

215



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

FIJACION DE NITROGENO POR
CYANOPROKARYOTA EN LA RESERVA
ECOLOGICA EL EDEN, QUINTANA ROO. MEXICO.

T E S I S

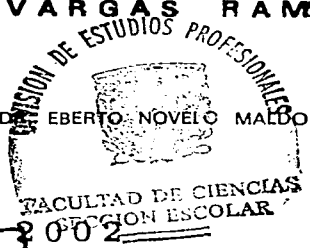
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

RODRIGO VARGAS RAMOS

DIRECTOR DE TESIS: DR. EBERTO NOVELO MALDONADO



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



SECRETARÍA NACIONAL
DE EDUCACIÓN PÚBLICA

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA

Jefa de la División de Estudios Profesionales de la

Facultad de Ciencias

Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

Fijación de Nitrógeno por Cyanoprokaryota en la Reserva Ecológica El Edén,
Quintana Roo, México.

realizado por Rodrigo Vargas Ramos

con número de cuenta 9753687-3 , quién cubrió los créditos de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

Dr. Eberto Novelo Maldonado

E. Novelo

Propietario

Dr. David Romero Camarena

[Signature]

Propietario

Dr. Enrique Cantoral Uriza

[Signature]

Suplente

Dr. Javier Carmona Jiménez

[Signature]

Suplente

Dra. Rosa Luz Tavera Sierra

[Signature]

Consejo Departamental de

Biología

FACULTAD DE CIENCIAS
U.N.A.M.

[Signature]

Dra. Patricia Ramos Morales



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGÍA

Agradecimientos

Quiero agradecer especialmente al Dr. Eberto Novelo, por la dirección de este trabajo, y a la Dra. Rosa Luz Tavera; a ellos dos, mi más profundo agradecimiento por su apoyo y confianza incondicional.

Agradezco al Dr. Arturo Gómez Pompa por su gran apoyo y a todo el personal de la Reserva Ecológica El Edén, que sin ellos, este trabajo no se hubiera realizado.

Al Dr. David Romero le agradezco sus comentarios y el uso del Cromatógrafo de Gases; de igual manera, agradezco las correcciones y comentarios del Dr. Enrique Cantoral y del Dr. Javier Carmona.

Gracias a mis compañeros de trabajo Claudia e Itzel y a todos los intergrantes del Laboratorio de Ficológia de la Facultad de Ciencias; así como a todos los profesores que de una u otra manera participaron en mi formación académica.

A mis padres y a mi hermana... gracias por su apoyo, gracias por todo y por aguantarme incluso cuando tengo hambre. A mi abuelo Rafael, al que siempre llevaré en mi corazón... "mientras viva partiré". A todos mis amigos: Alejandra, Alfredo, Alma, Amaigo, Andrea, Chango, Daniel, Deni, Diego, Elaine, Emilio, Irene, Jerónimo, Lars, Layin, Leo, Lina, Lucía, Luis, Matías, Melinda, Nico, Pablo, Paty, Paul, Pepe, Raúl C., Raúl G., Rodrigo, Santiago, Víctor y a todas las demás personas que hacen que la vida sea tan divertida.

Agradezco a UC-MEXUS- CONACYT y a PROBETEL por las becas que recibí para la realización de este trabajo, así como al Programa de Movilidad Internacional de Estudiantnes por el intercambio con la Universidad de Waterloo donde se obtuvo gran parte de la bibliografía.

**La ciencia, muchacho, está hecha de
errores, pero es bueno cometer esos errores,
ya que ellos llevan poco a poco a la verdad**
Julio Verne

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	9
1.1 Los Humedales	9
1.1.1 <i>¿Qué es un humedal?</i>	9
1.1.2 <i>Características generales de los humedales</i>	10
1.1.3 <i>Hidrología</i>	11
1.1.4 <i>Importancia y valor de los humedales</i>	12
1.2 El Perifiton	13
1.2.1 <i>Los tapetes microbianos</i>	13
1.2.2 <i>Características generales del perifiton</i>	14
1.2.3 <i>Importancia del perifiton en los humedales</i>	16
1.3 La Fijación de Nitrógeno	19
1.3.1 <i>Generalidades</i>	19
1.3.2 <i>Fijación de nitrógeno por Cyanoprokaryota</i>	19
1.3.3 <i>Heterocitos</i>	20
1.3.4 <i>Factores que afectan a la fijación de nitrógeno</i>	21
1.3.5 <i>Separación espacial y temporal de la fijación de nitrógeno</i>	22
1.3.6 <i>Liberación de nitrógeno</i>	24
2. OBJETIVOS	26
<i>Objetivo principal</i>	26
<i>Objetivos secundarios</i>	26
3. AREA DE ESTUDIO	27
4. MÉTODOS	29
5. RESULTADOS	33
5.1 Características generales del perifiton de El Edén	33
5.1.1 <i>Parcela 1</i>	35
5.1.2 <i>Parcela 2</i>	38
5.1.3 <i>Parcela 3</i>	40
5.1.4 <i>Parcela 4</i>	43
5.2 Fijación de Nitrógeno	46
6. DISCUSIÓN	52
6.1 <i>Composición y estructura del perifiton</i>	52
6.2 <i>La fijación de nitrógeno</i>	57

6.2.1 Distribución vertical de la fijación de nitrógeno.....	60
6.2.2 La fijación de nitrógeno en periodos de 2-4 horas.....	61
6.2.3 Comparación de los valores de la fijación de nitrógeno en El Edén....	63
6.2.4 El perifiton como bioindicador.....	65
7. CONCLUSIONES.....	66
7.1 Perspectivas.....	67
8. BIBLIOGRAFÍA.....	69

PROLOGO

Existen pocos trabajos sobre humedales tropicales de nuestro país y la fijación biológica del nitrógeno por Cyanoprokaryota en humedales tropicales de agua dulce (a excepción de los arrozales) ha sido poco estudiada. Este es un trabajo pionero en la fijación de nitrógeno por Cyanoprokaryota en humedales mexicanos de la Península de Yucatán; la Reserva Ecológica El Edén es un humedal tropical de agua dulce en el cual se realizó este trabajo que pretende ser un avance en el estudio de los humedales tropicales y trata de resaltar las cualidades del perifiton en el ciclo de nutrientes (en particular en la fijación de nitrógeno). Se describen la importancia y características de los humedales y el perifiton abarcando temas generales importantes para lograr una mejor discusión sobre la fijación de nitrógeno por Cyanoprokaryota en este humedal tropical. Este estudio propone un análisis de las tasas de fijación de nitrógeno por Cyanoprokaryota en un ciclo de 24 horas a lo largo de distintas temporadas. Nos interesa conocer estas tasas para comparar la diferencia que existe entre las temporadas y relacionarla con valores de biomasa, composición y estructura del perifiton. Se pretende que los datos sean utilizados como una medida de evaluación de las condiciones ecológicas actuales del ecosistema y como indicadores en los éxitos de restauración ecológica utilizando al perifiton como indicador biológico en proyectos de restauración y conservación en este humedal.

El estudio de los humedales es importante ya que éstos se han destruido y drenado a lo largo del tiempo; sin embargo, muchas culturas han aprendido a vivir en armonía con los humedales y se han beneficiado económicamente de ellos (Nicholas 1998). Los antiguos babilonios, egipcios y los aztecas desarrollaron sistemas especializados para la canalización del agua de los humedales de su entorno.

La Ciudad de México, es un ejemplo típico de un humedal/lago que desapareció durante los últimos 400 años como resultado de la influencia humana; otras zonas que se utilizaron en la agricultura de la época prehispánica son los humedales de la costa de Veracruz y los de la Península de Yucatán (Siemens et al. 1988). La selva baja inundable en la Península de Yucatán ha jugado históricamente un papel económico, debido a la gran abundancia en estas comunidades del árbol "palo de tinte", *Haematoxylon campechianum*

L., el cual ya desde la época prehispánica se utilizaba para teñir telas y prendas de vestir. Durante la colonia su importancia se acrecentó y se hizo una explotación masiva de éste.

Históricamente el drenaje de los humedales ha sido el factor más importante en la pérdida de ellos en Canadá, los Estados Unidos y México. La idea de convertir tierras improductivas en tierras cultivadas, provocó que se dragaran muchos de estos sitios. La construcción de presas, canales de agua y estructuras de control de inundaciones han tenido gran impacto en estos ecosistemas al alterar las condiciones hídricas y la captación de sedimentos que estaban en posibilidad de regular. De modo que ahora, tenemos sitios con poca capacidad de brindar servicios, ya sea por el cambio en su hidrología, el aporte excesivo de sedimentos o la destrucción de ellos mismos.

México cuenta con un territorio de 1,972,355 km², que se distribuyen más o menos equitativamente a ambos lados del Trópico de Cáncer. Participa en las regiones biogeográficas Neartica y Neotropical, dando lugar a una gran diversidad tanto de elementos faunísticos como florísticos y es considerado como un "hot spot" de biodiversidad (Cox & Moore 2000). A lo largo de los 9,660 Km. de costas, podemos encontrar valiosos humedales como las lagunas de Guerrero Negro, Ojo de Liebre y la Laguna de Términos con el complejo de los ríos Usumacinta y Grijalva, Sian Ka'an, Cuatro Ciénegas, Marismas Nacionales, Humedales del Delta del Río Colorado, Reserva de la Biosfera La Encrucijada, Pantanos de Centla, Ría Lagartos (estos seis últimos reconocidos como sitios Ramsar¹), en donde factores hidrológicos, geomorfológicos y bióticos dan características particulares a cada uno de ellos (Olmsted 1993). Lamentablemente, no se han descrito los humedales mexicanos ni existe un sistema de clasificación; sin embargo, existe un buen inventario de los humedales de la región neotropical compilado por Scott y Carbonell (1986) donde destaca la falta de protección en estas áreas.

Cabe mencionar que la deforestación, la búsqueda de nuevas áreas de cultivo, las refinerías petroleras y el establecimiento de industrias, junto con los desarrollos turísticos en los últimos 100 años, han reducido, contaminado o afectado a los humedales en el país. Es alarmante que cerca del 70% del territorio nacional sufre algún grado de desertificación y más del 50% de la cubierta original del país se ha perdido, lo que ha

¹ Convención celebrada en Ramsar. Irán en 1971 para la protección de los humedales.

provocado la reducción drástica del hábitat (INE-SEMARNAP 1997). Las necesidades de la agricultura, industria y de las grandes urbes, han hecho que por un lado se dessequen los ríos y lagos, mientras que por el otro se hayan creado áreas artificiales para almacenar agua, modificando el cauce de los ríos, niveles freáticos y los ritmos de las inundaciones. En México la mayor presión sobre los humedales la generan la agricultura, que ha causado el drenaje de extensas áreas en las costas del Pacífico y el Golfo, y la ganadería, que es la principal causa de destrucción de humedales en Tabasco y Campeche al establecer nuevas áreas de pastoreo (Olmsted 1993). La construcción de oleoductos y gasoductos en grandes áreas de humedales se ha mantenido justificada por las necesidades económicas del país, sin considerar al ambiente y con un total desconocimiento de los valores ecológicos de los ecosistemas en los cuales se desarrolla (Scott & Carbonell 1986).

Actualmente existen esfuerzos en los planes de manejo de las reservas que establecen estrategias para las actividades petroleras dentro de ellas; tal es el caso de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla (INE-SEMARNAP 2000). Así mismo, existen proyectos como la recuperación del Lago de Texcoco, la Reserva Ecológica El Edén en Quintana Roo, el proyecto de protección del delta Usumacinta-Grijalva en Tabasco, Sian Ka'an, y el establecimiento de la estación de campo del Instituto del Medio Ambiente y Desarrollo Sustentable de Sonora (IMADES) en el Golfo de Santa Clara para estudiar el delta del Río Colorado. Sin embargo, hace falta el reconocimiento por parte de las naciones, de los beneficios de los humedales en el control de la contaminación y aprender a utilizarlos de una forma sustentable, especialmente en los trópicos (Tundisi 1994; Denny 1997).

En los últimos años los humedales se han convertido en la *cause célèbre* para personas y organizaciones preocupadas por la conservación en todo el mundo. En parte se debe a que los humedales han desaparecido a un ritmo alarmante y a que su desaparición representa una pérdida y cambio de áreas naturales en pro del "desarrollo" económico. Para detener su destrucción, mitigar el daño o restaurarlos, se debe enfocar la investigación para entender a los humedales como sistemas funcionales quienes proveen de servicios a la sociedad.

Cabe mencionar que cerca del 75% de la tierra en donde se cultiva arroz son humedales donde existe una inundación durante parte o todo el periodo de siembra y son

una fuente de comida que alimenta a más del 40% de la población humana (Westermann 1993). Con el crecimiento acelerado de la población, se necesitarán cerca de 770 millones de toneladas de arroz para el 2020 y esto requiere un aumento de la producción sin una expansión mayor del área cultivada en la actualidad (Roger & Ladha 1992). En muchos países del Este los agricultores no fertilizan sus suelos y el nitrógeno es fijado por cyanoprokaryotas; como es el caso de los arrozales en la India, donde cerca del 70% de las especies de algas son Cyanoprokaryota (Meeting et al. 1988). De ahí la importancia de trabajar con este tipo de organismos para buscar soluciones alternas en los sistemas de cultivo, especialmente en países de Asia y América Latina (Lang 1996).

I. INTRODUCCIÓN

1.4 Los Humedales

1.1.1 ¿Qué es un humedal?

Los humedales cubren un área entre el 4 y 6 % (7 a 9 millones de km²) de la Tierra. Se encuentran en regiones húmedas y frías, a lo largo de ríos, lagos y líneas de costa, así como en deltas de ríos y en regiones templadas, subtropicales, tropicales e incluso en zonas áridas. Se encuentran en todos los continentes excepto en la Antártida y en todos los climas desde los tropicales hasta la tundra y se considera que el 56% de ellos se encuentran en las regiones tropicales (2.6 millones de km²) y subtropicales (2.1 millones de km²) manteniendo una alta relación de especies en comparación con el área que ocupan (Mitsch et al. 1994; Mitsch & Gosselink 2000a).

El término humedal comenzó a ser popular a principios de los setenta, a partir de la convención en Ramsar, Irán y fue rápidamente aceptado. A partir de entonces han surgido varias definiciones, algunas muy amplias y otras muy limitadas. No es fácil definir a los humedales porque tienen un rango considerable de condiciones hidrológicas: son ecosistemas de transición, tanto estructurales como funcionales, entre ecosistemas terrestres bien definidos y ecosistemas de aguas profundas; tienen grandes variaciones en tamaño, ubicación, tipo y grado de influencia humana. Sin embargo, son ecosistemas únicos y distintos de los ecosistemas acuáticos y terrestres que los rodean (Kadlec & Knight 1996; Mitsch & Gosselink 2000a).

Otra dificultad para definir a los humedales surge cuando el nivel de agua varía considerablemente en periodos cortos. Se pueden encontrar lugares donde existe un estancamiento de agua prolongado, inundación sólo en breves periodos de una temporada, no tener inundación en ciertos años, o como en ambientes desérticos la sequía puede ser aun mayor. El término técnico de humedal incluye un amplio rango de ecosistemas que varían desde áreas que jamás se inundan, hasta áreas con inundaciones profundas y prolongadas. Las áreas que jamás se inundan siguen siendo consideradas humedales, debido a las condiciones de saturación del suelo, donde el agua está en o bajo la superficie en alguna época del año y afecta las condiciones fisicoquímicas del suelo y la composición

de la biota (Kadlec & Knight 1996; Warner 1998; Tiner 1999). Es el periodo de humedad, no el de sequía, lo que determina si un sitio es o no un humedal, al favorecer la preponderancia de especies de plantas y animales características de humedales (Hejný & Segal 1998; Tiner 1999).

Para este trabajo he adoptado la definición que fue desarrollada por el comité de expertos en humedales dentro del "National Research Council" (1995:59). *"Un humedal es un ecosistema que depende de una inundación o saturación somera, constante o recurrente, en la superficie del sustrato o en su cercanía. Las características mínimas esenciales de un humedal son la recurrente y prolongada inundación o saturación en o cerca de la superficie; y la presencia de características físicas, químicas y biológicas como resultado de una inundación o saturación recurrente. Características de diagnóstico comunes de los humedales son suelos hídricos y vegetación hidrofítica. Estas características se hallarán siempre presentes excepto en donde factores fisicoquímicos, bióticos o antropogénicos las hayan eliminado o eviten su desarrollo"*.

En México no existe una definición científica que abarque el amplio espectro de humedales que encontramos en nuestro país. Warner (1998) recomienda contemplar alguno o algunos de los aspectos de las definiciones de los humedales de Canadá y los Estados Unidos ya que sería de esperar que muchos de los humedales mexicanos compartan características ya reconocidas en estas definiciones.

Para reconocer un humedal se necesitan conocimientos sobre hidrología, sobre las especies de plantas y el tipo de suelos que se pueden encontrar. Se deben incluir tres atributos clave: 1) la hidrología en el grado de inundación o saturación del suelo, 2) la vegetación adaptada a las condiciones de anegación del humedal (hidrofitas) y 3) las características únicas de suelos hídricos diferentes a los de las tierras altas adyacentes (Tiner 1999; Mitsch & Gosselink 2000a).

1.1.2 Características generales de los humedales

En los humedales existe una fuerte correlación entre los factores climáticos, especialmente la precipitación, la humedad del aire y los cambios naturales del nivel del agua. Estas fluctuaciones en el nivel del agua varían fuertemente entre los diferentes tipos de humedales y sus efectos en la vegetación son, en general, mucho más fuertes en climas

secos y cálidos que en climas templados y húmedos, donde la evaporación y la mineralización son más lentas y la formación de turba es más rápida.

Se pueden identificar ciertas características de diagnóstico generales de los humedales, que no son obligatorias, pero describen a una gran variedad de ellos.

- se distinguen por la presencia de agua
- aunque el agua está presente al menos parte del tiempo, la duración y profundidad de la anegación varían considerablemente de humedal a humedal
- tienen suelos que difieren de aquellos de las tierras adyacentes
- mantienen vegetación hidrofítica adaptada a condiciones de humedad e inundación
- los humedales varían ampliamente en superficie y profundidad
- se encuentran generalmente en los márgenes entre aguas profundas y tierras altas y están influidos por ambos sistemas
- las localidades de los humedales varían enormemente, desde continentales a costeros y de rurales a urbanos.

1.1.3 Hidrología

Debido a que los humedales son sistemas intermedios entre terrestres y acuáticos dependen íntimamente de los patrones hidrológicos y por lo tanto son muy sensibles en su hidrología (Kusler et al. 1994). Ésta, por su naturaleza dinámica, varía anualmente, temporalmente y diariamente entre humedales y de región en región. Esto crea condiciones fisicoquímicas especiales y únicas para hacer diferente a este ecosistema de aquellos sistemas terrestres bien drenados y de los de aguas profundas. La duración, frecuencia de la inundación y profundidad generan condiciones bioquímicas especiales en estos suelos y son factores de selección de la biota en los humedales (Hammer 1992; Mitsch & Gosselink 2000a).

La hidrología influye directamente en la productividad al controlar el ciclo de nutrientes, su disponibilidad, la importación y exportación de ellos. La inundación elimina virtualmente el intercambio gaseoso entre el suelo y la atmósfera; el suplemento de oxígeno en el suelo es rápidamente agotado por la respiración microbiana (Tiner 1999). Las inundaciones son importantes especialmente por mantener la fertilidad del nitrógeno en el suelo, ya que crea condiciones anaerobias a unos milímetros bajo la superficie de éste y bajo estas condiciones, la fijación biológica del nitrógeno es considerada la responsable del mantenimiento de la fertilidad del mismo (Roger & Ladha 1992; Roger 1996). La sequía y oxidación periódica regresa estas sustancias a la columna de agua y cerca de la superficie

del sustrato, dando como resultado una respuesta de crecimiento explosivo en plantas y animales (Hammer 1992).

En humedales mexicanos, como es el caso de la Reserva de Sian Ka'an en Quintana Roo, se ha reconocido la importancia de los patrones hidrológicos y se les ha relacionado como una fuerte presión de selección en la vegetación (Olmsted & Durán 1986).

1.1.4 Importancia y valor de los humedales

Bajo un esquema podemos reconocer que los lugares pantanosos del Periodo Carbonífero son los que preservaron y produjeron muchos de los combustibles fósiles de los que ahora dependemos. A una escala temporal menor, los humedales nos brindan importantes beneficios como sitios de captura de distintas sustancias y transformadores de una multitud de materiales químicos y físicos. De ahí que los humedales sean considerados los "riñones del medio ambiente" por las funciones que hacen en los ciclos hidrológicos y químicos (Mitsch & Gosselink 1986).

Los humedales son sitios de gran productividad ya que reciben, mantienen y reciclan continuamente nutrientes lavados de regiones altas. Estos nutrientes mantienen una abundante vegetación micro y macroscópica que convierte sustancias químicas inorgánicas (directa o indirectamente) en alimento para animales, incluyendo al hombre: la producción promedio anual en los humedales es de $1125 \text{ g C m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ (Mitsch et al. 1994).

Los beneficios que nos brindan los humedales han sido descritos con anterioridad y en mayor detalle por varios autores (Hammer 1992; Kadlec & Knight 1996; Haslam et al. 1998; Mitsch & Gosselink 2000a; Mitsch & Gosselink 2000b), sin embargo, enlisto los que considero como los más importantes:

- Control de sedimentos y erosión
- Control de inundaciones
- Mantenimiento de la calidad del agua y abatimiento de la contaminación
- Mantenimiento y suministro del agua de la superficie y del subsuelo, además de ser sitios de abastecimiento de agua para varias poblaciones humanas
- Mantenimiento de la pesca, el pastoreo y la agricultura
- Proveen hábitats para microorganismos, invertebrados, vertebrados y plantas micro y macroscópicas propias y migrantes
- Contribuyen a la estabilidad climática
- Son un filtro para las aguas costeras

- Protección contra tormentas y huracanes, así como evitar la erosión por las olas en sistemas costeros
- Generación de suelos
- Son centros importantes de ciclos biogeoquímicos en el almacenamiento de carbono, nitrógeno, azufre y hierro, en relación con el área que ocupan en la Tierra.
- En ellos se encuentran sitios arqueológicos que fueron utilizados por culturas antiguas
- Recreación para pesca, caza y observación de la naturaleza, así como sitios de ecoturismo
- Son sitios para la educación e investigación

La valoración de los servicios que nos brindan los humedales es complicada por la dificultad al compararlos con sistemas económicos creados por la sociedad humana. El término *valor* impone una orientación antropogénica a la discusión de los humedales. Este término es comúnmente usado dentro de un sentido ecológico para referirse a procesos funcionales, pero dentro del vocabulario común, la palabra denota importancia, deseo y utilidad para los humanos. De modo que los humedales han sido protegidos legalmente por su valor a la sociedad y no por los importantes procesos ecológicos que ocurren en ellos (Mitsch & Gosselink 2000b). Vale la pena enfatizar que las estructuras sociales, económicas y físicas creadas por el ser humano son elementos que constantemente interactúan con los ecosistemas. El hecho de que los humanos y la naturaleza sean inseparables y el aparente incremento en la influencia humana sobre los ambientes físicos y biológicos, hace reflexionar sobre los vínculos entre ecosistemas y humanos como parte indispensable en una perspectiva institucional (sociedad-naturaleza) del medio ambiente (Söderqvist et al. 2000).

1.5 El Perifiton

1.2.1 Los tapetes microbianos

En general el perifiton puede ser considerado como un tapete microbiano, y presenta varias características típicas de ellos. Los tapetes microbianos, son en términos generales, comunidades con múltiples capas de microorganismos donde comúnmente se encuentran cyanoprokaryotas (Stal et al. 1984). La temperatura y la radiación UV juegan un papel muy importante para determinar la estratificación dentro de un tapete microbiano (Hillebrand

1983). Se ha demostrado que la radiación UVB tiene efectos drásticos en la producción de biomasa, la tasa fotosintética y en la fijación de nitrógeno (Babu et al. 1998). En los tapetes microbianos, las cyanoprocaryotas se encuentran en la capa superior ya que necesitan la luz para la fotosíntesis y son organismos esencialmente aerobios. Esta capa de cyanoprocaryotas puede estar cubierta de una capa de arena o sedimentos o por una capa mucilaginosa con pigmentos como la escytonemina. Esta es producida por tapetes microbianos que están expuestos a altas intensidades de luz y ocurre predominantemente en las láminas de polisacáridos extracelulares. La escytonemina es un filtro que acumulan las cyanoprocaryotas y absorbe parte de la radiación solar cercana a la UV (370-384 nm) sirviendo como protector solar (García-Pichel & Castenholz 1991). Los bosques tropicales, las comunidades planctónicas en lagos estratificados y los tapetes microbianos, son considerados formas análogas en la estratificación de organismos para la utilización de la luz (Guerrero & Mas 1989).

Los tapetes microbianos se pueden encontrar en varios lugares como son las áreas costeras, hipersalinas, zonas termales y sistemas terrestres. La desecación es un factor que controla el desarrollo de tapetes microbianos, en donde las cubiertas de polisacáridos juegan un papel importante. Se ha demostrado que después de rehumedecerse la actividad metabólica se regenera inmediatamente (Stewart et al. 1978). Los tapetes en los que dominan las cyanoprocaryotas son abundantes en aguas con pocos nutrientes ya que estos organismos son capaces de utilizar nutrientes del sustrato además de su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Wetzel 1996).

1.2.2 Características generales del perifiton

El término perifiton, empleado en su forma más general, se refiere a todos los microorganismos acuáticos que crecen fijos a un sustrato natural o artificial sumergido (Vymazal 1995); cabe mencionar que existe mucha discusión y controversia sobre este término en la literatura. Otra definición se refiere a sólo aquellos crecimientos reunidos entre macrofitas, con una cercanía estructural bien definida y hace referencia generalmente a la microflora, dejando a un lado a las algas macroscópicas (Stevenson 1996). Sin embargo, el perifiton es definido por lo general, como la comunidad de todos los organismos que viven sobre la superficie de objetos sumergidos en el agua. En una escala

microscópica, el perifiton actúa como una interfase entre el sustrato y el agua que lo rodea y generalmente se encuentra en la zona fótica de la parte anegada (Wetzel 1983).

Se pueden definir otros crecimientos como epipelon (si yace sobre el sustrato), plocon (semiplanctónicos o semiepipélicos sobrepuestos al sedimento con capacidad de desprenderse y flotar), epifiton, edafon o bentos (pertenecen al rizobentos) y metafiton (si genera crecimientos que flotan en la superficie) (Robinson et al. 1997).

Se reconoce que dentro del perifiton existen células empaquetadas junto con el sustrato que proveen hábitat y nutrición para otros organismos, estabilizan el sustrato y crean su propio microambiente (Stevenson 1996). El perifiton tiene un gran valor como hábitat, fuente alimenticia (Lamberti 1996; Steinman 1996) y de oxígeno, además contribuye a mantener los niveles de fósforo en el ecosistema (Carlton & Wetzel 1988; McCormick et al. 1998; Novelo & Tavera en prensa).

El perifiton de El Edén presenta una estructura laminada en donde ocurren diferentes grupos funcionales de microorganismos, esta es una propiedad típica de los tapetes microbianos (D'Antoni D'Amelio et al. 1989). Existen grupos de algas que son característicos de ciertas épocas del año. Se ha sugerido que existe una relación entre la composición de especies de la comunidad del perifiton con los nutrientes disponibles, luz, el tipo de sustrato y la herbivoría (Roos 1983) y la combinación de estos factores hace que la comunidad del perifiton no sea homogénea. Goldsborough y Robinson (1996) establecieron un modelo conceptual de algas en humedales, donde reconocen cuatro estados principales: seco, abierto, protegido y de lago; Novelo y Tavera (en prensa) han modificado este modelo para el caso particular del perifiton en El Edén.

En México se ha reportado la presencia de perifiton en selva baja inundable en la Reserva de Sian Ka'an asociado a áreas bajas, geológicamente jóvenes con fluctuaciones de anegación y sequía; se le ha encontrado relacionado con suelo con un alto grado de carbonato de calcio, pobre en nutrientes y en drenaje (Olmsted & Durán 1986).

El perifiton de El Edén esta compuesto en su mayoría por algas de la división Cyanoprokaryota. Estos son procariontes fotótrofos oxigénicos que contienen clorofila a, ficobiliproteínas y glucógeno; presentan formas filamentosas heterocíticas, no heterocíticas,

unicelulares o coloniales (Madigan et al. 1997; Prescott et al. 1999). Realizan fotosíntesis oxigénica usando agua como donador de electrones, luz como fuente de energía y CO₂ como fuente de carbono; algunos pueden realizar fotosíntesis anaerobia usando H₂S (Cohen 1989; Rowell & Kerby 1991). Varias especies fijan nitrógeno atmosférico aeróbicamente mientras simultáneamente se desarrolla O₂ fotosintéticamente (Bergman et al. 1997).

La pared celular tiene peptidoglicanos, que constituyen cerca del 50% del peso seco, como mayor componente en lugar de celulosa y es similar a la de las eubacterias. Su pared celular está compuesta de cuatro capas, las dos primeras son iguales en todos los grupos de cyanoprocariotas pero la última depende de factores ambientales y de la cantidad de mucilago secretado (Lee 1999). El mucilago que se encuentra en la parte más externa, previene la desecación y une grupos de células o filamentos y está constituido principalmente por mucopolisacáridos (Bold & Wynne 1985).

Las cyanoprocariotas toleran una gran amplia gama de medios, son exitosas en altas o bajas temperaturas, en ambientes hipersalinos y toleran desecación y tienen un amplio espectro de capacidades metabólicas que les permiten proliferar en las condiciones fluctuantes del ambiente (Madigan et al. 1997; Prescott et al. 1999). Pueden habitar en suelo, agua dulce o marina. Las cyanoprocariotas terrestres pueden crecer sobre piedras y suelo formando crecimientos que se desarrollan cuando hay agua disponible.

1.2.3 Importancia del perifiton en los humedales

En los trópicos la temperatura y la irradiación son factores relativamente constantes y los tapetes microbianos están adaptados a la desecación y a la alta irradiación; por lo tanto, la disponibilidad de nutrientes se convierte en el factor limitante para la producción primaria.

A pesar de que son escasos los estudios de perifiton en humedales tropicales existe la evidencia suficiente que indica que el perifiton puede contribuir significativamente a las funciones clave en los humedales como es la productividad primaria y el ciclo de nutrientes (Goldsborough & Robinson 1996; Lampert & Sommer 1997; MacDougal et al. 1997; Robinson et al. 1997; McCormick et al. 1998; Rejmánková & Komárková 2000).

La luz y los nutrientes afectan la composición taxonómica y forma de crecimiento del perifiton (Bourassa & Cattaneo 2000; Rosemond et al. 2000). El perifiton funciona como modulador químico, al transformar sustancias químicas inorgánicas a formas

orgánicas; un ejemplo es la conversión del N_2 atmosférico a NH_3 y amino ácidos por cyanoprocaryotas que pueden generar una alta productividad primaria en hábitats con bajo contenido de nitrógeno (Stevenson 1996). El perifiton, así mismo, actúa en la transferencia de carbono orgánico y fósforo involucrados en los humedales (Vymazal 1995).

El patrón espacial del perifiton influye fuertemente en la distribución de nutrientes. El perifiton juega un papel muy importante en la disponibilidad de nutrientes ya que regula el paso entre los sedimentos y la columna de agua y las comunidades de macrofitas y heterótrofos dependen de esta regulación. En humedales templados el perifiton retiene los nutrientes durante la época de crecimiento y los libera después de la temporada de crecimiento y por lo tanto cambia la distribución de los nutrientes en el humedal (McCormick & Stevenson 1998; Wu & Mitsch 1998).

El metabolismo del perifiton es complejo y está poco estudiado en los humedales tropicales de agua dulce. La actividad metabólica de los microorganismos en los tapetes microbianos resulta en un gradiente fisicoquímico en donde se ven envueltos la luz, oxígeno, sulfuros, dióxido de carbono, pH y estos gradientes pueden variar marcadamente en un ciclo de 24 hr (Stal 2000).

Las cyanoprocaryotas son los principales productores primarios en la mayoría de tapetes microbianos y los enriquecen con materia orgánica. La fijación de CO_2 resulta en la formación de biomasa estructural en las cyanoprocaryotas y esta materia orgánica puede quedar disponible a otros organismos por medio de la muerte y la subsiguiente lisis celular.

Muchas de las estimaciones de productividad primaria en humedales han sido basadas únicamente en el crecimiento y producción de biomasa de macrofitas (Mitsch & Gosselink 2000a); este cálculo ha subestimado la productividad primaria total en humedales por no haber tomado en cuenta el significativo potencial de la fotosíntesis de algas (Stal 2000).

La materia orgánica producida por la fotosíntesis parece ser reciclada inmediatamente en muchos tapetes microbianos y el crecimiento neto es virtualmente ausente (Nold & Ward 1996). Sin embargo, cuando el crecimiento ocurre temporalmente un nuevo tapete puede crecer sobre otro resultando en una laminación que representa las diferentes temporadas de crecimiento (Stal 2000).

La poca profundidad del agua en los humedales resulta en una gran resuspensión de sedimentos por el viento y puede ocasionar turbiedad al mezclar la columna de agua. La prolongada estratificación térmica ocurre raramente y por consiguiente los nutrientes disueltos y particulados se distribuyen en toda la columna de agua (Goldsborough & Robinson 1996). El movimiento del agua puede tener efectos positivos (como el incremento en la difusión de nutrientes al perifiton) o negativos (aumento de la turbiedad) (Borchardt 1996).

La temperatura de las células del perifiton puede ser influenciada directamente por la radiación solar, particularmente en aguas claras y someras donde las longitudes de onda infrarrojas son transmitidas. Sin embargo, la temperatura de las células son determinadas por la conducción o convección de la transferencia del calor del agua que las rodea. En bosques deciduos los cambios en la temperatura pueden variar debido a los cambios temporales en la cobertura de las plantas. Los tapetes microbianos que flotan, rápidamente disminuyen la luz, el oxígeno y la temperatura bajo ellos (Robinson et al. 1997). Por otro lado, cuando los tapetes están directamente sobre el suelo, pueden aumentar la temperatura de éste lo que incrementa la actividad metabólica en la época del año en donde la humedad está mas disponible.

La desecación y la vida durante un bajo potencial de agua son factores que controlan el desarrollo del perifiton y las cubiertas de polisacáridos de las cyanoprokaryotas juegan un papel importante en estos ambientes. Éstas los protegen de la desecación y las substancias poliméricas extracelulares producen una matriz que estabiliza sedimentos (Stal 2000), mejorando las condiciones del suelo (Metting et al. 1988; Albrecht 1998; Whitton 2000). Los tapetes microbianos reducen la erosión, reducen la pérdida de agua por evaporación y guardan agua (Albrecht 1998; Mandal et al. 1999; de Winder et al. 1989). Por sus propiedades como mejoradores de suelo y su participación en los ciclos del fósforo y el nitrógeno, varios autores han mencionado el uso de los cyanoprokaryotes como biofertilizante (App et al. 1980; Postgate 1982; Hillebrand 1983; App et al. 1986; Metting et al. 1988; Kannaiyan et al. 1997; Mandal et al. 1999; Whitton 2000).

1.6 La Fijación de Nitrógeno

1.3.1 Generalidades

La mayoría del nitrógeno que se encuentra en la atmósfera lo encontramos en su forma diatómica (N_2) y representa el 77% de los gases que la constituyen y sólo los organismos fijadores de nitrógeno o diazotófos son capaces de utilizar el N_2 (Odum 1989). El N_2 es la forma del nitrógeno más abundante en lagos de agua dulce, con una solubilidad aproximada de 15-20 mg/l (Vymazal 1995). Diversos estudios (Wetzel 1975; Whitton & Carr 1982) demuestran que el nitrógeno se encuentra disuelto en ecosistemas de agua dulce (principalmente lagos) en varias formas: como N_2 , compuestos de amino ácidos, aminas y proteínas, compuestos húmicos, en forma de amonio, nitratos y nitritos.

La disponibilidad de nitrógeno ha sido identificada en muchas instancias como el factor limitante de la productividad en hábitats naturales (Borchardt 1996). Sin embargo, se reconoce que el nitrógeno no es el nutriente limitante para organismos de agua dulce y su concentración en el agua está menos ligada al estado trófico del lago como es el fósforo (Howarth & Marino 1988); esto significa que un lago oligotrófico no necesariamente tiene niveles bajos de nitrógeno. En algunos lagos donde la concentración de fósforo es muy elevada, el nitrógeno se vuelve el nutriente limitante para el crecimiento algal por lo tanto, se puede decir que el nitrógeno y el fósforo son los componentes más limitantes e importantes (Westermann 1993). Por lo general las cyanoprokaryotas pueden utilizar nitrato y amonio como la única fuente de nitrógeno para su crecimiento y pueden tener la habilidad adicional de fijar nitrógeno (Guerrero & Lara 1987).

1.3.2 Fijación de nitrógeno por *Cyanoprokaryota*

En la fijación de nitrógeno, el N_2 es reducido a amonio en células de cyanoprokaryotas por medio de la enzima nitrogenasa, la cual esta compuesta por dos proteínas: la ferroproteína con hierro y la molibdeno-ferroproteína con molibdeno (o vanadio) y hierro (Paerl et al. 1981; Howard & Rees 1996; Attridge & Rowell 1997). La actividad de la nitrogenasa es catalizada por la hidrólisis de ATP (Bothe 1982) que está disponible de los procesos de fotofosforilación, fosforilación oxidativa y probablemente de la ruptura de polifosfato almacenado (Fogg et al. 1973). La demanda de ATP se debe a la gran estabilidad del triple enlace del N_2 , siendo extremadamente inerte y su activación demanda una gran cantidad de

energía (se requieren cerca de 61.5 kJ o 147 kcal). Deben ser transferidos seis electrones para reducir el N_2 a $2NH_3$, y podemos visualizar varias etapas intermedias (Prescott et al 1999). En crecimientos masivos, la fijación de nitrógeno dependiente de luz, es mantenida por el ATP generado en los heterocitos a partir de compuestos de carbono translocados de células vegetativas adyacentes; también es mantenida por ATP generado en heterocitos por el transporte de electrones del fotosistema I (FSI) (Osmond et al. 1984).

Las Cyanoprokaryota son un grupo morfológicamente diverso que incluye formas unicelulares, filamentosas uniseriadas y en las que se puede diferenciar células para formar acinetos o heterocitos; todas ellas tienen la capacidad de fijar nitrógeno (Bold & Wynne 1985; Bergman et al. 1997; Madigan et al 1997):

- Cyanoprokaryotas *heterocíticas* (Nostocales, Stigonematales). La fijación de nitrógeno ocurre en heterocitos, que son estructuras especializadas, en presencia de luz (Lee 1999).
- Cyanoprokaryotas *filamentosas no heterocíticas* (Oscillatoriales). La fijación de nitrógeno se lleva a cabo en la noche cuando la fotosíntesis cesa y no se produce oxígeno (Bergman et al. 1997). Sin embargo, existen algas filamentosas no heterocíticas que fijan nitrógeno en condiciones aerobias en presencia de luz. En este caso, en los filamentos no heterocíticos se pueden crear condiciones microaerofílicas al formar agregados de tricomas envueltos en capas de polisacáridos, en donde las células vegetativas puedan generar una nitrogenasa activa y por tanto fijar nitrógeno (Paerl et al. 1995).
- Cyanoprokaryotas *unicelulares coloniales* (Chroococcales). Se ha estudiado principalmente en *Gleocapsa*, donde la actividad de la nitrogenasa es dependiente de la luz y se puede llevar a cabo la fijación gracias a las gruesas paredes de mucílago que presentan este tipo de organismos (Fogg et al. 1973).

1.3.3 Heterocitos

Todas las formas heterocitosas de cyanoprokaryotas son capaces de fijar N_2 aeróbicamente en la ausencia de nitrógeno combinado; entre el 5 y el 10% de sus células vegetativas se

diferencian a células especializadas llamadas heterocitos. Estas son células de gran tamaño con gruesas paredes y de un color verde-amarillo debido a la presencia de clorofila *a*, pigmentos carotenoides y la deficiencia de biliproteínas; carecen de fotosistema II y por lo tanto no pueden desarrollar oxígeno vía fotosíntesis ni fijar CO₂ (Wolk 1982) Tienen la particular importancia de que dentro de ellos se lleva a cabo la fijación de nitrógeno gracias a sus condiciones microaerofílicas, y la presencia de la nitrogenasa. Los heterocitos pueden encontrarse en posiciones terminales o intercalares y son producidos a partir de células vegetativas bajo condiciones limitantes de nitrógeno combinado, y durante un activo crecimiento de las algas (Bergman et al 1997).

1.3.4 Factores que afectan a la fijación de nitrógeno

Existen varios factores que afectan la fijación de nitrógeno (Stewart 1977; Fay 1981), entre los más importantes podemos reconocer:

pH- en suelos anegados puede ser demasiado ácido y matar a cyanoprokaryotes, éste es importante que sea neutral o alcalino (Meeting et al 1988, Sze 1998).

Luz- la intensidad de la luz tiene efectos sobre las poblaciones fijadoras de nitrógeno. (Yoshida & Ancajas 1973; Quesada et al. 1998). En cultivos enriquecidos con carbohidratos se ha demostrado que se puede fijar nitrógeno en condiciones de oscuridad (Bergman et al. 1997).

Temperatura- las cyanoprokaryotas son abundantes en los trópicos. En Brasil el pico de fijación de *Stigonema* sp. es a 30° C y declina a altas temperaturas y en Nigeria se ha registrado fijación a 40° C (Stewart et al. 1978). La temperatura óptima es entre 30 y 35 grados, pero temperaturas muy altas tienen efecto deletéreo en la fijación de nitrógeno (Meeting et al. 1988).

Oxígeno- la nitrogenasa es sensible al oxígeno ya que la presencia de éste puede inhibir la actividad enzimática o hacer un daño irreversible (ver más adelante) (Howard & Rees 1996; Bergman et al. 1997).

Humedad- la desecación es un factor que inhibe a la fijación de nitrógeno; se ha visto que la actividad de la nitrogenasa comienza inmediatamente cuando se rehidratan las células, incluso después de estar secas por varios meses (Stewart et al. 1978).

Tipos de suelo- la composición mineral, tamaño de partículas, materia orgánica, textura, tamaño de poros, aeración, humedad y pH de los suelos afecta la fijación de nitrógeno. Los suelos calcáreos son alcalinos, ricos en minerales y contienen sin excepción especies fijadoras de nitrógeno (Fay 1981).

Ciclos diurnos- las variaciones diurnas de iluminación en ambientes naturales influyen en la tasa de fijación de nitrógeno en organismos fotosintéticos. Sin embargo, la tasa de la actividad de la nitrogenasa no siempre sigue estrictamente esos cambios de intensidad de la luz.

Nitrógeno combinado- la fijación de nitrógeno se da en condiciones de baja concentración de nitrógeno combinado (Howarth & Marino 1988; Bergman et al. 1997).

Fosfato- La fijación de nitrógeno requiere ATP y el fósforo disponible es un factor esencial que regula el crecimiento de microorganismos fotosintéticos en condiciones de fijación de nitrógeno. La adición de fosfato incrementa la actividad de fijación de nitrógeno (Fogg et al. 1973).

Elementos minerales- existen ciertos elementos que son necesarios para la fijación de nitrógeno, como es el caso del molibdeno y hierro que son componentes de la nitrogenasa (Howarth & Marino 1988).

La radiación UVB afecta la productividad y disminuye la tasa de fijación de nitrógeno (; Babu et al. 1998, Falcón-Álvarez 2000).

1.3.5 Separación espacial y temporal de la fijación de nitrógeno

La fijación de nitrógeno es un proceso anaeróbico donde los componentes de la nitrogenasa se destruyen irremediamente en presencia de oxígeno y las cyanopokaryotas son organismos que han resuelto el problema de proteger la nitrogenasa durante la fotosíntesis y producción de oxígeno. El mecanismo más sencillo para proteger a la nitrogenasa es reemplazarla cuando ha sido dañada, pero resulta muy costoso metabólicamente hablando. El consumo metabólico del O₂ es importante para mantener la baja concentración de éste dentro de la célula. Las oxidasas pueden reducir el O₂ y producir radicales superóxidos o peróxidos que destruyen la nitrogenasa, los cyanopokaryotes contienen tanto superóxido dismutasa como catalasa para prevenir los efectos tóxicos del superóxido o peróxido (Bergman et al. 1997).

Como el oxígeno tiene efectos negativos en la nitrogenasa y se ha registrado fijación de nitrógeno en organismos no heterocitosos, se debe esperar variaciones diarias en la fijación de nitrógeno en los tapetes microbianos. La separación temporal de la fotosíntesis con la fijación es fisiológicamente importante dependiendo del tipo de especie, de modo que la fijación se alterna en ciclos de luz y oscuridad (Bergman et al. 1997). Los patrones en las variaciones de la fijación dependerán del tipo de cyanoprokaryotas y las dinámicas de la luz y el oxígeno en el tapete, de modo que las cyanoprokaryotas pueden mostrar una alta tasa de fijación de nitrógeno en la oscuridad o en intensidades moderadas de luz, cuando la concentración de O_2 es baja y difícilmente se inhibe a la nitrogenasa (Quesada et al. 1998). En cyanoprokaryotas heterocitosas la fijación se espera que sea en el día ya que la disponibilidad de energía esta ligada con la luz por medio de la fotosíntesis y la nitrogenasa está protegida por los heterocitos. En algunos casos la fijación se puede dar al amanecer cuando la luz está disponible pero la concentración de oxígeno todavía esta baja. En la noche cuando la fotosíntesis cesa, el tapete bacteriano se vuelve anóxico. Durante el día la actividad fotosintética sobrepasa la actividad heterótrofa y como consecuencia la concentración de oxígeno y el pH se incrementan y la concentración de CO_2 disminuye. Este cambio en la concentración de oxígeno se puede ver reflejado en los patrones de la fijación de nitrógeno en Cyanoprokaryota (Watanabe & Brotonegoro 1981). En la oscuridad la fijación de nitrógeno puede ser mantenida por la fermentación de los carbohidratos almacenados.

En cuanto a la separación espacial de la fijación de nitrógeno se puede encontrar la agregación de tricomas (Paerl et al. 1995). Otros organismos invierten carbono en mecanismos para reducir el impacto de oxígeno en materiales estructurales que proveen una resistencia para la difusión del oxígeno (Rowell & Kerby 1991). Estos materiales pueden ser los heterocitos y las gruesas paredes mucilaginosas; sin embargo, como se ha mencionado, la actividad de fijación de nitrógeno puede ocurrir en varios organismos no heterocitosos (Baalen 1987; Bergman et al. 1997).

A nivel macroscópico la separación espacial se puede dar en distintas partes del humedal donde superficie del agua debe ser considerada un sitio importante de la fijación de nitrógeno en campo ya que está en contacto directo con la atmósfera y la luz del sol que necesitan las algas fotosintéticas (Yoshida & Ancajas 1973). La fijación se puede dar en la

columna de agua, interfase agua suelo y en la biomasa sumergida de las plantas (Roger & Ladha 1992).

1.3.6 Liberación de nitrógeno

Las algas excretan vitaminas, ácidos orgánicos, polipéptidos, ácidos nucleicos, polisacáridos, aminos y antibióticos (Vymazal, 1995). Las cyanoprocariotas comúnmente liberan considerables cantidades de sustancias nitrogenadas y orgánicas al medio, siendo la mayoría de los compuestos excretados en forma de péptidos, amonio y aminoácidos.

La cantidad de nitrógeno combinado extracelular incrementa conforme el crecimiento del alga y como un porcentaje del nitrógeno total fijado, siendo mayor en los momentos de las fases estacionarias y menor en la fase exponencial de crecimiento. Se piensa que la liberación de nitrógeno extracelular es el resultado de una falla en la represión de síntesis de enzimas y esos productos de exceso son secretados (Fogg et al. 1973). Es de considerar que una porción del nitrógeno extracelular puede ser derivado de las cubiertas mucilaginosas. Es conocido que en varias especies el material de la vaina es soluble en el agua y se dispersa en el medio. Los aminoácidos extracelulares pueden ser liberados por difusión hacia el plasmalema y en el caso de procariotes, la composición de aminoácidos intra y extracelulares son distintos, indicando una difusión facilitada, activa o una diferencia de permeabilidad de la membrana (Stewart 1980) lo que indica que estos organismos están secretando compuestos nitrogenados que enriquecen el medio externo.

Las cyanoprocariotas liberan proporciones de sus sustancias nitrogenadas por choques osmóticos o por daño físico a las células. Stewart (1980) reporta que las algas pueden producir compuestos nitrogenados extracelulares por cortos periodos después que los organismos hayan pasado por un periodo de estrés (pH, salinidad, desecación, etc.). Así mismo, se ha registrado en las costras de algas de Nigeria cuando se rehidrataron después de un periodo de sequía, hay una inmediata liberación de nitrógeno extracelular antes que se recomience la actividad de la nitrogenasa (Stewart et al. 1978).

La descomposición de cyanoprocariotas lleva a la liberación de NH_4^+ . La clorofila al acumularse en el suelo puede liberar nitrógeno y mineralizarlo o brindar disponibilidad de nitrógeno, la biomasa fotosintética contribuye significativamente a la disponibilidad de nitrógeno y juega un papel importante al mantener la fertilidad de suelos de humedales

(Roger 1996). Sin embargo, la liberación y fijación de amonio en los suelos inundados está fuertemente influenciada por el potencial redox del suelo (Zhang & Scherer 2000).

2. OBJETIVOS

Objetivo principal

Evaluar la fijación de nitrógeno por Cyanoprokaryota en el perifiton del humedal de la Reserva Ecológica El Edén.

Objetivos secundarios

- 1.- Evaluar la fijación de nitrógeno en un ciclo de 24 horas en tres temporadas (secas, inicio de lluvias, final de lluvias) en sitios con condiciones ecológicas distintas dentro de el humedal.
- 2.- Obtener la tasa de fijación de nitrógeno del perifiton por temporada y anual en los sitios establecidos.
- 3.- Obtener la proporción de nitrógeno fijado en los distintos estratos del perifiton por temporada.
- 4.- Establecer la diferencia en la fijación de nitrógeno entre los sitios y los estratos del perifiton en las distintas temporadas.
- 5.- Determinar las proporciones de cyanoprokaryotas heterocitasas, no heterocitasas y unicelulares, así como la proporción de heterocitos para conocer qué relación existe entre estas proporciones y los valores de fijación de nitrógeno.
- 6.- Correlacionar la fijación de nitrógeno con la biomasa (Clorofila a).

3. AREA DE ESTUDIO

La península de Yucatán apareció en el Terciario Superior durante el Cenozoico; pertenece a la plataforma de Yucatán y está compuesta, principalmente, por rocas carbonatadas, así como evaporitas y depósitos clásticos del Cenozoico. Las elevaciones varían entre 0 a 100 msnm y la inclinación es <0.5 ó $<1\%$, donde las formas del relieve son lomeríos y no existen ríos. La insolación anual es de 2600-3000 horas, en enero se presenta la mínima insolación (180-220 hrs.), en mayo la máxima (260-300 hrs.) y la temperatura media anual es de 22° - 26° C. La precipitación varía entre 1200-1500 mm con 80 a 100 días de precipitación mayor a 0.1 mm, entre 100-150 días nublados y una precipitación máxima en 24 hrs. de 200-400 mm (Instituto de Geografía 1990).

El suelo se caracteriza por ser Litosol (suelo sin horizonte de diagnóstico, limitado por un estrato duro, continuo y coherente de poco espesor) y Rendzina (suelo con horizonte A mólico que sobreyace directamente a un material calcáreo, con un contenido de carbonato de calcio mayor al 40%; presenta menos de 50 cm de espesor) que principalmente constituye un lecho rocoso que limita el crecimiento de plantas superiores (Instituto de Geografía 1990).

Las corrientes de agua son subterráneas pero afloran cerca de la línea de costa, dando lugar a una serie de ambientes acuáticos. Estas corrientes forman una red de aguas subterráneas y un anillo de cenotes que crean un complejo de cuevas que desembocan cerca de Celestún, en el noroeste y hacia San Felipe en el noreste; en estos puntos el agua subterránea emerge y corre hacia las lagunas costeras de Celestún, Dzilam de Bravo y Ría Lagartos.

El estudio se realizó en La Reserva Ecológica El Edén (14.92 km^2), un humedal tropical, que se ubica en la región de Yalahau al noreste de la península de Yucatán, en el Estado de Quintana Roo, México (Figura 1). El Edén fue establecido en 1990 y se encuentra a 25 km de Leona Vicario al Oeste de Cancún. Se localiza entre las latitudes $21^{\circ}11'30''\text{N}$ y $21^{\circ}14'\text{N}$, y las longitudes $87^{\circ}10'30''\text{O}$ y $87^{\circ}12'30''\text{O}$; tiene una elevación entre los 5-10 msnm. La Reserva presenta una zona que se anega (donde se realizó el trabajo) por lo menos cuatro meses del año (Figura 2), que es considerada propiamente el humedal, sin embargo existen zonas de selva mediana, selva baja, acahuales y cenotes característicos de la Península.

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

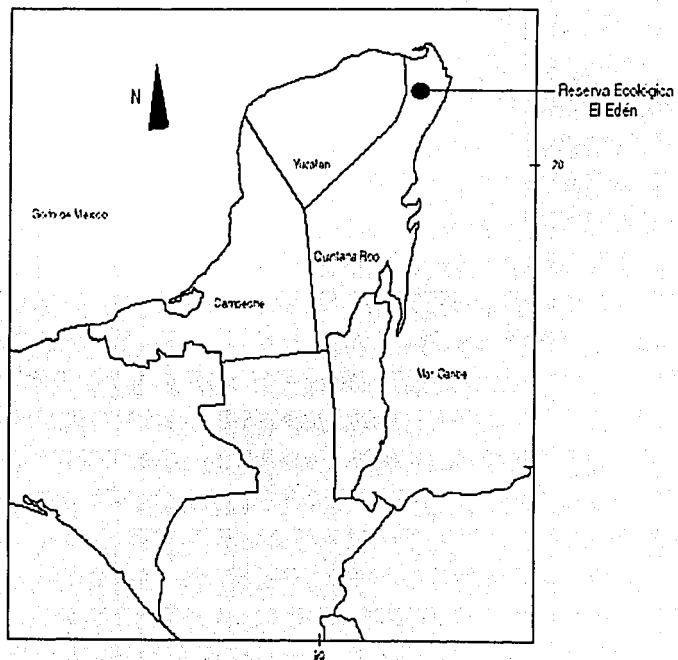


Figura 1. Mapa de localización de la Reserva Ecológica El Edén

4. MÉTODOS

Se visitó en tres ocasiones la Reserva Ecológica El Edén durante 2000: abril (secas), agosto (principio de lluvias) y noviembre (final de lluvias). Se establecieron parcelas de estudio (4 x 8 mts.) en 4 sitios con distinta vegetación vascular característica de la Reserva (Figura 2), dentro de la zona inundable 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.

- Parcela 1. Sabana (21°12'06.3" N; 87°11'44.6" O), con una cobertura de la vegetación vascular menor al 30%, siendo *Solanum donianum* Walp. la especie dominante y una profundidad del suelo de 10-15 cm.
- Parcela 2. Sabana (21°13'42.2" N; 87°11'26.3" O); con una cobertura de la vegetación vascular menor al 40%, siendo *Cladium jamaicensis* Crantz. la especie dominante y una profundidad del suelo de 10-30 cm.
- Parcela 3. Tintal (21°13'01.1" N; 87°11'44.8" O); con una cobertura de la vegetación vascular menor al 5%, siendo *Haematoxylon campechianum* L. la especie dominante y una profundidad del suelo de 3-5 cm.
- Parcela 4. Ecotono Tintal-bosque tropical subcaducifolio (21°12'44.1" N; 87°12'01.6" O); con una cobertura de la vegetación vascular menor al 10%, con una mezcla de las especies *H. campechianum*, *Erythroxylon confusum* L., *Manilkara sapota* (L.) P. Rogen y *Crescentia cujete* L. y una profundidad del suelo de 5-15 cm.

Los crecimientos algales que forman al perifiton del humedal de la Reserva Ecológica El Edén, están compuestos principalmente por algas de la División Cyanoprokaryota de tipo filamentoso y colonial. Para evaluar la participación de esta comunidad en el flujo de nitrógeno en este humedal, se analizó la tasa de fijación de este nutrimento por estos crecimientos algales durante un ciclo sequía - anegación. Se complementó el análisis con una evaluación de la proporción relativa de cyanoprokaryotas heterocitosas, no heterocitosas, unicelulares coloniales; así como la proporción de grupos (clorofitas y diatomeas) no fijadores en cada caso.

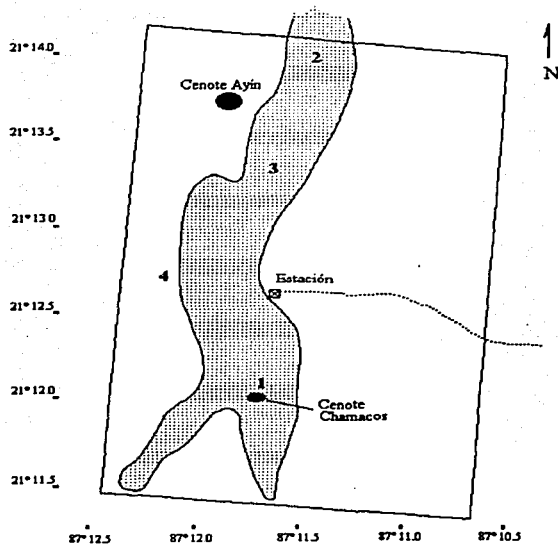
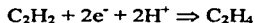


Figura 2 - Localización de las parcelas estudiadas para la evaluación de la fijación de nitrógeno

Para obtener los valores de fijación de nitrógeno se utilizó la técnica de análisis por la reducción del acetileno: ARA (*acetylene reduction assay*). La reacción de la nitrogenasa mediada por el ATP cataliza la conversión de acetileno a etileno, por lo que esta reacción se puede usar para medir indirectamente la actividad de la enzima en la fijación de nitrógeno:



En cada una de las temporadas se tomaron cuatro muestras de 1 cm² del perifiton (blanco, mas tres repeticiones; N=144) en cada una de las cuatro parcelas establecidas. Cuando fue posible, se hicieron submuestras dividiendo la costra en superior, inferior y agua, para determinar el porcentaje correspondiente de fijación en cada uno de los estratos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Se siguió la técnica de ARA según Weaver & Danso (1994); las muestras de 1 cm² se colocaron dentro de una botella universal (120 ml) con tapa de hule; se extrajeron 12 ml de aire y se inyectaron 12 ml de acetileno (generado a partir de carburo de calcio) para crear una atmósfera del 10% de acetileno. Para el caso del agua se colocaron 20 ml de agua (se tomó sin red para no concentrar a los organismos y alterar la prueba) y se creó la atmósfera del 10% de acetileno de la misma forma; el acetileno se inyectó en el agua para producir burbujas. El tiempo de traslado de las muestras hasta la aplicación de la técnica de ARA no fue mayor a 3 hrs. y se transportaron en cajas de petri a temperatura ambiente. Las muestras se incubaron por un periodo de 24 horas y se recolectaron muestras (5 ml) de la evolución de gases cada seis horas. Los ciclos de 24 horas se realizaron según los siguientes intervalos (por cuestiones prácticas y según Falcón-Álvarez 2000):

- a) 12-18 hr
- b) 18-0 hr
- c) 0-6 hr
- d) 6-12 hr

Las muestras de gases se inyectaron en tubos VACUTAINER de 13 x 75 mm, sellados al vacío y se almacenaron a temperatura ambiente. Posteriormente estas muestras fueron analizadas en un cromatógrafo de gases Varian 3300 y los datos se obtuvieron en un integrador Varian 4290. El cromatógrafo de gases aporta el área bajo la curva y para obtener los datos como ηM de C₂H₄/m²/h se utilizó la ecuación de Bebout (1992):

$$(((7.29787^{-6} * \text{área bajo la curva de etileno}) - 0.005058) * \text{volumen de aire} * 100\text{cm}^2) / 1\text{cm}^2/\text{horas}$$

En donde la pendiente es 7.29787⁻⁶ y la ordenada al origen es 0.005058.

Como todo el perifiton encontrado en El Edén presentó laminación y es una estructura tridimensional, se separaron los estratos con ayuda de un microscopio de disección y se hicieron observaciones al microscopio óptico de las muestras para obtener la proporción de las formas heterocitosas y no heterocitosas de cyanoprokaryotas, distinguiendo entre Nostocales y Stigonematales (filamentosas heterocitosas, FH),

Oscillatoriales (filamentosas no heterocitosas, FnoH) y Chroococcales (unicelulares coloniales, Cr). Para cada estrato se hicieron observaciones y se establecieron cuatro porcentajes de cobertura: 0-5%, 5-20%, 20-60% y >60%. Como estos porcentajes varían según el estrato y el estudio quiere representar al cm^2 del perifiton como una unidad, se hicieron promedios de la mínima y máxima cobertura en todos los estratos por muestra y se registró como un rango de porcentaje de cobertura en un cm^2 . Es decir, si en una muestra tenemos 3 estratos y los porcentajes de ellos (FH) son: 5-20%, 5-20%, 0-5%, entonces el valor de FH para ese cm^2 de perifiton es: 3.33-15%, el resto de la muestra esta constituida por detritos u organismos muertos en todos los casos.

Se hicieron conteos para determinar la proporción de heterocitos. En este caso se hicieron conteos de 400 células de cyanoprokaryotas heterocitosas y se obtuvo la proporción del número de heterocitos/400 células. Sin embargo como este conteo también se realizó en los estratos, el número que se reporta en los resultados es el promedio de heterocitos en el cm^2 del perifiton. Es decir, si en el ejemplo anterior tenemos que el número de heterocitos en los estratos es de: 5, 2, 0 entonces tenemos 2.33 heterocitos/400 células en el cm^2 del perifiton.

Del mismo modo se obtuvo la relación entre cyanoprokaryotas, clorofitas y diatomeas tomando sólo en cuenta a los organismos vivos. El estudio de las proporciones de organismos, formas y heterocitos por estratos sirvió para conocer la estructura y composición de la comunidad del perifiton y su relación con la fijación de nitrógeno. Las especies de los organismos no se identificaron porque exceden los límites de este trabajo, sin embargo se recomienda consultar los trabajos de Becerra-Absalón & Tavera (en prensa) y Novelo & Tavera (en prensa) que describen las especies de algas en El Edén.

El análisis de clorofila *a* fue realizado en el método fluorométrico modificado 445.0 con extracción y sin acidificación, usando un fluorómetro Turner AU10 (USEPA 1997).

Los datos obtenidos de la fijación de nitrógeno, formas, grupos, heterocitos y biomasa se analizaron por medio de gráficos, pruebas de regresión lineal, ANOVA ($p < 0.05$) y prueba de Tukey para reconocer diferencias o similitudes y tendencias por medio del programa estadístico SPSS v10.

5. RESULTADOS

En este capítulo presento los resultados a partir de las características generales del perifiton y finalizo con el tema central de este trabajo que es propiamente la fijación de nitrógeno. El presentar los resultados de esta forma no indica que la fijación de nitrógeno se lleve a segundo plano, sino que considero indispensable y mas ordenado describir características generales del perifiton, para explicar mejor la fijación de nitrógeno en el perifiton de este humedal tropical.

5.1 Características generales del perifiton de El Edén

A continuación se explican las condiciones físicas en las que se encontró el área de estudio y el perifiton en las distintas temporadas de muestreo (abril-secas, agosto-lluvias y noviembre-final de lluvias) así como las observaciones al microscopio óptico para analizar cobertura, composición y número de heterocitos. Los resultados de la cobertura se encuentran en la Tabla 1 y muestra las coberturas máximas y mínimas de las distintas formas dentro de las parcelas en las diferentes temporadas. Los datos obtenidos del agua de las parcelas también son notables pues corroboran el hecho de la pobreza de fitoplancton en El Edén (Novelo & Tavera, en prensa). En la Tabla 2 se observa la proporción de heterocitos (su relación con la fijación de nitrógeno se discutirá mas adelante) y resalta el hecho que la proporción mayor de heterocitos en todas las parcelas es en la época de final de lluvias y en los estratos inferiores de P3 y P4 prácticamente no hay heterocitos.

	Abril			Agosto			Noviembre		
	FH	FnoH	Cr	FH	FnoH	Cr	FH	FnoH	Cr
P1.	14-44	<5	5-8	12.5-40	4.1-6.66	4.1-6.66	14-44	17-52	5-8
P2	5-20	5-20	5-10	15-46.66	3.3-13.3	5-6.66	20-60	20-60	1.25-8.75
P3sup.	3.7-16	<5	2.5-12.5	10-32.5	2.5-5	8.75-20	12.5-40	8.75-30	8.75-25
P3 inf.	5-15	<5	>60	5-20	<2.5	>60	<2.5	—	>60
P4 sup	1.2-8.7	<1.25	<5	12.5-40	1.25-8.75	6.25-36.3	16.25-50	7.5-26.25	6.25-22.5
P4 inf.	—	—	—	<5	<5	>60	<5	<5	20-60

Tabla 1. Composición porcentual de las formas de Cyanoprokaryota expresada como cobertura máxima y mínima de un cm² del perifiton en las distintas parcelas.

	Abril	Agosto	Noviembre
P1	1.6	3.66	9.2
P2	0	1.33	6
P3 sup	2	3	3.2
P3inf	0	0	0
P4sup	2	2.25	5.25
P4inf	—	0	4

Tabla 2. Proporción de número de heterocitos/400 células en el perifiton de las distintas parcelas.

5.1.1 Parcela 1

Abril-secas

Características físicas del perifiton

Durante esta temporada la parcela no presentó agua y la costra se encontró dura pero fraccionada, gris claro de 3 a 5 mm de grosor; el tapete presentó una laminación bien definida la cual se separó para analizar al microscopio. La parte del envez de la costra fue pardo oscuro y negro, sin embargo existieron crecimientos verde-azules. Se observaron restos de la costra que creció sobre las plantas indicando el nivel máximo de anegación. Al levantar la costra no se observaron crecimientos de algas bajo ella sobre el sustrato.

Observaciones al microscopio

Se encontraron cinco estratos laminares dentro del perifiton con las características representadas en la Tabla 3. Más del 60% de los organismos en el tapete fueron cyanoprokaryotas y <5% clorofitas. Había muchos filamentos viejos pardo oscuro y muchas vainas vacías. Los pocos filamentos verdes que se encontraron fueron relativamente oscuros y la muestra presentó un color amarillento en general. Los heterocitos contados se encontraron en la parte superior del tapete en filamentos viejos y oscuros. La parte inferior del tapete presentó muchos detritos, vainas vacías, viejas y oscuras; los filamentos jóvenes fueron muy escasos, pero los que se encontraron fueron de color verde claro, probablemente protegidos de la radiación UV por la capa superior. La cobertura de las distintas formas de cyanoprokaryotas fue: FH= 14-44%, FnoH= <5% y Cr= 5-8%. Se encontraron 1.6 heterocitos/400 células.

Estrato	FH %	FnoH %	Cr %	Heterocitos
1	20-60	0-5	5-20	3
2	20-60	0-5	5-20	2
3	20-60	0-5	0-5	1
4	5-20	0-5	0-5	2
5	5-20	0-5	0-5	0

Tabla 3. Características de los estratos del perifiton de la Parcela 1 durante Abril-secas.

Agosto-Iluvias

Características físicas del perifiton

La parcela no presentó agua visible en esta temporada, sin embargo el suelo y la costra se encontraron mojados. El perifiton tenía una apariencia de cartón mojado y la parte superior tiene una textura de gamuza. Este fue verde pardo con áreas color crema, la parte inferior presentó tonalidades verde-azules; bajo la costra había material orgánico como ramas y hojas. Se levantó fácilmente del suelo y se deshizo en grumos, sin embargo fue fácil reconocer la laminación por las distintas coloraciones. El grosor de la costra fue de 5 a 6.5 mm. Al levantar la costra no se observaron crecimientos de algas bajo ella sobre el sustrato.

Observaciones al microscopio

Se encontraron seis estratos laminares dentro del perifiton con las características representadas en la Tabla 4. Más del 60% de los organismos en el tapete fueron cyanoprokaryotas y entre el 5-20% clorofitas. La capa superficial presentó filamentos verde oscuros y justo debajo de esta capa encontramos filamentos verde azules y unicelulares verde turquesa. Se encontraron heterocitos en la parte superficial del tapete pertenecientes a *Stigonema* sp. y *Scytonema* sp., en la parte inferior del tapete se encontró *Nostoc* sp. entre muchos detritos y vainas vacías. La cobertura de las distintas formas de cyanoprokaryotas fue: FH= 12.5-40%, FnoH= 4.1-6.66% y Cr= 4.1-6.66%. Se encontraron 3.66 heterocitos/400 células.

Estrato	FH %	FnoH %	Cr %	Heterocitos
1	20-60	5-20	5-20	5
2	20-60	5-20	5-20	4
3	20-60	0-5	0-5	4
4	5-20	0-5	0-5	1
5	5-20	0-5	0-5	1
6	5-20	---	0-5	7

Tabla 4. Características de los estratos del perifiton de la Parcela 1 durante Agosto-Iluvias.

Noviembre-final de llluvias

Características físicas del perifiton

Se encontró la parcela anegada con unos 30 cm de agua pero había evidencia, en los tallos de las plantas vasculares, de que llegó hasta unos 50 cm. El agua presentó un color ocre pero había transparencia. La costra del perifiton cubría todo el suelo, los tallos y hojas de la vegetación sumergida. La costra tuvo un grosor de 7.5 m y presentó tonalidades beige en la parte superficial y los colores se aclaraban a verde aceituna y verde-azul conforme se observó hacia la parte interior e inferior del tapete. Al levantar la costra no se observaron crecimientos de algas bajo ella sobre el sustrato.

Observaciones al microscopio

Se encontraron cinco estratos laminares dentro del perifiton mas la columna de agua con las características representadas en la Tabla 5. Más del 60% de los organismos en el tapete fueron cyanoprocaryotas, <5% clorofitas y <5% de diatomeas. La muestra contenía relativamente menos detritos en comparación con las otras temporadas y los filamentos encontrados generalmente fueron verde claro. Al microscopio se observaron organismos verde claro, donde los filamentos viejos y pardos fueron escasos. En la parte inferior del perifiton observamos detritos, filamentos vacíos y muertos, donde el porcentaje de células vivas fue menor. La cobertura de las distintas formas de cyanoprocaryotas fue: FH= 14-44%, FnoH= 17-52% y Cr= 5-8%. Se encontraron 9.2 heterocitos/400 células. En el agua se encontraron FH= ausentes, FnoH= <5% y Cr=<5%.

Estrato	FH %	FnoH %	Cr %	Heterocitos
1	5-20	20-60	0-5	9
2	20-60	20-60	0-5	11
3	20-60	20-60	5-20	9
4	20-60	20-60	0-5	13
5	5-20	5-20	0-5	4

Tabla 5. Características de los estratos del perifiton de la Parcela I durante Noviembre-final de llluvias.

5.1.2 Parcela 2

Abril-secas

Características físicas del perifiton

Se encontró la parcela sin agua, característica de la época de sequía en la región. Sobre el perifiton se encontraron restos de *Chara* sp. secos, lo que indicó su gran crecimiento en época de anegación del humedal. Bajo estos restos de *Chara* se encontró una costra húmeda verde pasto de 5 mm de grosor, que conservó la humedad gracias a la protección de los restos de la macrofita. Al levantar la costra no se observaron crecimientos de algas bajo ella sobre el sustrato.

Observaciones al microscopio

Se encontraron dos estratos laminares dentro del perifiton con las características representadas en la Tabla 6. Más del 60% de los organismos en el tapete fueron cyanoprokaryotas y <5% clorofitas. Hubo muchos detritos, las cyanoprokaryotas fueron escasas, sin heterocitos y estaban inmersas en los detritos. Hubo muchas vainas vacías y viejas de color amarillo claro: Los filamentos de FH fueron escasos y hubo muchos de FnoH, pero por su diminuto tamaño representaron poco de la cobertura. La cobertura de las distintas formas de cyanoprokaryotas fue: FH= 5-20%, FnoH= 5-20% y Cr= 5-10%. No se encontraron heterocitos.

Estrato	FH %	FnoH %	Cr %	Heterocitos
1	5-20	5-20	0-5	0
2	5-20	5-20	5-20	0

Tabla 6. Características de los estratos del perifiton de la Parcela 2 durante Abril-secas.

Agosto-lluvias

Características físicas del perifiton

Se encontró la parcela sin agua salvo la parte central que fue un hueco con unos 5 cm de agua. Los crecimientos de perifiton sobre macrofitas estaban aún secos, lo que indicó que no había una anegación prolongada ya que comenzaban las lluvias. Existían restos de

Chara sp. entremezclados con filamentos del perifiton que comienzan a crecer después de las primeras lluvias. El tapete se desprendió con facilidad y bajo él también encontramos restos de *Chara* sp. La parte superficial del perifiton fue una capa muy delegada de tonos amarillentos que crecía como una telaraña; los filamentos bajo esta capa fueron verde olivo oscuro. El tapete no fue muy consistente ya que se deshacía con facilidad y en la parte inferior existía una capa verde turquesa. No existió una laminación tan definida como en las otras parcelas.

Observaciones al microscopio

Se encontraron tres estratos laminares dentro del perifiton mas la columna de agua con las características representadas en la Tabla 7. Más del 60% de los organismos en el tapete fueron cyanoprokaryotas y <5% clorofitas, en el agua >60% cyanoprokaryotas y del 5-20% clorofitas. En la preparación se observaron restos de *Chara* sp. y detritos. El tapete estaba compuesto principalmente de FH=15-46.66%, FnoH= 3.33-13.33% y Cr=5-6.66%. Se encontraron 1.33 heterocitos/400 células. En el agua se encontraron FH= ausentes, FnoH= <5% y Cr=<5%.

Estrato	FH %	FnoH %	Cr %	Heterocitos
1	20-60	5-20	0-5	1
2	20-60	5-20	0-5	3
3	5-20	—	5-20	0
agua	—	0-5	0-5	0

Tabla 7. Características de los estratos del perifiton de la Parcela 2 durante Agosto-lluvias.

Noviembre-final de lluvias

Características físicas del perifiton

Se encontró la parcela anegada con unos 30 cm de agua y 50 cm en la parte más profunda. El agua presentó transparencia y tenía un ligero color ocre. La vegetación vascular que se encontró sumergida, estaba cubierta de perifiton beige similar al encontrado en P1 esta misma temporada. La costra fue de 4 mm de grosor, la parte superior beige tenía

filamentos verde aceituna; conforme se observó el interior del tapete se volvió más verde claro. Se observaron evidentes crecimientos de *Chara* sp. que sobresalían de la costra; bajo la costra se encontraron ramas y hojas sobre las cuales crecía el perifiton.

Observaciones al microscopio

Se encontraron cuatro estratos laminares dentro del perifiton con las características representadas en la Tabla 8. Más del 60% de los organismos en el tapete fueron cyanoprokaryotas y <5% clorofitas. Se observaron diatomeas que representaron <5% y estaban inmersas en la costra en la parte superficial. El tapete estaba compuesto principalmente de FH=20-60% y FnoH= 20-60%, Cr= 1.25-8.75%. Se encontraron 6 heterocitos/400 células.

Estrato	FH %	FnoH %	Cr %	Heterocitos
1	20-60	20-60	0-5	6
2	20-60	20-60	0-5	4
3	20-60	20-60	5-20	8
4	20-60	20-60	0-5	6

Tabla 8. Características de los estratos del perifiton de la Parcela 2 durante Noviembre-final de lluvias.

5.1.3 Parcela 3

Abril-secas

Características físicas del perifiton

La parcela se encontró sin agua con una costra dura, fraccionada de color grisáceo y de unos 3 mm de grosor; la parte inferior de la costra fue de color gris oscuro. Bajo ella, encontramos crecimientos de *Cyanokybus* sp. en forma de hojuelas negras y de color verde oscuro.

Observaciones al microscopio

Se encontraron cuatro estratos laminares dentro del perifiton mas un crecimiento bajo la costra (Ab) con las características representadas en la Tabla 9. Más del 60% de los organismos en el tapete fueron cyanoprokaryotas y no se encontraron clorofitas. En la costra superior predominaban los detritos y existieron muy pocos filamentos verdes que

estaban inmersos en los detritos. En la costra inferior se encontraron principalmente *Cyanokybus* sp. y Chroococcales amarillo claro con una cubierta mucilaginosa; existían muchos detritos y filamentos vacíos. La costra superior estaba compuesta de FH= 3.75-16.25%, FnoH= <5%, Cr= 2.5-12.5%. Se encontraron 2 heterocitos/400 células. La costra inferior estaba compuesta de FH= 5-15%, FnoH= 0-5%, Cr= >60%. No se encontraron heterocitos.

Estrato	FH %	FnoH %	Cr %	Heterocitos
1	5-20	0-5	0-5	2
2	5-20	0-5	5-20	3
3	5-20	0-5	5-20	2
4	0-5	0-5	0-5	1
Ab1	0-5	0-5	>60	0
Ab2	5-20	0-5	>60	0

Tabla 9. Características de los estratos del perifiton de la Parcela 3 durante Abril-secas.

Agosto-lluvias

Características físicas del perifiton

La parcela se encontró totalmente seca y el suelo estaba húmedo pero no anegado. No existieron crecimientos de perifiton sobre vegetación vascular. La costra gris oscuro, estaba ligeramente húmeda y fue flexible; de unos 3.5 mm de grosor. La costra se levantó fácilmente y se rompía en grumos. El interior fue verde azul y la parte inferior fue de color blanco. Bajo la costra encontramos crecimientos verde oscuro y se presentaron como hojuelas húmedas que formaban una capa de unos 5 mm de grosor.

Observaciones al microscopio

Se encontraron cuatro estratos laminares dentro del perifiton mas un crecimiento bajo la costra (Ab) con las características representadas en la Tabla 10. Más del 60% de los organismos en el tapete fueron cyanoprokaryotas y no se encontraron clorofitas. En la costra superior se observaron filamentos destruidos pardos pero no había vainas vacías, que

probablemente se incorporaron al sustrato. En la costra inferior se encontró principalmente *Cyanothrix* sp. de color verde pardo y hay muchas vainas vacías mezcladas con detritos. La costra superior estaba compuesta de FH= 10-32.5%, FnoH= 2.5-5%, Cr= 8.75-20%. Se encontraron 3 heterocitos/400 células. La costra inferior estaba compuesta de FH= 5-20%, FnoH= 0-5%, Cr= 20-60%. No se encontraron heterocitos.

Estrato	FH %	FnoH %	Cr %	Heterocitos
1	20-60	5-20	20-60	7
2	20-60	0-5	5-20	3
3	0-5	----	0-5	1
4	0-5	----	0-5	1
Ab1	5-20	0-5	20-60	0
Ab2	5-20	0-5	20-60	0

Tabla 10. Características de los estratos del perifiton de la Parcela 3 durante Agosto-lluvias.

Noviembre-final de lluvias

Características físicas del perifiton

La parcela se encontró sin anegación pero la costra estaba mojada debido a las lluvias recientes. No había crecimientos sobre vegetación vascular. Se observaron dos capas donde la capa superior fue de unos 3 mm de color pardo verdoso y presentó crecimiento de mucilago en la parte superior. En el interior de ella encontramos crecimientos verde azules; la costra se rompía fácilmente. Bajo la costra encontramos las hojuelas verde oscuro características de esta parcela y bajo ellas un crecimiento azul turquesa.

Observaciones al microscopio

Se encontraron cuatro estratos laminares dentro del perifiton mas un crecimiento bajo la costra (Ab) con las características representadas en la Tabla 11. Más del 60% de los organismos en el tapete fueron cyanoprokaryotas y no se encontraron clorofitas y un <5% de algas. En la costra superior encontramos vainas vacías y muertas que formaban la capa de mucilago observada en el campo, bajo esta capa encontramos filamentos vivos

verde azules y bajo ellos encontramos detritos y muchos filamentos viejos o muertos. En la costra inferior se encontraba principalmente *Cyanokybus* sp. de color verde azul y muchas vainas vacías mezcladas con detritos. La costra superior estaba compuesta de FH= 12.5-40%, FnoH= 8.75-30%, Cr= 8.75-25%. Se encontraron 3.25 heterocitos/400 células. La costra inferior estaba compuesta de FH= 0-5%, FnoH= ausentes, Cr= >60%. No se encontraron heterocitos.

Estrato	FH %	FnoH %	Cr %	Heterocitos
1	20-60	5-20	0-5	3
2	20-60	20-60	5-20	7
3	5-20	5-20	5-20	2
4	5-20	5-20	20-60	1
Ab1	0-5	----	>60	0
Ab2	0-5	----	>60	0

Tabla 11. Características de los estratos del perifiton de la Parcela 3 durante Noviembre-final de lluvias.

5.1.4 Parcela 4

Abril-secas

Características físicas del perifiton

La parcela se encontró seca, la costra estaba cuarteada y dura de color gris oscuro y sólo encontramos un estrato de 3 mm de grosor que se desprendió fácilmente del suelo. La parte inferior de la costra fue de color pardo oscuro y se encontraron hojas y ramas pegadas a ella. El interior de la costra presentó una delgada lámina verde turquesa.

Observaciones al microscopio

Se encontraron cuatro estratos laminares dentro del perifiton con las características representadas en la Tabla 12. Más del 60% de los organismos en el tapete fueron cyanoprokaryotas y no se encontraron clorofitas. Predominaron filamentos viejos pardos, vacíos y detritos; entre ellos se observaron algunos filamentos verde azules donde la mayoría no tenían heterocitos (los heterocitos encontrados fueron dentro de un mismo

filamento). Dentro del tapete encontramos escasas Chroococcales donde destacó *Cyanokybus* sp. con un color amarillento. La costra estaba compuesta de FH= 1.25-8.75%, FnoH= <1.25%, Cr= <5%. Se encontraron 2 heterocitos/400 células.

Estrato	FH %	FnoH %	Cr %	Heterocitos
1	0-5	0-5	0-5	2
2	0-5	----	0-5	3
3	5-20	----	0-5	2
4	0-5	----	0-5	1

Tabla 12. Características de los estratos del perifiton de la Parcela 4 durante Abril-secas.

Agosto-lluvias

Características físicas del perifiton

La parcela se encontró con unos 10 cm de agua. Encontramos una costra superior y una inferior. La costra superior de 4 mm de grosor fue verde oscuro y en su interior encontramos crecimientos verde turquesa, la parte inferior fue blanca y había ramas y hojas. La costra inferior estaba representada por hojuelas parecidas a las de Parcela 3 de color verde oscuro.

Observaciones al microscopio

Se encontraron cuatro estratos laminares dentro del perifiton mas un crecimiento bajo la costra (Ab) con las características representadas en la Tabla 13. Más del 60% de los organismos en el tapete fueron cyanoprokaryotas y no se encontraron clorofitas, mientras que en el agua se mantuvo la proporción de cyanoprokaryotas pero existió entre un 20-60% de clorofitas y diatomeas. Predominaron filamentos pardos viejos, vacíos y detritos, entre ellos se observaron algunos filamentos verde azules. En la parte superior del tapete se encontró la mayor cantidad de heterocitos por 400 células con un total de 5, conforme se estudió el resto de la costra los heterocitos disminuyeron. Dentro del tapete encontramos escasas Chroococcales donde destacó *Cyanokybus* sp. verde aceituna y algunos verde azules. La costra inferior estaba formada principalmente de *Cyanokybus* sp. verde azul.. La

costra superior estaba compuesta de FH= 12.5-40%, FnoH= 1.25-8.75%, Cr= 6.25-36.25%. Se encontraron 2.25 heterocitos/400 células La costra inferior estaba compuesta de FH= <5%, FnoH= <5%, Cr= >60%. No se encontraron heterocitos. En el agua se encontraron FH= ausentes, FnoH= <5% y Cr=<5%.

Estrato	FH %	FnoH %	Cr %	Heterocitos
1	20-60	5-20	>60	5
2	20-60	0-5	0-5	2
3	5-20	0-5	20-60	1
4	5-20	0-5	5-20	1
Ab1	0-5	0-5	>60	0
Ab2	0-5	0-5	>60	0
agua	----	0-5	0-5	0

Tabla 13. Características de los estratos del perifiton de la Parcela 4 durante Agosto-lluvias.

Noviembre-final de lluvias

Características físicas del perifiton

La parcela tenía unos 20 cm de agua de color ocre. El agua estaba ligeramente turbia, debido a la lluvia de la noche anterior y ésta hizo la diferencia con la transparencia encontrada en las otras parcelas. Encontramos dos estratos de costra. La costra superior fue de 1cm de grosor, beige oscuro, con mucilago en la parte superior, bajo éste había una ligera capa verde azul y en la parte inferior de la costra había detritos y hojuelas de *Cyanokybus* sp. incrustadas en la costra. La costra inferior estaba representada por *Cyanokybus* sp. de color verde oscuro y verde azul mezcladas con ramas, sedimentos y hojas.

Observaciones al microscopio

Se encontraron cuatro estratos laminares dentro del perifiton mas un crecimiento bajo la costra (Ab) con las características representadas en la Tabla 14. Más del 60% de los organismos en el tapete fueron cyanoprocaryotas y no se encontraron clorofitas, mientras

que en el agua se mantuvo la proporción de cyanoprocaryotas pero existió entre un 20-60% de clorofitas y diatomeas. En la parte superficial de la costra superior encontramos diatomeas embebidas y filamentos vacíos que forman una trama de mucilago que da la tonalidad beige. Bajo esta capa observamos filamentos viejos mezclados con filamentos verde azules con heterocitos inmersos en detritos. La costra inferior estaba formada principalmente de *Cyanokybus* sp. de color verde azul. La costra superior estaba compuesta de FH= 16.25-50%, FnoH= 7.5-26.25%, Cr= 6.25-22.5%. Se encontraron 5.25 heterocitos/400 células La costra inferior estaba compuesta de FH= <5%, FnoH= <5%, Cr= 20-60%. Se encontraron 4 heterocitos/400 células. En el agua se encontraron FH= ausentes, FnoH= <5% y Cr=<5%.

Estrato	FH %	FnoH %	Cr %	Heterocitos
1	20-60	5-20	0-5	3
2	20-60	20-60	0-5	6
3	20-60	5-20	5-20	8
4	5-20	0-5	20-60	4
Ab1	0-5	0-5	20-60	4
Ab2	0-5	0-5	20-60	4

Tabla 14. Características de los estratos del perifiton de la Parcela 4 durante Noviembre-final de lluvias.

5.2 Fijación de Nitrógeno

Se realizaron pruebas de ARA en el perifiton de El Edén para cada parcela. Se tomaron un blanco mas tres repeticiones de 1 cm² de perifiton y se recolectaron muestras de gas (5 ml) cada seis horas teniendo para cada temporada 12 datos por parcela y un total de 144 para todas las parcelas durante el ciclo de anegación (secas, lluvias y final de lluvias). Se obtuvieron valores de la fijación de nitrógeno expresados como $\eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$. Los

valores más altos que se obtuvieron corresponden al periodo de inicio de lluvias (agosto) (Tabla 15, Figura 3) y el promedio de la fijación de nitrógeno fue de $5.7 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ (abril), $34.9 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ (agosto) y $24.4 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ (noviembre), con una tasa media anual de $21.7 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$.

Parcelas	Secas	Lluvias	Fin lluvias
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

Tabla 15. Tasa de fijación de nitrógeno, como $\eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ en las distintas parcelas

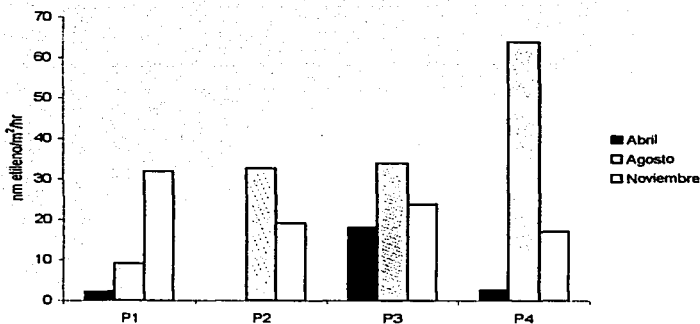


Figura 3. Comparación de la tasa de fijación de nitrógeno, en parcelas bajo estudio de la Reserva Ecológica El Edén.

Se estudió el aporte de los distintos estratos del perifiton (cuando fue posible) y los valores de fijación que se presentan como porcentaje del total obtenido para todo el crecimiento (Tabla 16). Cuando se encuentran dos capas de perifiton, resalta el hecho de que la participación proporcional de los estratos superiores e inferiores es semejante e incluso, en algunos casos como en P3, la participación del estrato inferior es mayor. Estos datos junto con los de composición de formas (Tabla 1), muestran que en las parcelas la tasa de fijación de nitrógeno, no necesariamente corresponde con una composición principal de formas heterocitosas y existe una gran participación de formas de tipo Oscilatoria y Chroococcales como principales componentes del crecimiento y sugiere una fijación de nitrógeno por este tipo de organismos. Sin embargo, se encontró que existe una relación entre los heterocitos y la fijación de nitrógeno en P1 ($r=0.99$) y la costra superior de P3 ($r=0.98$), en las otras parcelas no existe relación alguna y cabe notar que en el estrato inferior de la P3 y P4 prácticamente no hay heterocitos lo que sugiere que la fijación depende de formas no heterocíticas, en este caso Chroococcales principalmente.

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

Tabla 16. Comparación del porcentaje de la contribución a la fijación de nitrógeno total por cada estrato de perifiton y el agua

Se quiso conocer si existía una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre la fijación de nitrógeno de las parcelas de estudio ya que estas se ubicaron en localidades con distinta vegetación vascular característica de la Reserva. Se homogenizaron las varianzas de los datos al aplicar raíz cuadrada y posteriormente se hizo una prueba de homogeneidad de varianzas (Estadístico de Levene) la cual resultó no significativa por lo cual se acepta la hipótesis de que las varianzas son iguales. Una vez homogenizada la varianza se aplicó una prueba de ANOVA entre los datos de fijación de nitrógeno y ésta resultó que el valor de p asociado al estadístico F (sig. .313) fue mayor a 0.05. En consecuencia, al nivel de significación de 0.05 se acepta la hipótesis nula de igualdad de medias. Así que no existe diferencia significativa en la fijación de nitrógeno entre las parcelas, a pesar de estar en localidades con distinta vegetación vascular.

Posteriormente se quiso saber si existía diferencia significativa entre la fijación de nitrógeno por temporada. Se aplicó una prueba de ANOVA y resultó que había diferencias significativas (sig. .000 > 0.05). Como esta prueba no nos puede decir dónde están las diferencias, se aplicó la prueba de Tukey en donde resultó que la diferencia de medias es significativa al nivel de 0.05 en todos los casos. Por lo tanto existen diferencias significativas entre secas, lluvias y final de lluvias en todas las combinaciones.

Al evaluar la actividad de la nitrogenasa en un ciclo de 24 horas, en las distintas temporadas (Tabla 17), se puede observar que para abril no existe un patrón en el porcentaje de máxima fijación de nitrógeno. Sin embargo, para agosto y noviembre el porcentaje máximo de fijación de nitrógeno corresponde al horario entre las 12:00 y 18:00 horas, lo que sugiere una actividad de la nitrogenasa en el atardecer cuando existen longitudes de onda del rojo y rojo lejano.

	Abril				Agosto				Noviembre			
	12-18	18-0	0-6	6-12	12-18	18-0	0-6	6-12	12-18	18-0	0-6	6-12
P1	100	---	---	---	8.52	37.28	43.5	100	100	34.05	42.81	23.2
P2	---	---	---	---	100	66.25	72.13	63.36	100	62.34	12.77	26.15
P3	27.49	100	8.37	51.3	100	55.09	31.58	22.68	100	8.74	20.12	1.34
P4	---	---	---	100	100	80.69	61.01	61.68	100	76.08	30.25	23.66

Tabla 17. Comparación, en un ciclo de 24 horas, del porcentaje de la actividad de la nitrogenasa del perifiton en las distintas parcelas durante las distintas temporadas.

*Ciclo de 24 horas dividido en cuatro intervalos de 6 hrs. Cada uno. 12:00-18:00 hrs., 18:00-0:00 hrs., 0:00-6:00 hrs. y de 6:00 a 12:00 hrs.

Se hicieron evaluaciones de la concentración de clorofila a ($\mu\text{g l}^{-1}$) como forma para estimar la biomasa. Los resultados (Tabla 18, Figura 4) muestran que la concentración promedio de clorofila varía de 363.87 (abril), 497.25 (agosto) y 430.56 (noviembre) lo que indica un máximo de biomasa en agosto (inicio de lluvias). Este comportamiento en el aumento y disminución de clorofila a en el perifiton es similar al observado en la fijación de nitrógeno con un máximo en agosto. La correlación entre la concentración de clorofila y la fijación de nitrógeno ($r=0.97$) sugiere que la biomasa está relacionada con la fijación de nitrógeno en el perifiton de El Edén.

	P1	P2	P3	P4	promedio
Abril	433	478.5	218.5	325.5	363.87
Agosto	511	492.5	467	518.5	497.25
Noviembre	489.5	328	556.5	377	430.56

Tabla 18. Concentración de clorofila a en el perifiton expresada en $\mu\text{g l}^{-1}$ para las distintas parcelas a lo largo de las distintas temporadas.

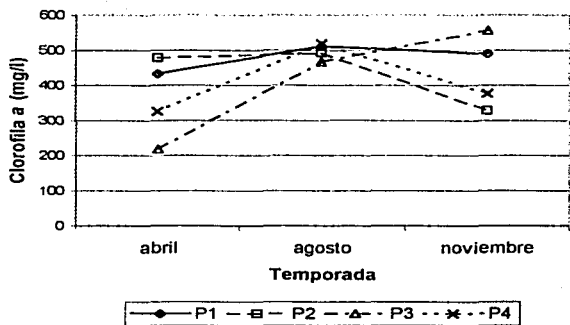


Figura 4. Concentración de clorofila a en el perifiton expresada en $\mu\text{g l}^{-1}$ para las distintas parcelas a lo largo de las distintas temporadas.

6. DISCUSIÓN

En este capítulo se trata en primer lugar los aspectos generales de la composición y estructura del perifiton indispensables para explicar la fijación de nitrógeno en el perifiton de la Reserva Ecológica El Edén. Esta discusión responde a la presentación de los Resultados y a la organización del trabajo que presenta cuestiones generales a particulares para explicar la fijación de nitrógeno en este humedal tropical.

6.1 Composición y estructura del perifiton

En la Reserva Ecológica de El Edén podemos definir tres temporadas de acuerdo a la disponibilidad de agua en el lugar. De Febrero a Junio se reconoce la época de secas, de Julio a Octubre es temporada de lluvias y de Noviembre a Diciembre es el final de lluvias cuando comienza a secarse el humedal. Existen al menos cuatro meses en los que cerca de una tercera parte de su superficie se inunda y 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.

El perifiton es uno de los componentes más importantes y menos conocidos de los humedales. En El Edén crece en forma uniforme y prácticamente cubre todo el suelo y las partes bajas de las plantas; está constituido por una red de algas filamentosas y coloniales que forman una trama muy compleja. En los crecimientos del perifiton de El Edén la comunidad está formada por organismos de diferentes niveles de organización estructural, donde encontramos unicelulares, cenobiales, coloniales, filamentosos, principalmente. Estos organismos se fijan al sustrato o a la matriz que forman otros organismos que están entrelazados entre sí por estructuras especializadas o secreciones mucilaginosas, en donde las vainas y el mucilago de las cyanoprokaryotas contribuyen a construir la matriz que mantiene a otros colonizadores como bacterias y protozoarios. El perifiton está compuesto por una fuerte integración de algas vivas y muertas, detritus particulados y partículas inorgánicas unidas a una matriz orgánica de secreciones extracelulares de polisacáridos, en

donde los sedimentos se agregan al mucilago de las células. Se ha observado que la acumulación de oxígeno puede hacer que el tapete flote y a veces el tapete separado del suelo continua su crecimiento flotando en la superficie del agua.

El perifiton presenta una estructura laminada en donde encontramos clorofitas, diatomeas y distintas formas de cyanoprokaryotas (Nostocales, Stigonematales, Oscillatoriales y Chroococcales). Esto se ha observado al estudiar al microscopio óptico cada una de las láminas que forman el perifiton en cada parcela durante las distintas temporadas. Cada una de estas láminas es separable fácilmente y este tipo de estratificación puede ser atribuida a diferentes periodos de crecimiento, eventos de las temporadas o estaciones, eventos episódicos como tormentas o huracanes, un efecto inhibitorio entre los organismos, un efecto de sombra o por las capacidades metabólicas de los organismos a factores como temperatura, radiación UV, pH, oxígeno y humedad. Sin embargo este punto queda abierto para futuros trabajos en la Reserva.

Las formas constitutivas, dentro de las cyanoprokaryotas, cambian dentro del tapete y durante las distintas épocas de recolección lo que puede reflejarse en la diferencia en la tasa de fijación de nitrógeno. Se observa un gradiente en las formas, en donde las filamentosas heterocitosas generalmente se encuentran en la parte superficial del perifiton y las formas unicelulares en la parte inferior. Esta estructura de diferentes grupos funcionales es el resultado de un gradiente fisicoquímico presente en el tapete producido por la actividad metabólica de los microorganismos y por el gradiente en la disponibilidad de luz, nutrientes y oxígeno. Los organismos fotótrofos se organizan en este tipo de estructuras de acuerdo a la distribución vertical de los factores ambientales, como es el caso de la luz, y crean gradientes continuos de otros factores ambientales que permiten la coexistencia de distintas poblaciones dentro de ellos; esto ha sido discutido por Guerrero & Mas (1989) y Stal (2000).

En el perifiton de El Edén se observa un alto nivel de diversidad de especies (Becerra-Absalón & Tavera en prensa, Novelo & Tavera en prensa, Ibarra comunicación personal). Los principales componentes de la comunidad de algas del perifiton que encontramos son las Cyanoprokaryota, hasta alcanzar cerca de un 90% de la cobertura del crecimiento algal. Sólo algunas diatomeas están presentes pero su abundancia es mínima y los ensambles de cyanoprokaryotas dentro de los tapetes microbianos están dominados por

formas filamentosas. Las especies de Chroococcales se encuentran mezcladas con los filamentos y pegadas a las vainas mucilaginosas. La presencia de clorofitas y diatomeas disminuye conforme a la profundidad del tapete hasta volverse ausentes a la mitad y en la capa inferior del mismo. Esta composición y organización de organismos no es característica única de El Edén ya que los tapetes de cyanoprokaryotas son componentes importantes de los humedales oligotróficos del Caribe (Rejmánková & Komárková 2000); así mismo Stewart, et al. (1978) y Wetzel (1996) han reportado tapetes microbianos con características similares a las del perifiton de El Edén.

Se han reportado cambios progresivos temporales en la composición de especies en comunidades algales epifíticas de lagos (Jones & Mayer 1983). Dentro del recambio de especies en el perifiton de El Edén, podemos encontrar un patrón según los distintos grupos de cyanoprokaryotes. El fitoplancton es generalmente pobre en todas las estaciones, los organismos unicelulares tienen una fase explosiva en el inicio del periodo de lluvias y tienden a reducirse en fases posteriores (Novelo & Tavera en prensa). Las formas filamentosas no heterocíticas se desarrollan ampliamente sólo en el periodo anegado, pero predominan organismos pequeños y no existe una clara presencia de Oscillatoriales grandes y las formas heterocíticas se presentan todo el año formando la trama principal del perifiton.

En la época de sequía, el perifiton se vuelve una costra oscura y dura que se fija al sustrato y en donde los organismos sobreviven gracias a la protección de sus vainas mucilaginosas. La alta capacidad de resistir largos periodos de sequía puede explicar por qué la abundancia relativa de cyanoprokaryotas con respecto a otros grupos. La comunidad de especies que encontramos en época de secas está compuesta por especies resistentes a altas temperaturas (>40°C por tres horas), altas intensidades de luz y radiación UV y a cambios drásticos de presión osmótica con una humedad relativa entre el 5 y 10%.

Se ha observado que el perifiton se forma a partir de estructuras de resistencia como acinetos o material vegetativo (Hillebrand 1983). En esta temporada encontramos restos de vainas de las algas del periodo anterior que sirven para la conformación de los nuevos crecimientos, además de estructuras de resistencia como acinetos y células vegetativas que persisten durante este periodo y germinan rápidamente durante el inicio de las lluvias.

En la época de secas la capa superficial está constituida de vainas muertas que probablemente protegen de la radiación UV y conservan la humedad para hormogonios, acinetos y filamentos que se encuentran en las capas inferiores. Cabe notar que se encontraron filamentos verde azules en la parte inferior lo que demuestra que esta costra puede proteger a células en el interior del tapete y concuerda con lo sugerido por Robinson et al. (1997). Debido a que en la parte superior del tapete se encontraron filamentos viejos y oscuros y que los filamentos y formas unicelulares jóvenes se encontraron en la parte inferior del tapete, podemos suponer que por la protección a la desecación y a la radiación, la fijación de nitrógeno se lleva a cabo en estas células con mayor probabilidad de estar metabólicamente activas. Es importante mencionar que bajo la costra principal, se desarrolla un crecimiento granuloso de *Cyanokybus* sp. (P3 y P4), el cual mantiene la humedad y se protege de las altas temperaturas y la radiación UV al permanecer bajo la costra.

En trópicos húmedos el crecimiento es mejor en la época cuando la radiación es alta y existe una buena disponibilidad de humedad (Roger 1996). Tal es el caso del periodo de lluvias en el mes de agosto cuando la costra se hidrata lo que desencadena el desarrollo del perifiton y se ve reflejado en el incremento de formas unicelulares, la aparición de grupos como clorofitas y diatomeas y en un aumento en la biomasa. Este es el periodo más importante para el perifiton ya que después de permanecer más de cuatro meses de sequía, en donde se formaron estructuras de resistencia y donde sólo algunos organismos sobreviven gracias al microambiente generado dentro o bajo el tapete, se presentan condiciones óptimas de crecimiento favorecidas por la humedad y la liberación de nutrientes y concuerda con lo registrado por Stewart et al. (1978) y Stewart (1980). Este aumento en el metabolismo y el desarrollo del perifiton se ve reflejado en un aumento en la fijación de nitrógeno (ver mas adelante).

En la época de final de lluvias, cuando existe anegación del humedal, sucede que la lluvia viene generalmente acompañada de una disminución de la intensidad de la luz y la temperatura ambiente. La lluvia incrementa la turbiedad del agua y puede generar cambios en el pH que limitan el crecimiento de cyanoprokaryotas y la fijación de nitrógeno fotodependiente (Roger 1996). En esta temporada el perifiton presenta una capa amarilla de organismos muertos debido a una exposición fuerte a radiación UV, mientras que la parte

de abajo presenta diferentes tonalidades de verde. Esto también ha sido observado por Hillebrand (1983) y Robinson et al. (1997). La costra durante el ciclo de sequía-anejación presenta una contracción y expansión según el régimen de humedad, por ello se ve cuarteada en época de secas y unida como un tapete en lluvias.

Se ha sugerido que las células aclimatan su fisiología fotosintética a la temperatura al balancear la captura de fotones (concentración de clorofila a para las reacciones de luz) con la fijación de carbono (DeNicola 1996) y se ha observado que las algas tropicales se adaptan a la penetración de la luz al variar su pigmentación y al agregarse para crear un autosombreado (Stewart et al. 1978). Por eso se ve un cambio en la coloración del perifiton *in situ* como en las preparaciones y los organismos estudiados en el microscopio durante las distintas temporadas. Las coloraciones oscuras en el perifiton se deben a la presencia de vainas pardas que envuelven a los tricomas fotosintéticos; este color es mucho más pronunciado en poblaciones que se encuentran en lugares sin sombra que en aquellas de lugares sombreados y el pigmento responsable de la coloración es la escytonemina. Esto es otro motivo por el cual encontramos una distribución diferencial de formas de Cyanopokaryota en el perifiton donde las formas FH como *Scytonema* spp. (la cual contiene escytonemina) se encuentran en la parte superficial y las formas unicelulares en la parte inferior del perifiton. La dominancia de especies filamentosas en la parte superior se puede deber, entre otros factores, a que no existe herbivoría por peces en el perifiton de El Edén ya que ha sugerido que la herbivoría por peces disminuye la presencia de cyanopokaryotas filamentosos y favorece la dominancia de cyanopokaryotas mucilaginosos (Rakshit et al. 1999). La presencia de formas unicelulares de Chroococcales durante todas las temporadas se explica por su pequeño tamaño y la forma circular que favorece la proporción de intercambio de nutrientes por superficie-biovolumen y por sus gruesas vainas mucilaginosas que las protegen de la desecación.

Se ha reconocido que la eficiencia en la utilización, retención y reciclaje de nutrientes es mucho mejor en agregados compactos de comunidades de microalgas, como el perifiton (Stevenson 1996). Como resultado de las características de la estructura y mecanismos de asimilación de nutrientes, en este tipo de comunidades compactas, es la alta retención de nutrientes una vez adquiridos. Esta conservación e intenso reciclaje de nutrientes lleva a una máxima utilización, eficiencia y productividad por unidad de área en

este tipo de comunidades (Wetzel 1996). La relación entre los nutrientes y la estructura de la comunidad no está bien entendida y se considera que la composición de especies responde tanto al incremento de nutrientes como a otros factores ambientales. Es por ésto que la laminación presente en el perifiton de El Edén puede ser resultado o de una laminación histórica pero debido al alto reciclaje de nutrientes el crecimiento neto puede ser cero ya que no se observa un aumento en el grosor del perifiton, a lo largo del tiempo, ni una incorporación de materia orgánica al suelo (sin embargo se deben hacer estudio específicos al respecto).

En este punto, cabe notar que el suelo de la reserva es somero. Suponiendo que el perifiton puede ser formador de suelos, resulta llamativo el no encontrar una diferencia de profundidad con respecto a la de los suelos encontrados en el resto del área sin perifiton. Es probable que el perifiton recicle grandes cantidades del nitrógeno fijado a menos que haya un importante contribución de nitrógeno por precipitación o corrientes subterráneas. Es por esto que sugiero que dentro del perifiton existe un alto reciclaje de nutrientes y que los nutrientes que se logran "escapar", son rápidamente capturados por otros organismos: como es lo que sucede con el nitrógeno que puede ser asimilado rápidamente por plantas vasculares, haciendo del perifiton una comunidad clave en este humedal.

6.2 La fijación de nitrógeno

La prueba de reducción de acetileno, ARA (*acetylene reduction assay*) ha sido ampliamente utilizada desde hace más de treinta años para estimar la actividad de la nitrogenasa y Stewart fue el primero en utilizarla para cyanoprokaryotas en 1967. Se tiene que tomar en cuenta que la reducción del acetileno es un método indirecto y que los datos disponibles son insuficientes para decir categóricamente que la tasa de reducción del acetileno en verdad refleja la tasa de fijación de nitrógeno bajo cualquier condición (Fogg et al. 1973). Existen diversos factores que se deben considerar para una buena interpretación de la prueba de ARA y varios autores los han discutido con anterioridad (Fogg et al. 1973; Barraquío et al. 1986; Giller 1987; Giller & Wilson 1991; Wetzel &

Likens 1991; Weaver & Danso 1994; Enrich-Prast & Esteves 1998; Roger & Ladha 1992; Liengen 1999; Tate III 2000).

La importancia de la fijación no simbiótica de nitrógeno en sistemas de agua dulce radica en su condición como factor limitante en muchos de estos ambientes (Wetzel 1975). Generalmente la diferencia de nitrógeno promueve la aparición de cyanoprokaryotas fijadores de nitrógeno. La fijación de nitrógeno no simbiótica por Cyanoprokaryota es un hecho bien establecido 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 organismos aportan al suelo. La fijación de nitrógeno depende del tipo de perifiton que se trate, la temporada y las condiciones ambientales prevaletientes. Se ha sugerido que la fijación de nitrógeno es probablemente mucho más importante en la economía del nitrógeno en humedales de agua dulce ya que son sistemas relativamente cerrados en comparación con humedales marinos (Howarth et al. 1988).

Los valores más altos de la fijación de nitrógeno en El Edén, expresados como $\eta M C_2H_4 / m^2 / h$ se obtuvieron para el periodo de lluvias (agosto). Sin embargo, se cree que no es el momento de máxima fijación de nitrógeno; éste puede ser en septiembre-octubre en donde se ha registrado un aumento significativo en el número de especies (Becerra-Absalón & Tavera en prensa). En El Edén, durante las 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 este periodo es cuando se registra la mayor tasa de fijación de nitrógeno en el área de estudio y concuerda con lo observado por Stewart et al. (1978) en las costras de Nígeria. El aumento en la fijación de nitrógeno se debe a que comienza un desarrollo del perifiton donde germinan acinetos y se desarrollan todas aquellas células que sobrevivieron de alguna manera al periodo de sequía. Este aumento en el metabolismo requiere nutrientes y es aquí en donde la tasa de fijación de nitrógeno es fundamental para el desarrollo del perifiton. La demanda de nitrógeno para el crecimiento y la escasez de éste en el ambiente promueve la fijación de nitrógeno. Cuando las lluvias terminan y el nivel de agua disminuye en las parcelas 2, 3 y 4 (noviembre) y el perifiton se encuentra como una costra

humedecida, el metabolismo de la fijación disminuye. Este ciclo concuerda con lo discutido por Fay (1981) para los ambientes con ciclos hídricos de sequía y anegación. Según las distintas épocas del año hay variación en la tasa de fijación de nitrógeno; los patrones hidrológicos influyen fuertemente en este proceso ya que la anegación incrementa la fijación y está ligada con el crecimiento de los organismos.

Con los datos obtenidos de la fijación de nitrógeno de las parcelas durante todas las temporadas se observó que no existe diferencia significativa entre la fijación de nitrógeno entre ellas. Esto es interesante ya que las parcelas se establecieron en sitios con distinta vegetación vascular pero esta condición no afecta de manera significativa a la fijación de nitrógeno entre los distintos sitios. Esto probablemente se puede explicar porque las condiciones ambientales son similares en todo el humedal para el perifiton y la vegetación vascular sólo influye en el sombreado lo que explicaría distintos picos de fijación de nitrógeno en los ciclos de 24 horas.

Así mismo, se analizó la fijación de nitrógeno por temporadas y se observó que existe una diferencia significativa entre todas ellas. Esto indica que la humedad y por lo tanto la hidrología del humedal juega un papel muy importante en la fijación de nitrógeno. Este ciclo de sequía-anegación marca de manera significativa la fijación de nitrógeno del perifiton de El Edén.

Al estudiar la concentración de clorofila a (biomasa) nos damos cuenta que ésta encuentra su valor mínimo en la época de sequía e incrementa notablemente para agosto lo que concuerda con el incremento en la fijación de nitrógeno. La alta correlación entre la concentración de clorofila y la fijación de nitrógeno sugiere que la biomasa está relacionada con la fijación de nitrógeno en el perifiton de El Edén. Esta relación es independiente ya que con las primeras lluvias hay una liberación de nutrimentos por un choque osmótico en las células de los organismos y por la disolución de nutrimentos del perifiton y del sustrato. Esta disponibilidad de nutrimentos y la humedad favorecen a un aumento en biomasa, pero no necesariamente en el número de especies (Becerra-Absalón & Tavera en prensa). Al mismo tiempo, debido a la abundancia de Cyanoprocaryota (ver especies en Novelo y Tavera en prensa) y su crecimiento exponencial se da un aumento en la fijación de

nitrógeno. Para la época de final de lluvias la fijación de nitrógeno disminuye junto con la biomasa probablemente como respuesta de los organismos a la disminución de humedad.

6.2.1 Distribución vertical de la fijación de nitrógeno

Se sabe muy poco sobre la distribución vertical de la fijación de nitrógeno, pero se sabe que la distribución vertical y la dinámica de factores como luz, oxígeno y sulfuros influyen de manera determinante. El tapete microbiano absorbe la luz en las capas superiores, dejando a las capas inferiores sólo luz del rojo lejano que no puede mantener a la fotosíntesis oxigénica; de modo que se puede asumir que las cyanoprocariotas de la parte inferior del tapete no son capaces de realizar fotosíntesis oxigénica y se ha demostrado que la fijación de nitrógeno puede ocurrir en las capas inferiores (Stal et al. 1984). Esto es prueba de una separación espacial de la fijación de nitrógeno y la fotosíntesis en un tapete bacteriano. La capa superior realiza fotosíntesis oxigénica y fijación de CO₂, mientras que en capa inferior se fija nitrógeno.

La fijación de nitrógeno está distribuida verticalmente en la estructura del perifiton (superior e inferior) y en la mayoría de los casos existe una participación similar de cada estrato. Tomando en cuenta que la capa superior está formada principalmente por filamentos de cyanoprocariotas 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* spp. con vainas gruesas y pigmentadas. Como se ha discutido, esta capa puede servir de filtro a las altas temperaturas, la desecación, la radiación UV 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 unialgales de cada una de las especies predominantes en el perifiton.

Para la fijación de nitrógeno aerobia en filamentos no heterocíticos las células del centro del agregado pueden perder los pigmentos del fotosistema II, no incorporar CO₂ actuando como heterocitos produciendo un ambiente anaerobio para la fijación de nitrógeno (Kallas et al. 1983) ya que en organismos unicelulares puede haber separación espacial o temporal de la fijación de nitrógeno. Así mismo los suelos de humedales favorecen a las cyanoprokaryotas en contra del oxígeno porque tienen iones de Fe⁺² que absorben el oxígeno rápidamente (Barraquío et al. 1986). Es interesante mencionar que para el periodo de agosto es cuando existe un aumento en formas unicelulares y para noviembre hay un gran aumento de formas filamentosas no heterocitosas lo que sugiere un recambio en las formas que constituyen al perifiton y una probable diferenciación en la tasa de fijación de nitrógeno por las diferentes formas.

El agua no registró niveles altos de fijación de nitrógeno y puede atribuirse a la escasa presencia de microorganismos; su pequeño tamaño y su relación área-volumen probablemente les permite encontrar nitrógeno combinado más eficientemente que las especies más grandes. Para P1 en noviembre se registró que en el agua existe un 9% de la fijación total de nitrógeno; debido a la escasez de cyanoprokaryotas encontradas, se puede suponer que es un error en la prueba de ARA.

Los heterocitos se forman durante un crecimiento activo y divisiones celulares y la diferenciación de ellos está asociada al crecimiento y el metabolismo activo (Whitton & Carr 1982; Lee 1999), de modo que se esperaba encontrar un aumento de estos en agosto. Esta correlación entre la frecuencia de heterocitos y la fijación de nitrógeno puede ser modificada de acuerdo al estado metabólico del organismo (Fogg et al. 1973). Sólo en P1 y en el estrato superior de P3 existe una relación entre el número de heterocitos y la fijación de nitrógeno, en las demás parcelas no existe relación alguna. Probablemente para P1, debido a la composición de formas y momento de máxima fijación de nitrógeno durante el día, la fijación es probable que sea dependiente de las formas heterocitosas.

6.2.2 La fijación de nitrógeno en periodos de 24 horas

Se estudió la variación diaria en la fijación de nitrógeno en un ciclo de 24 horas con intervalos de cada 6 horas. Se observó que para la época de secas no se encuentra ningún patrón en el momento máximo de fijación de nitrógeno. Esto se debe probablemente a las

condiciones de estrés que se encuentran en el humedal. En esta temporada las altas temperaturas, radiación UV y la falta de humedad afectan la fijación de nitrógeno. Es probable que los picos de máxima fijación se deban a las condiciones particulares de los microambientes en cada una de las parcelas debido a la diferencia de sombra y humedad relativa durante el día. Estas condiciones que favorecen a la fijación de nitrógeno pueden variar a lo largo del día entre las parcelas y por eso no encontramos un patrón. Para la temporada de inicio de lluvias y final de lluvias se observa un patrón donde la máxima fijación de nitrógeno se da entre las 12:00 y 18:00 horas. Como la muestra de gases se recuperó a las 18:00 se puede pensar que la actividad de la nitrogenasa representa el momento del atardecer en donde las longitudes de onda son en el rojo y rojo lejano. La diferencia en la actividad de la nitrogenasa ha sido observada por varios autores (Enrich-Prast & Esteves 1998; Quesada et al. 1998; Rejmánková & Komárková 2000) y no es raro que en El Edén se presentan distintos picos de actividad.

El siguiente pico de máxima fijación es en la noche entre las 18:00 y las 00:00 horas. Se ha observado en tapetes microbianos con alta biomasa, que muestran altas tasas de consumo de oxígeno por respiración durante la noche (cuando la fotosíntesis cesa), lo que ayuda a mantener las condiciones de anoxia (Bergman et al. 1997); así mismo, el catabolismo del glucógeno puede servir como fuente de energía para la fijación de nitrógeno (Baalen 1987; Fredriksson et al. 1998). Para el caso de la actividad de la nitrogenasa durante el día, se puede deber a una separación espacial de la fotosíntesis oxigénica dentro del tapete. La luz es atenuada por el perifiton y en la parte de abajo del tapete sólo penetra la luz del rojo lejano lo que resulta en una mayor actividad del fotosistema I que es anóxico y propicia condiciones anóxicas; de modo que las cyanoprokaryotas se ordenan dentro del tapete según sus necesidades metabólicas, encontrando las condiciones propicias ya sea para fotosintetizar o fijar nitrógeno.

Todo esto junto con lo revisado en el cambio y proporción de formas de Cyanoprokaryota en el perifiton y la proporción de la fijación de nitrógeno, sugiere que las cyanoprokaryotas no heterocitosos son muy importantes en su contribución a la fijación de nitrógeno en el perifiton de El Edén. Cabe mencionar que la complejidad de la comunidad microbiana que compone el perifiton no nos permite distinguir si la tasa de fijación de nitrógeno se debe a una misma población de fijadores de nitrógeno o a un rango de

poblaciones adaptadas a diferentes condiciones como es el caso de la luz, temperatura y concentración de oxígeno en cyanoprokaryotas heterocitosas o no heterocitosas. Para tal efecto, se deben establecer cultivos de diferentes especies para establecer el aporte de nitrógeno por cada una de ellas.

6.2.3 Comparación de los valores de la fijación de nitrógeno en El Edén

Los datos de fijación de nitrógeno publicados son difíciles de comparar ya que en algunos casos la fijación de nitrógeno fue determinada por la técnica ARA y en otros casos usando ^{15}N o simplemente los tiempos de incubación son diferentes ya sean horas, días, ciclos de cultivo o años, además del área registrada: cm^2 , m^2 o hectáreas. La relación de la reducción de acetileno con la tasa de fijación de nitrógeno no puede hacerse de una manera precisa sin hacer una calibración directa usando ^{15}N y esta relación puede variar. Además muchos datos publicados sobre tasas de fijación de nitrógeno son generados a partir de medidas ocasionales sin tomar en cuenta las variaciones temporales, como en nuestro estudio (temporada de secas, lluvias y final de lluvias).

El promedio de la fijación de nitrógeno en El Edén fue de $5.7 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ (abril), $34.9 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ (agosto) y $24.4 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ (noviembre), con una tasa media anual de $21.7 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$. El Edén presenta un intervalo de fijación de nitrógeno que va de 0 a $63.94 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ a lo largo del año que puede ser comparado con la tasa de fijación registrada en un humedal tropical en Belice (probablemente el más parecido al Edén), donde se reportaron valores de la fijación de nitrógeno que varían de <5 a $17.5 \eta\text{mol C}_2\text{H}_4 / \text{cm}^2 / \text{h}$ al año (Rejmánková & Komárková 2000); con la encontrada por Stewart y colaboradores (1978) en varios hábitats de Escocia, que varía entre los 0.02 y $15.7 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ y los de Nigeria de 2 a $11.2 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ y con los de Senegal donde la tasa de fijación varía de 0 a $60 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ (Buresh et al. 1980); así como en los estromatolitos de Cyanoprokaryota del lago de Alchichica, Puebla donde la tasa varía de 0.24 a $25.72 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ (Falcón-Álvarez 2000).

En condiciones de anegación, como arrozales el aporte de nitrógeno al ecosistema puede alcanzar hasta $307 \text{ mM de C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2$ en 168 días durante la estación seca (Venkatamaran 1981) o hasta 100 kg/ ha / a (Stewart 1976); los valores registrados por Postgate (1982) y Roger & Ladha (1992) para los arrozales de la India varían de 20 a 30 kg

N/ ha /a 0-1200 η M C_2H_4 / m^2 /día). En arrozales de España se reportaron valores entre los 48-598 μ M C_2H_4 / cm^2 /h (Quesada et al. 1998) y contribuciones de hasta de 30 kg N /ha /a se reportan comúnmente (Tate III 2000).

Es difícil encontrar datos disponibles sobre fijación de nitrógeno en humedales de agua dulce, especialmente en sistemas tropicales, sin embargo se han reportado valores para humedales de agua dulce que varían de los 0.01 a 6 g N / m^2 /a y valores de fijación de nitrógeno para tapetes de cyanoprokaryotas que varían de 1.3 a 76 g N / m^2 /a pero estos tapetes son en aguas saladas (Howarth et al. 1988). Se ha reportado fijación de nitrógeno para un lago amazónico, en una comunidad de perifiton con valores de 4.6-10 η M de C_2H_4 / m^2 /día (Enrich-Prast & Esteves 1998). Para tapetes algales se ha calculado 2870 μ gr N / m^2 /hr y 22.8 kg N /ha /a, 201 kg N /ha /a y se han reportado valores que varían de 3 a 14 N /ha /119 días, 204 mM C_2H_4 / m^2 /163 días y de 0 a 60 η M C_2H_4 / cm^2 /h en distintos arrozales (Buresh et al. 1980).

Estos datos dan una tendencia para comparar la tasa de fijación de nitrógeno en El Edén y demuestran lo difícil que se vuelve esta comparación debido a las diferencias en las unidades y técnicas empleadas, además de la escasez de estudios en humedales tropicales de agua dulce. Sin embargo podemos observar que los datos obtenidos se encuentran dentro del margen de los datos obtenidos para sistemas similares. Para hacer comparaciones precisas sobre la tasa de fijación de nitrógeno se debe tomar en cuenta las fuentes de aporte de nitrógeno al humedal como por medio de lluvia, escurrimientos y agua del subsuelo, junto con la tasa total de asimilación de nitrógeno requerida para satisfacer las necesidades de demanda de nitrógeno para la producción primaria del perifiton. Cabe mencionar que la importancia cuantitativa de la fijación de nitrógeno depende del requerimiento total de nitrógeno del ecosistema y en la contribución relativa de la fijación de nitrógeno biológica y otras fuentes de ingreso de nitrógeno. El significado cuantitativo de la fijación de nitrógeno en cualquier ecosistema depende del requerimiento total de ese ecosistema para el nitrógeno y en la contribución relativa del nitrógeno fijado en relación a otras fuentes de nitrógeno que lleguen.

6.2.4 El perifiton como bioindicador

Los cortos tiempos generacionales de las algas les permiten responder más rápido a los cambios en la calidad del agua que a las macrofitas o a la fauna, de manera que se ha propuesto la utilización del perifiton como indicador de la calidad del agua (McCormick et al. 1996) y como herramienta para el manejo de humedales (McCormick & Stevenson 1998; Naiman & Bilby 1998; Mandal et al. 1999).

La importancia de conocer la tasa de fijación de nitrógeno en un ecosistema, radica en la necesidad de obtener un valor inicial del nutriente, el cual es necesario para comprender las relaciones energéticas dentro de un sistema ecológico. Novelo y Tavera (en prensa) hicieron un estudio sobre el papel del perifiton en el ciclo de nutrientes en El Edén y los datos en la variación de las formas de nitrógeno (NO_3^- , NH_3) concuerdan con la variación en la tasa de fijación de nitrógeno discutida en este trabajo.

La tasa de fijación de nitrógeno, su relación con la biomasa, la estructura y composición del perifiton se pretende que sean utilizados como indicadores en proyectos futuros. Estos datos son importantes ya que se ha observado que la composición de algas es mucho más sensible a los cambios en la concentración de fósforo que la biomasa (Pan et al. 2000).

Los datos obtenidos se pueden analizar y sistematizar como medida de las condiciones ecológicas actuales del ecosistema, de modo que el perifiton pueda llegar a ser un indicador biológico al responder rápidamente a las condiciones del medio como un aumento o disminución de biomasa, cambio en la fijación de nitrógeno y en su composición de grupos y formas de algas.

Los esfuerzos de restauración necesitan condiciones de referencia antes de la perturbación para que sirvan como meta en los procesos de recuperación de las funciones del ecosistema. De esta forma el perifiton puede ser utilizado para establecer las metas en los proyectos de restauración y proveer información para las decisiones de manejo de la Reserva.

7. CONCLUSIONES

- El promedio de la fijación de nitrógeno en El Edén fue de $5.7 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ (abril), $34.9 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ (agosto) y $24.4 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$ (noviembre), con una tasa media anual de $21.7 \eta\text{M C}_2\text{H}_4 / \text{m}^2 / \text{h}$.
- No existe diferencia significativa en la fijación de nitrógeno entre las parcelas pero sí entre temporadas, lo que indica una alta dependencia de la fijación de nitrógeno con la disponibilidad de humedad.
- La biomasa del perifiton está relacionada con la fijación de nitrógeno en el perifiton de El Edén, lo que sugiere una relación independiente entre el estado metabólico de perifiton y la fijación de nitrógeno.
- El perifiton presenta una estratificación de organismos, donde las formas varían según la temporada y la profundidad en el mismo.
- En la separación espacial del perifiton se observa que cyanoprocariotas filamentosas heterocitasas se encuentran en la parte superior aprovechando la radiación solar para realizar fotosíntesis oxigénica y sirven como filtro solar para las capas inferiores.
- Las capas inferiores están compuestas en su mayoría por cyanoprocariotas no heterocitasas y la prueba de ARA indica que contribuyen de manera importante a la fijación de nitrógeno del perifiton.
- La fijación de nitrógeno por Cyanoprocariota en El Edén tiene una separación temporal, encontrando su pico máximo de fijación de nitrógeno en un ciclo de 24 horas entre las 12:00 y 18:00 hrs. lo que representa longitudes de onda del rojo lejano y favorece la idea de la contribución de formas no heterocitasas en la fijación de nitrógeno.
- La diferencia temporal y espacial en formas afecta directamente a la proporción de fijación de nitrógeno dentro del perifiton y a la tasa total de fijación de nitrógeno en las distintas temporadas.

- Se sugiere que existe un alto reciclaje de nutrientes dentro del perifiton y puede ser por ello que no se observa una acumulación de biomasa a lo largo de las temporadas ni existe formación de suelo.
- Las células muertas de una temporada sirven como una matriz para el establecimiento de las otras en la siguiente temporada y ayudan a sobrevivir esporas, tricomas y células que se mantienen vivas dentro o bajo esta matriz en la temporada de sequía.
- Se sugiere la utilización del perifiton como bioindicador en proyectos de restauración, conservación y manejo de la Reserva.

7.1 Perspectivas

Este trabajo es una primera aproximación a la fijación de nitrógeno por Cyanoprokaryota en la Reserva Ecológica El Edén y es parte de una serie de trabajos pioneros en la Reserva y en particular sobre algas de humedales tropicales de agua dulce de la Península de Yucatán. Al realizar la investigación y escribir este trabajo surgieron nuevas ideas y sugerencias para complementar este estudio y para proyectos futuros.

Considero que se debe definir un concepto de humedal para los humedales mexicanos ya que presentan características particulares que los hace diferentes de los humedales de zonas templadas.

Para complementar este trabajo se deben realizar estudios de la fijación de nitrógeno *in situ* continuos para determinar el ciclo de la fijación de nitrógeno a lo largo del año. Se deben aislar las especies fijadoras de nitrógeno para determinar cuáles especies contribuyen en mayor cantidad a la fijación de nitrógeno en el perifiton. Así mismo, se recomienda emplear técnicas de radioisótopos, N^{15} , para calibrar la prueba de ARA y analizar los productos finales metabólicos ya que esto permitiría un detallado análisis de las funciones del perifiton en el ciclo del nitrógeno.

Se pueden emplear anticuerpos fluorescentes que reconozcan la nitrogenasa en los organismos del perifiton e identificar las especies que presenten fluorescencia para

comparar si tienen o no actividad de fijación de nitrógeno en cultivos en condiciones controladas de laboratorio.

Se deben hacer mediciones de concentración de oxígeno en un ciclo de 24 horas dentro del perifiton ya que esto puede ayudar a explicar las variaciones diarias en la fijación de nitrógeno. Así mismo se sugiere evaluar la relación fotosíntesis – fijación de nitrógeno tomando en cuenta la producción de oxígeno y la irradiancia a lo largo del día.

Para conocer la dinámica del perifiton se propone hacer estudios hidrológicos para saber que tanta agua viene por subsuelo, escurrimiento y lluvia y si esta agua tiene algún aporte de nutrientes que enriquezcan al ecosistema cada temporada. Así mismo, para conocer más sobre la longevidad y procesos de recuperación del perifiton se recomienda estudiar las tasas de descomposición de los organismos y la liberación de nutrientes cuando ocurre muerte celular y el reciclaje de nutrientes dentro del perifiton.

Aunque este trabajo tuvo una aproximación hacia la comunidad del perifiton no se debe descuidar la descripción de las especies, su distribución y variación en el tiempo para hacer estudios y comparar la composición de especies en sistemas similares en distintas zonas del mundo.

8. BIBLIOGRAFÍA

Albrecht, S.L. 1998. Eukaryotic Algae and Cyanobacteria . En *Principles and Applications of Soil Microbiology*, ed. Sylvia, D.M., Fuhrmann, J.J., Hartel, PG y Zuberer, D.A., 94-113. Upper Saddle River: Prentice-Hall Inc.

App, A.A., Watanabe, I. y Alexander, M. 1980. Nonsymbiotic nitrogen fixation associated with rice plant flooded soils. *Soil Sci.* 30(5):283-289.

App, A.A., Watanabe, I., Santiago-Ventra, T., Bravo, M. y Daez-Jurey, C. 1986. The effect of cultivated and wild rice varieties on the nitrogen balance flooded soil. *Soil Sci.* 141(6):448-452.

Attridge, E.M. & Rowell, P. 1997. Growth, heterocyst differentiation and nitrogenase activity in the cyanobacteria *Anabaena variabilis* and *Anabaena cylindrica* in response to molybdenum and vanadium. *New Phytol.* 135:517-526.

Baalen, C. van. 1987. Nitrogen Fixation. En *The Cyanobacteria*, eds. Fay, P. y van Baalen, C., 187-198. Amsterdam: Elsevier.

Babu, S.G, Joshi P.C y Viswanathan P.N. 1998. UVB-Induced Reduction in Biomass and Overall Productivity of Cyanobacteria. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 244: 138-142

Barraquio, W.L., Daroy, M.L.G., Tirol, A.C., Ladha, J.K. y Wantanabe, I. 1986. Laboratory acetylene reduction assay for relative measurement of N₂ fixing activities associated with field-grown wetland rice. *Plant and Soil* 90:359-372.

Bebout, B.M. 1992. Interactions of Carbon and Nitrogen cycling in Microbial Mats and Stromatolites, Ph. D. Dissertation, University of North Carolina at Chapel Hill.

Becerra-Absalón, I. & Tavera, R. (en prensa) Cambios de la comunidad algal (perifiton) relacionados con el ciclo hidrológico en un tinal anegable en Quintana Roo. *Mex.Stud./Estud. Mex.*

Bergman, B., Gallon, J.R., Rai, A.N. y Stal, L.J. 1997. N₂ Fixation by non-heterocystous cyanobacteria. *FEMS Micr. Rev.* 19:139-185

Bold, H. & Wynne, M. 1985. *Introduction to the algae, structure and reproduction*. Segunda edición. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, Inc.

Borchardt, M.A. 1996. Nutrients. En *Algal Ecology, freshwater benthic ecosystems*, ed. Stevenson, R.J. Bothwell, M.L. y Lowe, R.L., 183-227. San Diego: Academic Press.

Bothe, H. 1982. Nitrogen fixation. En *The Biology of Cyanobacteria*, ed. Carr, N. G. & Whitton, B. A., 87-104. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Bourassa, N. & Cattaneo, A. 2000. Responses of a lake outlet community to light and nutrient manipulation: effects on periphyton and invertebrate biomass and composition. *Fresh. Biol.* 44:629-639.

Buresh R.J., Casselman M.E., y Patrik W.H. 1980. Nitrogen Fixation in Flooded Soil Systems. *Adv. Agron.* 33:149-192

Carlton, R.G., & Wetzel, R.G. 1988. Phosphorus flux from lake sediments: Effect of epipellic algal oxygen production. *Limnol. Oceanogr.* 33:562-570

Cohen, Y. 1989. Photosynthesis in cyanobacterial mats and its relation to the Sulfur Cycle: a model for microbial sulfur interactions. En. *Microbial Mats: physiological ecology of benthic microbial communities*, ed. Cohen, Y. & Rosenberg, E., 22-36. Washington D.C.: American Society for Microbiology.

Cox, B.C. & Moore, P.D. 2000. Biogeography: an ecological and evolutionary approach. Sexta edición. Oxford: Blackwell Science.

D'Antoni D'Amelio, E., Cohen, Y. y Des Marais, D.J. 1989. Comparative functional ultrastructure of two hypersaline submerged cyanobacterial mats: Guerrero Negro, Baja California Sur, México, and Solar Lake, Sinai, Egypt. En. *Microbial Mats: physiological ecology of benthic microbial communities*, ed. Cohen, Y. & Rosenberg, E., 97-113. Washington D.C.: American Society for Microbiology.

Denny, P. 1997. Implementation of constructed wetlands in developing countries. *Wat. Sci. Tech.* 35(5):27-34

DeNicola, D.M. 1996. Periphyton responses to temperature at different ecological levels. En *Algal Ecology, freshwater benthic ecosystems*, ed. Stevenson, R.J. Bothwell, M.L. y Lowe, R.L., 149-181. San Diego: Academic Press.

de Winder, B., Pluis, J., de Reus, L. y Mur, L.R. 1989. Characterization of a cyanobacterial, algal crust in the coastal dunes of The Netherlands. En. *Microbial Mats: physiological ecology of benthic microbial communities*, ed. Cohen, Y. & Rosenberg, E., 77-83. Washington D.C.: American Society for Microbiology.

Enrich-Prast, A & Esteves, F.A. 1998. Diurnal variation of rates of denitrification and nitrogen fixation of periphyton associated with *Oryza glumaepatula* Steud in an Amazonian Lake. *Hidrobiologia* 368:189-192.

Falcón-Álvarez, 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 *Nitrogen Fixation Volume 1: Ecology*, ed. Broughton, W.J., 1-29. Oxford: Calderon Press

- Fogg, G., Stewart, W., y Walsby, A. 1973. *The Blue-Green Algae*. New York: Academic Press.
- Fredriksson, C., Malin, G., Siddiqui, P.J.A. y Bergman, B. 1998. Aerobic nitrogen fixation is confined to a subset of cells in the non-heterocistous cyanobacterium *Symploca* PCC 8002. *New Phytol.* 140:531-538.
- García-Pichel, F. & Castenholz, R.W. 1991. Characterization and biological implications on scytonemin, a cyanobacterial sheath pigment. *J. Phycol.* 27: 395-409
- Giller, K.E. 1987. Use and Abuse of the acetylene reduction assay for measurement of associative nitrogen fixation. *Soil Biol. Biochem.* 19:783-784.
- Giller, K.E. & Wilson, K.J. 1991. *Nitrogen Fixation in Tropical Cropping Systems*. Wallingford: CAB International.
- Goldsborough, G & Robinson, G.G.C. 1996. Pattern in Wetlands. En *Algal Ecology, freshwater benthic ecosystems*, ed. Stevenson, R.J. Bothwell, M.L. y Lowe, R.L., 77-117. San Diego: Academic Press.
- Guerrero, M.G. & Lara, C. 1987. Assimilation of inorganic nitrogen. En *The Cyanobacteria*, ed. Fay, P. y van Baalen, C., 163-186. Amsterdam: Elsevier.
- Guerrero, R. & Mas, J. 1989. Multilayered Microbial Communities in aquatic ecosystems: growth and loss factors. En *Microbial Mats: physiological ecology of benthic microbial communities*, ed. Cohen, Y. & Rosenberg, E., 37-51. Washington D.C.: American Society for Microbiology.
- Hammer, D.A. 1992. *Creating Freshwater Wetlands*. Boca Raton: Lewis Publishers.
- Haslam, S.M., Klötzli, F. Sukopp H., y Szczepański, A. 1998. The management of wetlands. En *The Production Ecology of Wetlands*, ed. Westlake, D.F., Květ, J. & Szczepański, A., 405-464. Cambridge: Cambridge University Press.
- Hejny, S & Segal, S. 1998. General Ecology of Wetlands. En *The Production Ecology of Wetlands*, ed. Westlake, D.F., Květ, J. & Szczepański, A., 1-77. Cambridge: Cambridge University Press.
- Hillebrand, H. 1983. Development and dynamics of floating clusters of filamentous algae. En *Periphyton of freshwater ecosystems*, ed. Wetzel, R.G., 31-39. The Hague: Dr W. Junk Publishers.
- Howard, J.B. & Rees, D.C. 1996. Structural basis of biological nitrogen fixation. *Chem. Rev.* 96:2965-2982.
- Howarth, R.W. & Marino, R. 1988. Nitrogen fixation in freshwater, estuarine, and marine ecosystems: Biogeochemical controls. *Limnol. Oceanogr.* 33:688-701

Howarth, R.W., Marino, R., Lane J., y Cole J. 1988. Nitrogen fixation in freshwater estuarine marine ecosystems: Rates and importance. *Limnol. Oceanogr.* 33: 669-687

INE-SEMARNAP (Instituto Nacional de Ecología-Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca). 1997. *Programa de conservación de la vida silvestre y diversificación productiva en el sector rural 1997-2000*. México: Instituto Nacional de Ecología.

INE-SEMARNAP (Instituto Nacional de Ecología-Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca). 2000. *Programa de Manejo Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, México*. México: Instituto Nacional de Ecología.

Instituto de Geografía. 1990. *Atlas Nacional de México*. Universidad Nacional Autónoma de México.

Jones, R.C. & Mayer, K.B. 1983. Seasonal changes in the taxonomic composition of epiphytic algal communities in Lake Wingra, Wisconsin, USA. En *Periphyton of freshwater ecosystems.*, ed. Wetzel, R.G., 11-16. The Hague: Dr W. Junk Publishers.

Kadlec, R.H. & Knight, R.L. 1996. *Treatment Wetlands*. Boca Raton: Lewis Publishers.

Kallas, T., Rippka, R., Coursin, T., Rebiere, M.C., Tandean de Marsac, N. y Cohen-Bazire, G. 1983. Aereobic Nitrogen Fixation by nonheterocystus cyanobacteria. En *Photosynthetic Procaroyotes: Cell diferentiation and function*, ed. Papageorgiou, G.C. y Packer, L., 281-302. New York: Elsevier Science Publishing Co. Inc.

Kannaiyan, S., Aruna, S.J., Merina Prem Kumari, S. y Hall, D.O. 1997. Immobilized cyanobacteria as a biofertilizer for rice crops. *J. Appl. Phycol.* 9:167-174.

Kusler, J., Mitsch, W.J. y Larson, J.S. 1994. Wetlands. *Scientific American* 270(1):64-70.

Lamberti, G.A. 1996. The role of periphyton in benthic food webs.. En *Algal Ecology, freshwater benthic ecosystems*, ed. Stevenson, R.J. Bothwell, M.L. y Lowe, R.L., 533-572. San Diego: Academic Press.

Lampert W. & Sommer U. 1997. *Limnoecology: The ecology of lakes and streams*. New York: Oxford Univ. Press.

Lang, J. 1996. *Feeding a Hungry Planet: rice research and development in Asia and Latin America*. Chapel Hill: The University of North Carolina Press.

Lee, R.E. 1999. *Phycology*. Tercera edición. Cambridge: Cambridge University Press.

Liengen, T. 1999. Conversion factor between acetylene reduction and nitrogen fixation in free-living cyanobacteria from high arctic habitats. *Can. J. Microbiol.* 45:223-229.

MacDougal R.L., Goldsborough L.G. y Hann, B.J. 1997. Responses of a prairie wetland to press and pulse additions of inorganic nitrogen and phosphorus: production by planktonic and benthic algae. *Arch. Hydrobiol.* 140:145-167.

Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J. 1997. *Brock Biology of Microorganisms*. Octava edición. Englewood Cliffs: Prentice Hall.

Mandal, B., Vlek, P.L.G. y Mandal, L.N. 1999. Beneficial effects of blue-green algae and *Azolla*, excluding supplying nitrogen, on wetland rice fields: a review. *Biol. Fertil. Soils* 28:329-342.

McCormick, P.V., Rawlik P.S., Lurding, K., Smith, E.P. y Sklar, F.H. 1996. Periphyton-water quality relationships along a nutritional gradient in the northern Florida Everglades. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 15(4):433-449.

McCormick, P.V., Shuford, R.B.E., Backus, J.B. y Kennedy, W.C. 1998. Spatial and seasonal patterns of periphyton biomass and productivity in the northern Everglades, Florida, USA. *Hydrobiologia* 362: 185-208.

McCormick, P.V. & Stevenson, R.J. 1998. Periphyton as a tool for ecological assessment and management in the Florida Everglades. *J. Phycol.* 34:726-733.

Metting, B. Rayburn, W.R. y Reynaud, P.A. 1988. Algae and Agriculture. En *Algae and Human affairs*, ed. Lembi, C.A. y Waaland, J.R. 335-370. New York: Cambridge University Press.

Mitsch, W.J. & Gosselink, J.G. 1986. *Wetlands*. New York: Van Nostrand Reinhold Company.

Mitsch, J.W. & Gosselink, J.G. 2000a. *Wetlands*. Tercera edición. New York: John Wiley and Sons.

Mitsch, J.W. & Gosselink, J.G. 2000b. The value of wetlands: importance of scale and landscape setting. *Ecol. Econ.* 35:25-33.

Mitsch, W.J. Mitsch, R.H y Turner, R.E. 1994. Wetlands of the Old and New Worlds: ecology and management. En *Global Wetland Old World and New*, ed. Mitsch, W.J., 3-56. Amsterdam: Elsevier Science.

Naiman, R.J. & Bilby, R.E. 1998. *River Ecology and Management: lessons from the Pacific coastal ecoregion*. New York: Springer.

Nicholas, G.P. 1998. Wetlands and hunter-gatherers: A global perspective. *Current Anthropol.* 39(5):720-731.

Niering, W. 1997. Tidal wetland restoration and creation along the east coast of North America. En *Restoration Ecology and sustainable development*, ed. Urbanska, W. y Edwards, P., 259-285. Cambridge: Cambridge University Press.

Nold, S.C. & Ward, D.M. 1996. Photosynthate partitioning and fermentation in hot spring microbial mat communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(12): 4598-4607.

Novelo, E. & Tavera, R. (en prensa). The role of periphyton in the regulation and supply of nutrients in a wetland at El Eden, Quintana Roo. En *Lowland Maya Area: Three Millennia at the Human-Wildland Interface*, eds. Gómez-Pompa A., Fedick, S. y Allen, M., The Haworth Press, Binghamton.

National Research Council. 1995. *Wetlands: Characteristics and Boundaries*. Washington, DC: National Academy Press.

Odum, E. 1989. *Ecology and our endangered life-support systems*. Sunderland: Sinauer Associates Inc.

Olmsted, I. 1993. Wetlands of Mexico. En *Wetlands of the World I*, ed. Whigham. D.F., 637-677. Amsterdam: Academic Publishers.

Olmsted, I.C. & Durán, R. 1986. Aspectos ecológicos de la selva baja inundable de la Reserva de Sian ka'an, Quintana Roo, México. *Biotica* 11(3)151-179.

Osmond, B., Cooper, J.J., Vigg, S. y Buchen-Osmond, C. 1984. Photoinhibition of N₂ fixation, photosynthesis, and the collapse of Blue-green algal blooms. En *Nitrogen Fixation and CO₂ metabolism*, ed. Ludden, P.W. y Burris J.E., 321-329. Madison: Elsevier.

Paerl, H.W., Webb, K.L., Baker, J. y Wiebe, W.J. 1981. Nitrogen fixation in waters. En *Nitrogen Fixation Volume 1: Ecology*, ed. Broughton, W.J., 193-240. Oxford: Oxford University Press.

Paerl, H.W., Pinckney, J.L., y Kucera, S.A. 1995. Clarification of the structural and functional roles of heterocysts and anoxic microzones in the control of pelagic nitrogen fixation. *Limnol. Oceanog.* 40: 634-638.

Pan, Y., Stevenson, R.J., Vaithyanathan, P., Slate, J., y Richardson, C. 2000. Changes in algal assemblages along observed and experimental phosphorous gradients in a subtropical wetland, U.S.A. *Fresh. Biol.* 44:339-353.

Postgate, J.R. 1982. *The fundamentals of nitrogen fixation*. Cambridge: Cambridge University Press.

Prescott, L.M., Harley, J.P. y Klein, D.A. 1999. *Microbiology*. Cuarta Edición. Dubuque: Win C. Brown Publishers.

Quesada, A., Nieva, M., Leganés, F., Ucha, A., Martín, M., Prospero, C., y Fernández-Valiente, E. 1998. Acclimation of cyanobacterial communities in rice fields and response of nitrogenase activity to light regime. *Microb. Ecol.* 35:147-155

Rakshit, S.K., Loan, N.T. y Johnsen, S. 1999. Fate of blue-green algae in the food web of flooded rice-field ecosystems. *Biol. Fertil. Soils* 29: 141-145.

Rejmánková, E. & Komárková, J. 2000. A function of cyanobacterial mats in phosphorus-limited tropical wetlands. *Hydrobiologia* 431: 135-153

Robinson, G.G.C., Gurney, S. y Goldsborough, L.G. 1997. Response of benthic and planktonic algal biomass to experimental water-level manipulation in a prairie lakeshore wetland. *Wetlands*. 17(2):167-181.

Roger, P.A. 1996. *Biology and management of the floodwater ecosystem in ricefields*. Manila: International Rice Research Institute.

Roger, P.A. & Ladha J.K. 1992. Biological N₂ fixation in wetland rice fields: estimation and contribution to nitrogen balance. *Plant and Soil* 141: 41-55.

Roos, P.J. 1983. Dynamics of periphytic communities. En *Periphyton of freshwater ecosystems*, ed. Wetzel, R.G., 5-10. The Hague: Dr W. Junk Publishers.

Rosemond, A.D., Mulholland, P.J. y Brawley, S.H. 2000. Seasonally shifting limitation of stream periphyton: response of algal populations and assemblage biomass and productivity to variation in light, nutrients, and herbivores. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57:66-75.

Rowell, P. & Kerby, N.W. 1991. Cyanobacteria and their symbionts. En *Biology and Biochemistry of Nitrogen Fixation*, eds. Dilworth, M.J. & Glenn A.R., 373-401. Elsevier, The Netherlands.

Scott, D.A. y Carbonell, M. (comps.) 1986. *Inventario de Humedales de la Región Neotropical*. Cambridge: IWRB-UICN.

Siemens, A., Hebda, R.J., Navarrete Hernández, M.N., Piperno, D.R., Stein, J.K. y Zola Baez, M.G. 1988. Evidence of a cultivar and a chronology from patterned wetlands in Central Veracruz, México. *Science*. 242(4875):105-113.

Söderqvist, T., Mitsch, J.W. y Turner, K.R. 2000. Valuation of Wetlands in a landscape and institutional perspective. *Ecol. Econ.* 35:1-6.

Stal, L.J. 2000. Cyanobacterial Mats and Stromatolites. En *The ecology of cyanobacteria. Their diversity in time and space*, eds. Whitton, B.A. y Potts, M., 61-120. Amsterdam: Kluwer Academic Publishers.

Stal, L.J., Grossberger, S. y Krumbein, W.E. 1984. Nitrogen fixation associated with the cyanobacterial mat of a marine laminated microbial ecosystem. *Mar. Biol.* 82:217-224

Steinman, A.D. 1996. Effects of grazers on freshwater benthic algae. En *Algal Ecology, freshwater benthic ecosystems*, eds. Stevenson, R.J. Bothwell, M.L. y Lowe, R.L., 341-373. San Diego: Academic Press.

Stevenson, R.J. 1996. Patterns of benthic algae in aquatic ecosystems. En *Algal Ecology, freshwater benthic ecosystems*, eds. Stevenson, R.J. Bothwell, M.L. y Lowe, R.L., 1-30. San Diego: Academic Press.

Stewart, W.D.P. 1976. Nitrogen fixation. *Phil. Trans. R. Soc. London. B.* 274: 341-358

Stewart, W.D.P. 1977. Blue-Green Algae. En *A Treatise on Dinitrogen Fixation. Section III. Biology*, eds. Hardy R.W.F. y Silver W.J., 93-123. Chichester: John Wiley and Sons.

Stewart, W.D.P. 1980. Transport and Utilization of Nitrogen Sources by Algae. En: *Microorganisms and Nitrogen Sources*, ed. Payne, J., 577-607. Chichester: John Wiley and Sons.

Stewart, W.D.P., Sampaio M.J., Isichei A.O., y Silvestre-Bradley R. 1978. Nitrogen fixation by soil algae of temperate and tropical soils. En *Limitations and potentials for biological nitrogen fixation in the tropics*, ed. Döbereiner B., Hollaender R., 41-63. New York: Plenum Press.

Sze, P. 1998. *A biology of the algae*. Tercera edición. Boston: WCB/McGraw-Hill.

Tate III, R. L. 2000. *Soil Microbiology*. Segunda edición. New York: John Wiley and Sons.

Tiner, R.W. 1999. *Wetland Indicators: A guide to wetland identification, delineation, classification, and mapping*. Boca Raton: Lewis Publishers.

Tundisi, J.G. 1994. Tropical South America: present and perspectives. En *Limnology Now*, ed. Margalef, R., 353-424. Amsterdam: Elsevier Science.

United States Environmental Protection Agency (USEPA). 1997. Method 445.0 In vitro determination of chlorofyll *a* and pheophytin *a* in marine and freshwater algae by fluorescence. National Exposure Research Laboratory. U.S. Environmental Protection Agency. Cincinnati. <<http://www.epa.gov/nerlewww/marinmet.htm>>

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.

Vymazal, J. 1995. *Algae and element cycling in wetlands*. Boca Raton: Lewis Publishers.

Watanabe, I. & Brotonegoro, S. 1981. Paddy Fields. En *Nitrogen Fixation Volume 1: ecology*, ed. Broughton, W.J. 241-263. Oxford: Clarendon Press

Warner, B.G. 1998. Clasificación de Humedales. En *Manual para el Manejo y la Conservación de los Humedales en México: Textos Adicionales*, eds. Abarca, E. y Herzing, A. Instituto de Ecología.

Weaver, R. & Danso S. 1994. Dinitrogen Fixation. En: *Methods of Soil Analysis, Part2 Microbiological and Biochemical Properties*. S.S.S. of America, Soil Science Society of America, 1019-1045. Madison.

Westermann, P. 1993. Wetland and swamp microbiology. En *Aquatic Microbiology: an ecological approach*, ed. Ford, E.T., 215-238. Boston: Blackwell Scientific Publications.

Wetzel, R.G. 1975. *Limnology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Wetzel, R.G. 1983. Recommendations for future research on periphyton. En *Periphyton of freshwater ecosystems*, ed. Wetzel, R.G., 339-346. The Hague: Dr W. Junk Publishers.

Wetzel, R.G. 1996. Nutrient cycling in lentic freshwater ecosystems. En: *Algal Ecology, freshwater benthic ecosystems*, ed. Stevenson, R.J. Bothwell, M.L. y Lowe, R.L., 641-667. San Diego: Academic Press.

Wetzel, R.G. & Likens, G. 1991. *Limnological Analyses*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Whitton, B.A. 2000. Soils and Rice-Fields. En *The ecology of cyanobacteria. Their diversity in time and space*, ed. Whitton, B.A. y Potts, M., 233-255. Amsterdam: Kluwer Academic Publishers.

Whitton, B.A. & Carr, N.G. 1982. Cyanobacteria: Current perspectives. En *The Biology of Cyanobacteria*, ed. Carr, N. G. y Whitton, B. A., 1-8. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Wolk, C.P. 1982. Heterocysts. En *The Byology of Cyanobacteria*, ed. Carr, N. G. y Whitton, B. A., 87-104. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Wu, X. & Mitsch, W.J. 1998. Spatial and temporal patterns of algae in newly constructed freshwater wetlands. *Wetlands*. 18(1):9-20.

Yoshida, T. & Ancajas, R.R. 1973. Nitrogen-fixing activity in upland and flooded rice field. *Soil Sci. Soc. Am.* 37: 42-46.

Zhang, Y. & Scherer, H.W. 2000. Mechanisms of fixation and release of ammonium in paddy soils after flooding. II Effect of transformation of nitrogen forms on ammonium fixation. *Biol. Fertil. Soils* 31:517-521.