con cinta adhesiva. Luego las muestras fueron llevadas a condición de cámara anóxica exponiéndolas a flujo de argón libre de oxígeno. Una vez en este estado se procedió a inyectarles una cantidad aproximada de 12-15% de la fase gaseosa de acetileno. Inmediatamente las muestras fueron colocadas en una batidora automática para propiciar la homogenización del medio.

La fijación de nitrógeno, fue medida por medio de la técnica de reducción de acetileno usando un cromatógrafo de gas (Stewart *et al.*, 1967; Hardy *et al.*, 1968; Hardy y Havelka, 1975), marca Varian 2740. La incubación duró aproximadamente 72 horas.

A un grupo de muestras de sedimento marino de estas estaciones y bajo las mismas condiciones se les añadió 10 ml de una solución a

una concentración de 10 gr de glucosa/ l. Todas las muestras y sus réplicas fueron analizadas.

RESULTADOS

Las incubaciones realizadas muestran un gradiente de disminución en la tasa de fijación de nitrógeno con respecto a distancia de la costa, desde la estación 1 hasta la estación 5 (Fig. 3). Un gradiente similar se observa para la concentración de amonio en aguas intersticiales (Fig. 4).

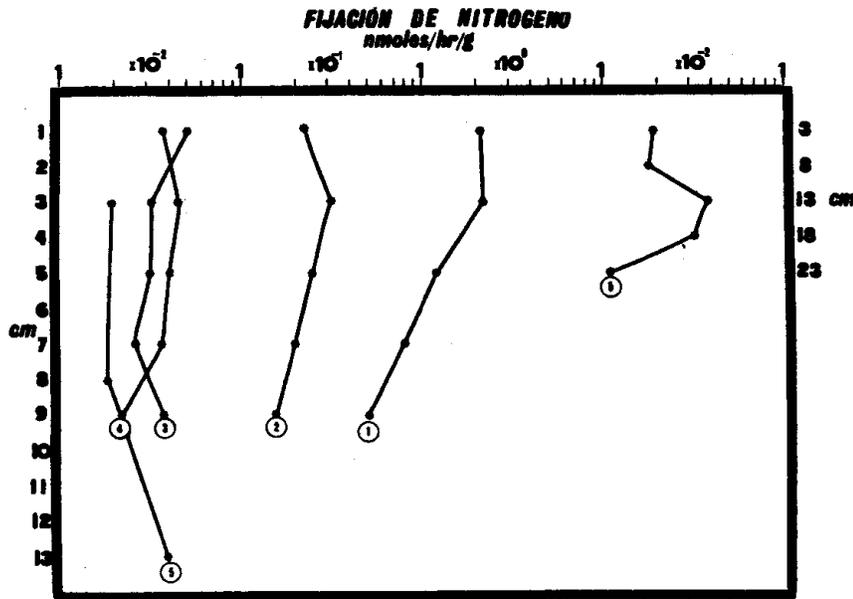


Figura 3: Perfil de la fijación de nitrógeno, expresado en nmoles/hr/g en los sedimentos marinos de las cinco estaciones estudiadas.

Figura 3. Perfil de la fijación de nitrógeno, expresado en moles/hr/g en los sedimentos marinos de las cinco estaciones estudiadas.

Las razones de fijación de nitrógeno en las muestras con glucosa exhibieron un aumento de 50 a 200 veces sobre las muestras controles, sin glucosa (Tabla 2).

Las correlaciones de tasas de fijación de nitrógeno (C_2H_4), con porcentajes de materia orgánica (Sawyer, 1980), y las de este último parámetro con la concentración de amonio en las cinco estaciones estudiadas (Tabla 3), muestran coeficientes de correlación de 0.98 ($n = 5$), y 0.97 ($n = 5$), respectivamente para un $\alpha = 0.05$, usando una distribución F (Sokal y Rohlf, 1981).

Se realizó una tercera correlación, esta vez comparando la tasa de fijación de nitrógeno (C_2H_4) y la concentración de amonio, a diferen-

tes intervalos de profundidad del sedimento marino para cada una de las estaciones. La figura 5, muestra esta correlación, donde hay claramente dos poblaciones, la de NH_4^+ alto en que este regula la fijación de nitrógeno ($r = 0.97$, $n = 5$, $p = 0.05$; distribución F; Sokal y Rohlf, 1981), y la de NH_4^+ bajo donde la relación no es tan estrecha.

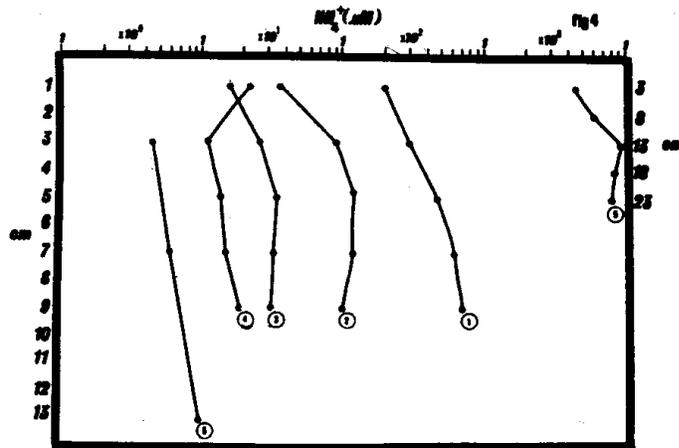


Figura 4. Perfil de la concentración de amonio, expresado en micro-Molaridad en los sedimentos marinos de las cinco estaciones estudiadas.

Tabla 2. Razón entre la tasa de fijación de nitrógeno con glucosa y la fijación de nitrógeno sin glucosa (Control).

Número de estación	Fijación de Nitrógeno (Glucosa) $\mu\text{moles}/\text{m}^2/\text{hr}$	Fijación de Nitrógeno (Control) $\mu\text{moles}/\text{m}^2/\text{hr}$	Razón de Glucosa/Control
1	683.4	10.9	62
2	304.7	6.3	50
3	87.3	1.2	70
4	300.2	1.3	230
5	50.2	0.5	92

Tabla 3. Relación entre el por ciento de materia orgánica (según Sawyer, 1981), fijación de nitrógeno y concentración de amonio promedio por estación.

Número de Estación	Por ciento de materia orgánica	Fijación de Nitrógeno $\mu\text{moles}/\text{m}^2/\text{hr}$	(NH_4^+) promedio μM
1	3.05	10.9	91
2	1.50	6.3	19
3	0.75	1.2	5.6
4	0.50	1.3	3.2
5	0.40	0.5	1.4

DISCUSION

El efecto de la adición de glucosa en estos sedimentos marinos revela que las bacterias heterotróficas juegan un papel principal en la fijación de nitrógeno y que estos sistemas béticos están potencialmente limitados por la disponibilidad de fuentes de energía en forma de compuestos orgánicos.

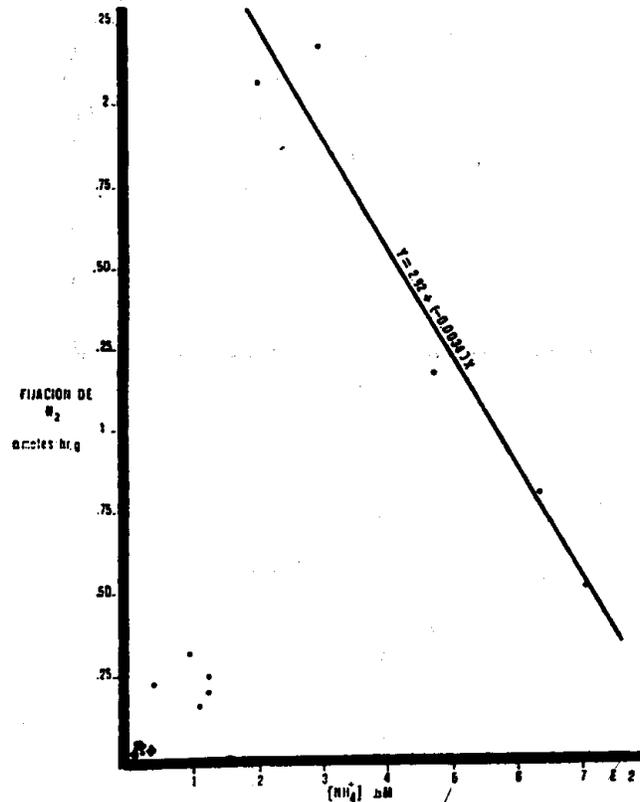


Figura 5. Correlación entre la fijación de nitrógeno y la concentración de amonio en los sedimentos marinos estudiados.

Al examinar la relación entre el porcentaje de materia orgánica y la fijación de nitrógeno (C_2H_4), tabla 3, notamos una directa proporcionalidad, de manera que la fijación de nitrógeno aumenta con el porcentaje de contenido orgánico en los sedimentos. En la Bahía Fosfo-recente éstos son finos, compactos, de alto contenido orgánico, mientras que los sedimentos del Arrecife de Enmedio son más gruesos, menos consolidados y con bajo contenido orgánico. Cabe anotar que a menor contenido orgánico, menor es la cantidad de bacterias reductoras de sulfato, las cuales también tienen la capacidad de fijar nitrógeno (Postgate, 1979; Capone, 1983). La razón de sedimentación afecta directamente el contenido de materia orgánica en los sedimentos, lo

cual es muy importante, ya que la disponibilidad de la materia orgánica es el factor principal que controla la reducción de sulfato (Goldhaber y Kaplan, 1974). Se ha establecido que el carbono orgánico total es preservado en áreas de alta tasa de sedimentación (Berner, 1974). Los lugares donde ocurre esta alta tasa de sedimentación tienden a ser de profundidades llanas, lo cual conlleva un tiempo corto de exposición del sedimento a aguas oxigenadas durante el transporte. Los altos valores de carbono para la estación 1 son causados por la naturaleza restringida de la Bahía Fosforecente y se debe señalar además que el carbono orgánico en esta área de estudio no es derivado de fuentes terrígenas (Sawyer, 1980).

La alta energía de olas en la escarpa anterior del Arrecife de Enmedio tiene una gran influencia en la cantidad de materia orgánica contenida en los sedimentos del arrecife, creando condiciones oxidantes que resultan en una baja cantidad de materia orgánica en estos sedimentos (Sawyer, 1980).

Los sedimentos del arrecife posterior de Enmedio contienen carbono orgánico en cantidades mayores que las de la escarpa anterior del arrecife. Es en este ambiente donde la integración de procesos geológicos y biológicos son tan complejos que es a menudo muy difícil determinar en estos sedimentos (Sawyer, 1980). Aunque el sistema es complejo la cantidad de materia orgánica en los sedimentos de carbono reflejan la influencia de la energía deposicional de un sistema de arrecife moderno (Sawyer, 1980).

En la correlación establecida entre el por ciento de materia orgánica y la concentración de amonio notamos también las tendencias anteriormente descritas para la actividad bacteriana en las diferentes estaciones. Nótese en la tabla 3 que la concentración de amonio para el arrecife posterior es mayor que para la escarpa anterior del arrecife, demostrando una vez más la influencia de la energía de sedimentación entre estas áreas. Los valores de la concentración de amonio en las cinco estaciones muestra el efecto de esta sedimentación manifestándose en la actividad bacteriana y por ende en la remineralización del nitrógeno en estos sedimentos marinos.

La relación de fijación de nitrógeno (C_2H_4) y la concentración de amonio a diferentes intervalos de profundidad en el sedimento marino (Figura 5), muestra claramente el efecto que tiene la concentración de amonio disuelto en la fijación de nitrógeno en este ambiente anóxico reductor. A concentraciones mayores de $200 \mu M$ de amonio, la fijación de nitrógeno es inversamente proporcional a ésta, mientras que a concentraciones por debajo de $200 \mu M$, el amonio aparentemente no limita el proceso de fijación de N_2 en estos sedimentos marinos.

Se puede inferir que la fijación de nitrógeno por medio de bacterias heterotróficas en estos sedimentos depende de la disponibilidad del ión amonio en el ambiente, ya que resulta energéticamente menos costoso para las bacterias utilizar este amonio para incorporarlo en el material celular. Una vez la cantidad de amonio en el ambiente escasea los organismos fijadores de nitrógeno hacen uso de éste (N_2) sobreponiéndose así a la limitación. El nitrógeno introducido por la fijación de nitrógeno asociado a las bacterias heterotróficas, es por lo tanto de mayor importancia para los arrecifes coralinos que para sistemas neríticos de mayor contenido orgánico. Igualmente la limitación por disponibilidad de sustrato orgánico aparenta ser un factor crítico en el control del uso de nitrógeno molecular de estos organismos en sus procesos metabólicos.

BIBLIOGRAFIA

- Berner, R.A. 1974. Kinetics models for the early diagenesis of nitrogen, sulfur, phosphorus and silicon in anoxic marine sediments: 427-449. In *The Sea*, V. 5. Marine Chemistry, E.D. Goldberg, (Ed.), John Wiley & Sons, Inc., New York. 895 p.
- Capone, D.G. 1983. Benthic nitrogen fixation: 105-137. Ch. 4, In *Nitrogen in the Marine Environment*, Academic Press. New York. 900 p.
- Carpenter, E.J. y D.G. Capone. 1983. *Nitrogen in the Marine Environment*. Academic Press. New York. 900 p.
- Corredor, J.E. 1979. Phytoplankton response to low level nutrient enrichment through upwelling in the Colombian Caribbean Basin. *Deep Sea Research.*, 26A: 731-741.
- Dalton, H. y J. R. Postgate. 1969. Growth and physiology of *Azotobacter chroococcum* in continuous culture. *J. Gen. Microbiol.*, 56: 307-319.
- Goldhaber, M.B. e I.R. Kaplan. 1974. The sulfur cycle: 569-655. In *The Sea*, V. 5, Marine Chemistry, E.D. Goldberg, (Ed.), John Wiley & Sons, Inc., New York. 895 p.
- Hardy, R.W.F. y U.D. Havelka. 1975. Nitrogen fixation research: A key to world food? *Science*, 188: 633-643.
- Hardy, R.W.F., R.O. Jackson y R.C. Burns. 1968. The acetylene-ethylene assay for N fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiol.*, 43: 1185-1207.
- Postgate, J. R. 1979. *The sulphate reducing bacteria*. Cambridge University Press, New York, 208 p.
- Sawyer III, K. C. 1980. *Preservational Patterns of Organic Material in a Carbonate Shelf Environment, Southwest Puerto Rico*. 161 pp. M.S. Thesis, Univ. Oklahoma, Norman, Ok.
- Sokal, R.R. y F.J. Rohlf. 1981. *Biometry*. 2nd. ed. W. H. Freeman and Co. San Francisco. 859 p.
- Stewart, W.D.P., G.P. Fitzgerald y R.H. Burris. 1967. *In situ* studies on N_2 fixation using the acetylene reduction technique. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 58: 2071-2078.

- Strickland, J.D.H. y T.R. Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analysis. 2nd. ed., Fish. Res. Board Can., Bull. 167, 310 p.
- Thomas, W.H. 1970. A nitrogen deficiency in tropical Pacific Ocean phytoplankton: photosynthetic parameters in poor and rich waters. *Limnol. Oceanogr.*, 15: 380-385.
- Toeriem, D.F. y B. Cavari. 1982. Effect of temperature on heterotrophic glucose uptake, mineralization, and turnover rates in lake sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43: 1-45.
- Wilson, P.W. 1940. The biochemistry of symbiotic nitrogen fixation. University of Wisconsin Press, Madison, 302 p.

Manuscrito aceptado para publicación en junio 17 de 1986

Dirección de los autores:
Departamento de Ciencias Marinas
Recinto Universitario Mayagüez
Universidad de Puerto Rico
Mayagüez 00708
Puerto Rico

