



MEXICAN STUDIES/ESTUDIOS MEXICANOS

Fijación de nitrógeno por Cyanoprokaryota en la Reserva Ecológica El Edén, Q.R., México

Rodrigo Vargas*

Eberto Novelo

Universidad Nacional Autónoma de México

Acetylene reduction assay (ARA) was applied to determine the rate of nitrogen fixation by cyanoprokaryotes in a wetland in El Edén Ecological Reserve. The data obtained throughout a hydrological cycle showed both an increase of fixed nitrogen during wet periods and an important amount of nitrogen rate produced by non-heterocytic filamentous and colonial blue-green algae. The results support the importance of the contribution of algae to nutrient balance in the wetland ecosystem.

Se realizó la prueba de reducción de acetileno para determinar la tasa de fijación de nitrógeno por cianoprocariotes en un humedal tropical de la Reserva Ecológica El Edén. Los datos obtenidos durante un ciclo hidrológico muestran tanto un incremento en el nitrógeno fijado durante el periodo de lluvias como una importante cantidad en la tasa de fijación de nitrógeno producida por algas verde-azules filamentosas no heterocitas y coloniales. Los resultados respaldan la importancia de la contribución de las algas en el balance de nutrimentos en el humedal.

La fijación de nitrógeno no simbiótica por algas cianoprocariotes (Cyanophyta—Cyanobacteria—Cyanoprokaryota) es un hecho bien es-

* Trabajo presentado en el Simposio "The Lowland Maya Area: Three Millennia at the Human-Wildland Interface" celebrado en la Universidad de California, Riverside del 18 al 20 de enero de 2001. La realización de esta investigación fue posible gracias al apoyo de UC MEXUS—CONACYT y al proyecto CONACYT 25264-N. También agradecemos al Dr. David Romero del Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno de la UNAM por su asesoría y apoyo para la utilización del cromatógrafo de gases. A la Dra. Rosaluz Tavera por su valiosa contribución y comentarios al desarrollo de este proyecto.

tablecido y la importancia de esta función en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno en los ecosistemas puede resaltarse por la cantidad de nitrógeno que este tipo de algas aportan al suelo. En condiciones de anegación, como en humedales y arrozales, el aporte de nitrógeno al ecosistema puede alcanzar hasta 76.14 nanomoles de etileno por m² por hora (nm C₂H₄ m⁻² h⁻¹) durante la estación seca (Venkatamaran 1981).

Para los humedales estacionales tropicales (no arrozales) no existen datos suficientes para comparar la eficiencia de fijación de nitrógeno por las cianoprokariotes pero se sabe que la tasa de fijación de nitrógeno es afectada, en organismos fotosintéticos, principalmente por el suplemento inadecuado de fotosintetatos al sistema de fijación de nitrógeno (Fay 1981). Factores como luz, temperatura, pH y oxígeno influyen directamente en el metabolismo de la fijación de nitrógeno y en el crecimiento de estos organismos (Stewart 1977). Así mismo, la radiación UVB afecta la productividad y disminuye la tasa de fijación de nitrógeno (Falcón-Álvarez 2000; Suresh Babu et al. 1998). Esta función la llevan a cabo organismos heterocitosos y no heterocitosos y puede observarse una separación espacial y temporal de la actividad de la enzima nitrogenasa (Bergman et al. 1997; Paerl et al. 1995; Quesada et al. 1998).

En la Reserva Ecológica El Edén existen al menos cuatro meses en los que cerca de una tercera parte de su superficie se inunda. Estas condiciones ambientales dan origen a diversos humedales en donde se desarrollan varios tipos de vegetación en un gradiente relacionado con el tiempo de permanencia de la inundación y la profundidad del agua, desde selva baja subcaducifolia hasta cuerpos de agua permanentes.

Uno de los componentes más importantes y menos conocidos de estos ecosistemas es el perifiton que crece en forma rápida y prácticamente cubre todo el suelo y las partes bajas de las plantas. El perifiton está constituido por una red de algas filamentosas y coloniales que forman una trama muy compleja. La productividad orgánica del perifiton en época de lluvias es, probablemente, la más importante de los humedales y desempeña un papel fundamental en el ciclaje de varios nutrientes (Lampert y Sommer, 1997; MacDougal et al. 1997).

Los crecimientos algales de los humedales de la Reserva Ecológica El Edén, están compuestos principalmente por algas de la división Cyanoprokaryota de tipo filamentosas y coloniales. Para evaluar cómo es la participación de estas algas en el flujo de nitrógeno en los humedales se analizó la tasa de fijación de este nutriente por estos crecimientos algales durante un ciclo sequía—anegación. Se completa el análisis con una evaluación de la composición relativa de especies heterocitosas, coloniales y no fijadoras en cada caso.

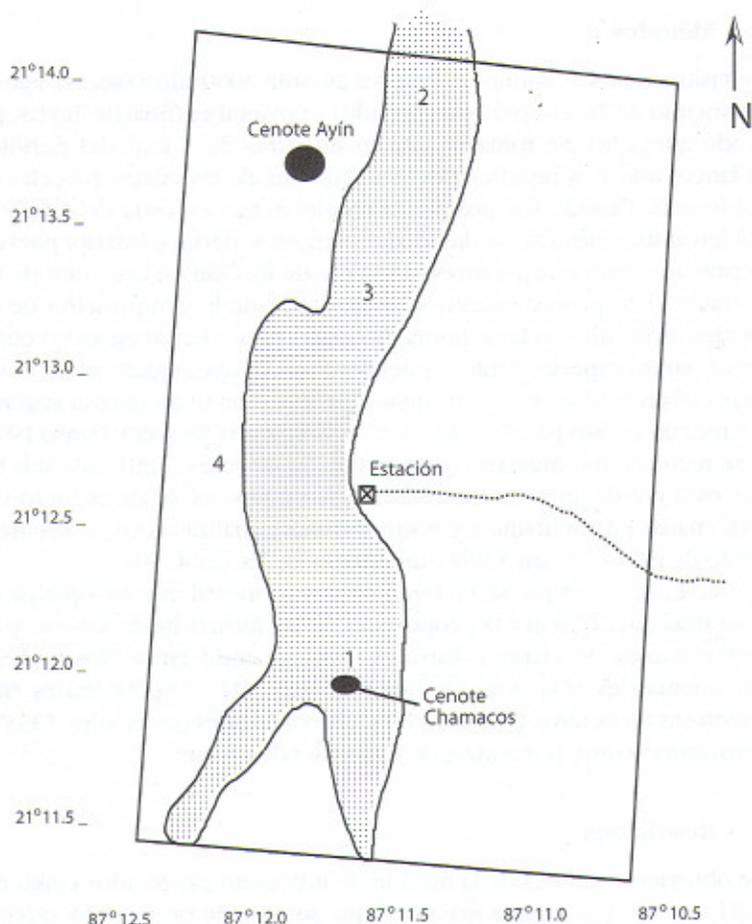


Figura 1. Localización de las parcelas estudiadas (1-4) para la evaluación de la fijación de nitrógeno. La zona sombreada señala la zona inundada.

Area de estudio

La Reserva Ecológica El Edén, Quintana Roo, es parte de la región de Yalahau al noreste de la península de Yucatán. Tiene una elevación entre 5 y 10 msnm y se localiza entre los 21°11"-21°14" N y los 87°10"-87°12" O.

Se ubicaron parcelas de estudio (P1, P2, P3 y P4) en 4 sitios de vegetación vascular característica de la Reserva (Figura 1) y en las que los crecimientos de perifiton fueron siempre evidentes como costras compactas y hojuelas subaéreas durante la sequía y como tramas compactas durante el periodo anegado.

Métodos

Se visitó en tres ocasiones la Reserva durante 2000: abril (secas), agosto (principio de lluvias, periodo anegado) y noviembre (final de lluvias, periodo anegado). Se tomaron cuatro muestras de 1 cm² del perifiton (blanco, más tres repeticiones) en cada una de las cuatro parcelas establecidas. Cuando fue posible se recolectó una muestra de agua y se hicieron submuestras dividiendo la costra en superior e inferior para determinar el porcentaje correspondiente de fijación en cada uno de los estratos. Este procedimiento se realizó porque la composición de especies varía tanto en la columna de agua (cuando hay anegación) como en el estrato superior e inferior del perifiton, lo que sugiere una división espacial en la fijación de nitrógeno. Las muestras se incubaron según la técnica de análisis para la reducción del acetileno (Weaver y Danso 1994) y se recolectaron muestras de la evolución de gases (5ml) cada seis horas para cubrir un ciclo de 24 horas. Las muestras de gases fueron almacenadas en Vacutainers y posteriormente analizadas en un cromatógrafo de gases (Varian 3300 y un integrador Varian 4290).

Al mismo tiempo, se hicieron observaciones al microscopio de las muestras para obtener la proporción de las formas heterocitosas y no heterocitosas de cianoprokariotes, distinguiendo entre Nostocales y Stigonematales (filamentosas heterocitosas, FH), Oscillatoriales (filamentosas no heterocitosas, FnoH) y Chroococcales (coloniales, Cr) y se registraron como porcentaje de cobertura de un cm².

Resultados

Se obtuvieron valores de la fijación de nitrógeno expresados como nm C₂H₄ m⁻² h⁻¹. Los valores más altos que se obtuvieron corresponden al periodo de lluvias (Cuadro 1, Figura 2). Los estratos del perifiton aportan valores de fijación que se presentan como porcentaje del total obtenido para todo el crecimiento (Cuadro 2, Figura 3). La capa superior es la que produce el aporte mayor en la reducción, aunque resalta el hecho que en la parcela que mantiene menor cantidad de agua (P3), la participación proporcional de los estratos superiores e inferiores es semejante. Los datos obtenidos del agua de las parcelas también son notables pues corroboran el hecho de la pobreza de fitoplancton en El Edén (Novelo y Tavera, en prensa). Por otra parte, los resultados de la proporción de formas de Cyanoprokaryota muestran que las parcelas con mayor tasa de fijación (P4/agosto, P2/agosto y P1/noviembre), no necesariamente corresponden con aquellas con una composición principal de formas heterocitosas, como en la parcela 1 en la que las formas de tipo oscilatoria son los principales componentes del crecimiento (Cuadro 3).

Cuadro 1. Tasa de fijación de nitrógeno, como nmoles de etileno producido por m^2 por hora en parcelas bajo estudio de la Reserva Ecológica El Edén, durante 2000.

Parcela	Secas (abril)	Lluvias (agosto)	Fin lluvias(noviembre)
P 1	2.18	9.13	31.38
P 2	0	32.61	19.09
P 3	18.03	33.9	23.7
P 4	2.57	63.94	17.14

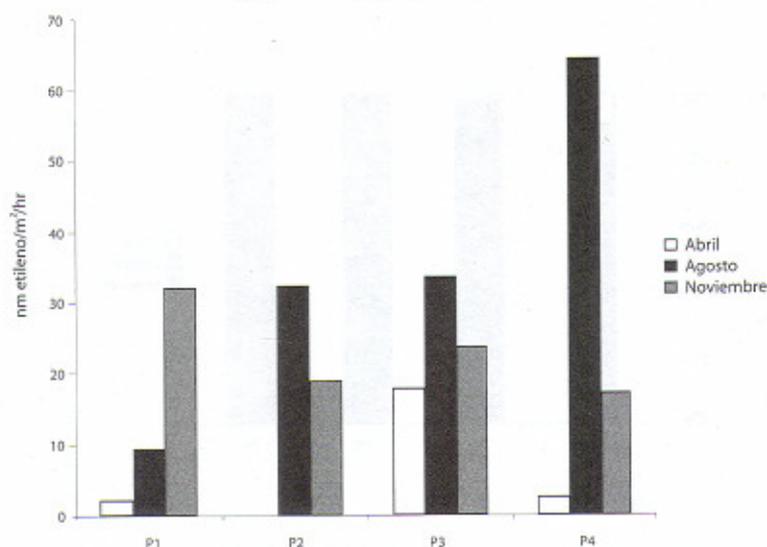


Figura 2. Comparación de la tasa de fijación de nitrógeno, en parcelas bajo estudio de la Reserva Ecológica El Edén. P1-P4 representan las parcelas estudiadas.

Cuadro 2. Porcentaje de fijación de nitrógeno por estrato de perifiton y agua en cada parcela.

Parcela	Abril			Agosto			Noviembre		
	Costra superior	Costra inferior	agua	Costra superior	Costra inferior	agua	Costra superior	Costra inferior	agua
P 1	100	0	0	100	0	0	90.96	0	9.03
P 2	0	0	0	96.0	0	4	100	0	0
P 3	33.78	66.22	0	41.49	58.51	0	50.43	49.57	0
P 4	100	0	0	66.48	33.51	0	58.14	41.89	0

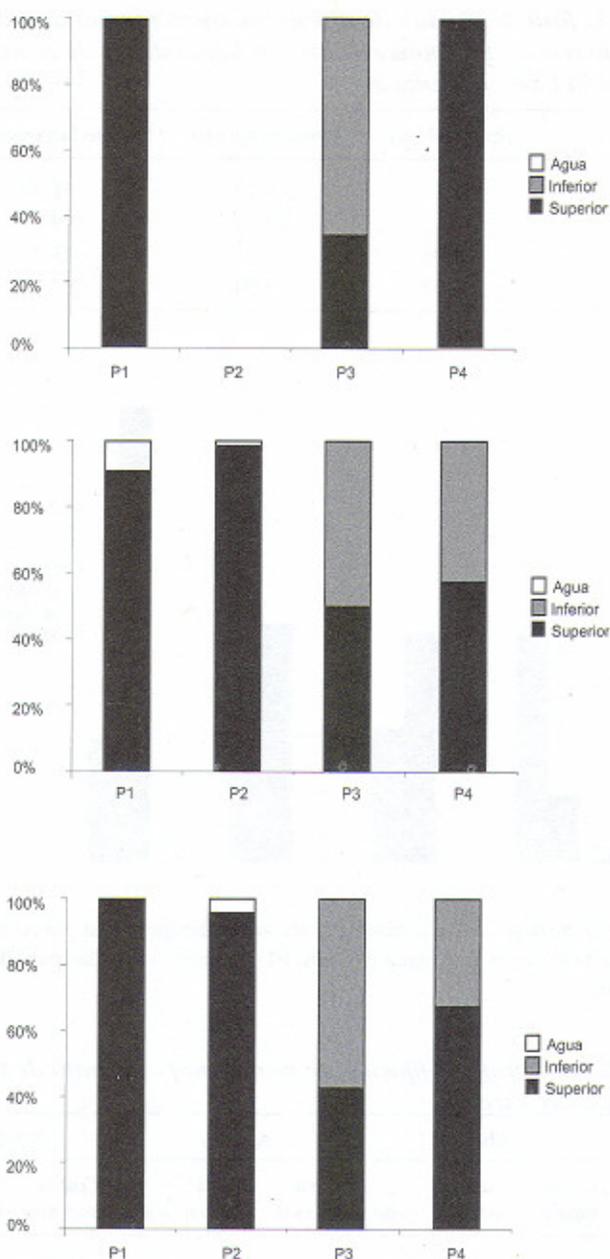


Figura 3. Comparación del porcentaje de la contribución a la fijación de nitrógeno total por cada estrato de perifiton y el agua. P1-P4 representan las parcelas estudiadas.

Cuadro 3. Composición porcentual de las formas de *Cyanoprokaryota* expresada como cobertura de un cm².

Parcela	Abril			Agosto			Noviembre		
	FH	FnoH	Cr	FH	FnoH	Cr	FH	FnoH	Cr
P 1	20-60	<5	<5	20-60	<5	<5	20-60	20-60	<5
P 2	5-20	5-20	5-20	20-60	5-20	<5	20-60	20-60	<5
P 3	5-20	<5	20-60	5-20	<5	5-20	20-60	5-20	5-20
P 4	<5	0	<5	5-20	<5	20-60	20-60	5-20	5-20

Discusión

La importancia de la fijación no simbiótica de nitrógeno en sistemas de agua dulce radica en su condición de factor limitante en muchos de estos ambientes (Wetzel 2001). Los principales componentes de la comunidad de algas del perifiton que encontramos en El Edén son las *Cyanoprokaryota*, que alcanzan cerca del 90% de la cobertura del crecimiento algal. Esta característica no es única de El Edén ya que los tapetes de cianoprokariotes son componentes importantes de los humedales oligotróficos del Caribe (Rejmánková y Komárková 2000). Las formas constitutivas, dentro de este grupo, cambian en las distintas épocas de recolección lo que podría reflejarse en la diferencia en la tasa de fijación de nitrógeno.

En El Edén, durante los periodos de sequía (marzo-mayo), el metabolismo de las algas disminuye, se forman estructuras de resistencia y se reduce la tasa de fijación de nitrógeno. Cuando comienzan las lluvias se hidrata el perifiton, el metabolismo algal se activa y se observa un aumento en la tasa de fijación de nitrógeno. En el periodo de mayor anegación es cuando se registra la mayor tasa de fijación de nitrógeno, por ejemplo en las parcelas 2, 3 y 4 en agosto y en la parcela 1 en noviembre. Cuando el nivel de agua disminuye en las parcelas 3 y 4 (noviembre) y el perifiton se encuentra como una costra humedecida, el metabolismo de la fijación disminuye. La presencia de agua, la composición de especies y el cambio en la actividad metabólica después del periodo de sequía es lo que determina el aumento en la fijación de nitrógeno en agosto. Al final de lluvias el estado metabólico del perifiton es distinto ya que aparecen estructuras de resistencia lo que implica una disminución en el metabolismo y por tanto disminuye la fijación de nitrógeno. Este ciclo concuerda con lo discutido por Fay (1981) para los ambientes con ciclos hídricos de sequía y anegación.

La fijación de nitrógeno está distribuida verticalmente en la estructura del perifiton (estratos superior e inferior) y en la mayoría de los ca-

sos existe una participación similar de cada estrato. Tomando en cuenta que la capa superior está formada principalmente por filamentos de cianoprokariotes heterocitosas y que en la inferior aparecen formas coloniales y filamentosas no heterocitosas, es notable que el aporte de estas capas inferiores sea relativamente importante. La capa superior está formada por varias especies de *Scytonema* con vainas gruesas y pigmentadas. Esta capa puede servir de filtro a las altas temperaturas, la desecación y como derivado, a mantener temperaturas relativamente menos altas. Estas condiciones favorecerían una condición de baja concentración de oxígeno en las capas inferiores y por tanto la nitrogenasa presente en las células no heterocitosas podría funcionar durante mayor tiempo. Una proporción claramente definida de algas heterocitosas en la estructura del perifiton analizado, durante el periodo de anegación (agosto—noviembre), podría servir como evidencia de que las formas no heterocitosas presentes en la parcela 3 durante todo el año, son las responsables de cerca de la mitad del nitrógeno fijado en ese lugar, sin embargo este hecho deberá ser corroborado con la evaluación de la tasa de fijación en cultivos unia-gales de cada una de las especies predominantes en el perifiton.

El Edén presenta un intervalo de fijación de nitrógeno que va desde 2.18 hasta 63.94 nm C₂H₄ m⁻² h⁻¹ a lo largo del año que puede ser comparado con la tasa de fijación registrada en los estromatolitos de Cyanoprokaryota del lago de Alchichica, Puebla, 0.24 a 25.72 nm C₂H₄ m⁻² h⁻¹ (Falcón-Alvarez 2000), con la encontrada por Stewart y colaboradores (1978) en varios hábitats de Escocia, que varía entre los 0.02 y 15.7 nm C₂H₄ m⁻² h⁻¹, con los valores registrados por Venkatamaram (1981) para los arrozales de la India (76.14 nm C₂H₄ m⁻² h⁻¹) y con los de Senegal donde la tasa de fijación varía de 0 a 60 nm C₂H₄ m⁻² h⁻¹ (Buresh et al. 1980). Esta comparación hace evidente que la producción de nitrógeno fijado por cianoprokariotes en El Edén es una de las más altas para este tipo de ecosistemas naturales.

Los datos obtenidos refuerzan la importancia del papel del perifiton en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno, en los humedales en general y en los humedales tropicales en particular, pero sobre todo aclaran el papel de las cianoprokariotes del perifiton en los humedales tropicales cársticos con suelos poco profundos, como en El Edén, donde se mantiene una comunidad vegetal muy productiva.

Referencias

- Bergman, B., J. R. Gallon, A. N. Rai, y L. J. Stal. 1997. "N₂ Fixation by Non-heterocystous Cyanobacteria," *FEMS Microbiology Reviews* 19:139-85.
- Buresh, R. J., M. E. Casselman, y W. H. Patrik. 1980. "Nitrogen Fixation in Flooded Soil Systems: A Review," en N. C. Brady, ed., *Advances in Agronomy*. New York: Academic Press. Pp. 149-92.

- Falcón-Alvarez, L. I. 2000. "Efecto de la radiación ultravioleta sobre la fijación de nitrógeno de diversos consorcios de cianobacterias en el lago cráter de Alchichica, Puebla." Tesis de Maestría en Ciencias (Biología Marina). Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Fay, P. 1981. "Photosynthetic Micro-organisms," en W. J. Broughtan, ed., *Nitrogen Fixation V. 1: Ecology*. Oxford: Calderon Press. Pp. 1-29.
- Lampert, W. y U. Sommer. 1997. *Limnoecology: The Ecology of Lakes and Streams*. New York: Oxford University Press.
- MacDougal, R. L., L. G. Goldsborough, y B. J. Hann. 1997. "Responses of a Prairie Wetland to Press and Pulse Additions of Inorganic Nitrogen and Phosphorus: Production by Planktonic and Benthic Algae," en *Archiv für Hydrobiologie* 140: 145-67.
- Novelo, E. y R. Tavera. (En prensa). "The Role of Peryphyton in the Regulation and Supply of Nutrients in a Wetland at El Edén, Quintana Roo," en A. Gómez-Pompa, M. F. Allen, y S. Feddick, eds., *Louland Maya Area: Three Millennia at the Human-Wildland Interface*. Binghamton: Haworth Press.
- Paerl, H. W., J. L. Pinckney, y S. A. Kucera. 1995. "Clarification of the Structural and Functional Roles of Heterocysts and Anoxic Microzones in the Control of Pelagic Nitrogen Fixation," *Limnology and Oceanography* 40: 634-38.
- Quesada, A. M. Nieva, F. Leganés, A. Ucha, M. Martín, C. Prospero, y E. Fernández-Valiente. 1998. "Acclimation of Cyanobacterial Communities in Rice Fields and Response of Nitrogenase Activity to Light Regime," *Microbial Ecology* 35:147-55.
- Rejmánková, E. y J. Komárková. 2000. "A Function of Cyanobacterial Mats in Phosphorus-limited Tropical Wetlands," *Hydrobiologia* 431: 135-53.
- Stewart, W. D. P. 1977. "Blue-Green Algae," en R.W. F. Hardy y W. J. Silver, eds., *A Treatise on Dinitrogen Fixation. Section III. Biology*. Chichester: John Wiley and Sons. Pp. 93-123.
- Stewart, W. D. P., M. J. Sampaio, A. O. Isichei, y R. Silvestre-Bradley. 1978. "Nitrogen Fixation by Soil Algae of Temperate and Tropical Soils," en B. Döbereiner y R. Hollaender, eds., *Limitations and Potentials for Biological Nitrogen Fixation in the Tropics*. New York: Plenum Press. Pp. 41-63.
- Suresh Babu, G., P. C. Joshi, y P. N. Viswanathan. 1998. "UVB-induced Reduction in Biomass and Overall Productivity of Cyanobacteria," *Biochemical and Biophysical Research Communications* 244: 138-142.
- Venkatamaran, G. S. 1981. *Blue-Green Algae for Rice Production: A Manual for Its Promotion*. FAO Soils Bulletin 46. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Weaver, R.W. y S. K. Danso. 1994. "Dinitrogen Fixation," en R. W. Weaver, S. Angle, P. Bottomley, D. Bezdicsek, S. Smith, A. Tabatabai, y A. Wollum, eds., *Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties*. Madison: Soil Science Society of America, Inc. Pp. 1019-45.
- Wetzel, R. G. 2001. *Limnology: Lake and River Ecosystems*. San Diego: Academic Press.