

La producción neta de óxido nitroso en un humedal urbano en Colombia es principalmente influenciada por cambios estacionales

Maribeb Castro-González* y Angélica González

Grupo de Investigación, HIDROBIA, Programa de Biología Aplicada, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada. Km. 2 vía Cajicá-Zipacquirá, campus Nueva Granada. Colombia.

* Corresponding author: maribeb.castro@unimilitar.edu.co

Received: 01/02/19

Accepted: 11/10/19

RESUMEN

La producción neta de óxido nitroso en un humedal urbano en Colombia es principalmente influenciada por cambios estacionales

Los humedales urbanos como áreas de protección de la biodiversidad y de la calidad ambiental en las ciudades son ecosistemas con una compleja dinámica microbiana que incluye la producción y el consumo del N_2O que ha sido poco explorada en las áreas tropicales. El objetivo de este estudio fue determinar si la nitrificación y/o desnitrificación están asociados a la producción neta de N_2O en el humedal urbano Santa María del Lago en la ciudad de Bogotá (Colombia). Para ello, se realizaron experimentos de laboratorio usando inhibidores (alliltiourea y acetileno) y analizando la variación espacio-temporal de parámetros físico-químicos en muestras de agua y sedimento. Los resultados mostraron que la concentración de N_2O en agua superficial fue menor a los valores atmosféricos y presentó variación temporal entre la época lluviosa y seca. Se cuantificó producción neta de N_2O de hasta $0.059 \pm 0.013 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ durante la época seca, y se estimó un aporte por nitrificación de entre 38 – 80 %. En época de lluvias se observó un consumo neto de N_2O de hasta $-0.035 \pm 0.011 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ dado por desnitrificación asociado a bajos niveles de O_2 . En esta época también se observó incremento en los niveles de nitrógeno orgánico total en aguas de fondo e incremento en los niveles de materia orgánica, fósforo y amonio en sedimentos comparado con la época seca, mientras que, en aguas de fondo, los niveles de amonio, nitrato y fósforo fueron bajos y similares entre épocas y sitios de muestreo. Estos datos sugieren que la dinámica temporal de los procesos microbianos de nitrificación y desnitrificación están determinando la cantidad de N_2O que puede ser generado desde este humedal hacia la atmósfera y aunque su emisión aún no es significativa para el balance global de este gas invernadero, puede incrementarse en la medida que los humedales urbanos de la ciudad de Bogotá reduzcan su superficie por la disminución en el régimen de lluvias que se ha observado en las últimas décadas, por efecto del cambio climático.

Palabras clave: nitrificación, desnitrificación, óxido nitroso, humedal, nitrógeno

ABSTRACT

Net nitrous oxide production from an urban wetland in Colombia is mainly influenced by seasonal changes

Urban wetlands act as biodiversity and environmental quality protection areas in cities. They are ecosystems with a complex microbial dynamic that includes the production and consumption of N_2O that has been little explored in tropical areas. The goal of this study was to determine whether nitrification and/or denitrification are associated with the net production of N_2O in the Santa María del Lago urban wetland in the city of Bogotá. For this, laboratory experiments were carried out using inhibitors (N-Allylthiourea and acetylene) and analyzing the spatial and temporal variation of physical and chemical parameters in water and sediment samples. The results showed that the concentration of N_2O in surface water was lower than atmospheric values and presented temporal variation between rainy season and dry season. A net production of N_2O of up to $0.059 \pm 0.013 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ during the dry season was quantified, and a nitrification contribution between 38 and 80 % was estimated. In the rainy season, a net N_2O consumption of up to $-0.035 \pm 0.011 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ was observed due to denitrification associated with low levels of O_2 . At this time, there was also an increase in the levels of total organic nitrogen in bottom waters and an increase in the levels of organic matter, phosphate and ammonium in sediments compared to the dry season. While in bottom waters, ammonium levels, nitrate and phosphate were low and similar between seasons and sampling areas. These data

suggest that the temporal dynamics of microbial nitrification and denitrification processes are determining the amount of N₂O that can be efflux from this wetland to the atmosphere. Although its emission is not yet significant for the global balance of this greenhouse gas, it can be increased considering that urban wetlands in the city of Bogotá are reducing their surface due to the decrease in the rainfall regime that has been observed in the last decades, due to climate change.

Key words: nitrification, denitrification, nitrous oxide, wetlands, nitrogen

INTRODUCCIÓN

Los humedales son ecosistemas altamente dinámicos, y productivos, que sirven como reservorio de carbono y gases de efecto invernadero y que debido a las distintas condiciones ecológicas que dentro de ellos se encuentran son una fuente importante para la diversidad de flora y fauna (Secretaría de la Convención de Ramsar, 2006). Los humedales que se encuentran en Bogotá presentan un alto riesgo de vulnerabilidad ante el cambio climático, ya que se prevé que el clima será más seco (reducción del 20 % en la precipitación) y más cálido (incremento de la temperatura en 2.8 °C) para la cuenca alta del río Bogotá en las próximas décadas (IDEAM *et al.*, 2001), lo que probablemente llevará a una reducción en sus niveles de agua afectando directamente la diversidad de flora y fauna asociadas a este hábitat. Dichos cambios pueden ser más drásticos dadas las variaciones climáticas interanuales como son el efecto del Niño y la Niña que alteran las épocas de lluvias y sequía en la región.

Por lo anterior, el estudio de las comunidades microbianas en estos ecosistemas es de suma importancia, dado que de ellas depende el reciclaje de nutrientes y gases invernadero, así como la depuración de contaminantes que determinan el buen estado del ecosistema. En ese sentido, un primer paso en esa dirección es estudiar la actividad de las comunidades bacterianas, específicamente de las nitrificantes y desnitrificantes que son capaces de oxidar la materia orgánica y disminuir los altos niveles de nitrato, amonio y óxido nitroso en los cuerpos de agua teniendo en cuenta que muchas bacterias crecen a expensas del N₂O como el único aceptor de electrones (Zumft, 1997). Esta propiedad se ha usado como un método de enriquecimiento de *P. stutzeri* desde suelos (Pichinoty *et al.*, 1977), para el aislamiento de mutantes que no usan el N₂O en su respira-

ción (Zumft *et al.*, 1985) y para identificar bacterias que respiran N₂O, aunque no son desnitrificantes como *Wolinella succinogenes* (Yoshinari, 1980). Por otra parte, es bien sabido que en los humedales dependiendo de la concentración de oxígeno, la nitrificación, la reducción desasimilativa de nitrato a amonio, anammox y la desnitrificación parcial pueden ser fuentes de N₂O (Audet *et al.*, 2014, Canchala, 2014, Ma *et al.*, 2017). Este es un gas de efecto invernadero con un potencial de calentamiento 265-268 veces mayor que el del CO₂ en un periodo de 100 años y cuyo contenido en la atmósfera se ha incrementado en un 0.2-0.3 % anual (IPCC, 2014). El N₂O es un producto intermedio de la desnitrificación a bajos niveles de oxígeno disuelto (O₂), dado que la reductasa de N₂O puede verse inhibida por presencia de O₂, mientras que el N₂O es un subproducto del primer paso de la nitrificación en el cual se oxida amonio a nitrito en presencia de oxígeno (Zumft, 1997). Por esto, la importancia de estudiar las comunidades microbianas implicadas directamente en el incremento de las emisiones de N₂O atmosférico provenientes de ecosistemas acuáticos, como los humedales donde se ha estimado que pueden aportar entre 0.5 hasta 84 kg-N₂O ha⁻¹ año⁻¹ dependiendo de si estos son naturales o construidos (EPA, 2010, Cooke *et al.*, 2008, Yu *et al.*, 2007, Johansson *et al.*, 2003).

Son varios los estudios que muestran que la calidad del agua de los humedales en Colombia en general es deficiente presentando diferentes estados de eutrofización debido a los aportes de compuestos fosforados y nitrogenados que son vertidos a estos cuerpos de agua (Mejía, 2006). En la ciudad de Bogotá existen 13 humedales en la mayoría de los cuales se han realizado estudios de calidad de agua y planes de manejo ambiental (IAVH, 1999, DAMA 2000, EAAB, 2006, Secretaría Distrital de Ambiente, 2011, Camayo *et al.*, 2011). Entre los mejor caracterizados se encuen-

tran los humedales Jaboque (EAAB, 2006; Mejía, 2006) y Santa María del Lago (SML) (López, 2012, Canter *et al.*, 2005, Buitrago *et al.*, 2004; Blanco, 2008; Secretaría Distrital de Ambiente, 2011). El humedal de SML está a 2550 metros sobre el nivel del mar, en la localidad de Engativá y fue declarado Parque Ecológico Distrital en el año 2000. Perteneció a la cuenca hidrográfica del río Salitre, y actualmente está interconectado por drenajes subterráneos y recibe alrededor de diez afluentes de aguas lluvias, algunas mezcladas con aguas negras, escorrentía superficial y aguas freáticas. Presenta una extensión de 10.8 hectáreas, de las cuales 5.64 ha corresponden al espejo de agua. El humedal SML está sujeto a un régimen de precipitación bimodal con periodos lluviosos entre marzo-mayo y octubre-noviembre, posee riqueza de gramíneas, herbáceas (flotantes y no flotantes) y aves migratorias (Secretaría Distrital de Ambiente, 2011).

Son pocos los estudios que han reportado información referente a la generación de gases invernadero en humedales de la sabana de Bogotá, uno de ellos es el de Mejía (2006), el cual indica que, a pesar de la rehabilitación de tres humedales, éstos siguen siendo fuente de metano. Sin embargo, no hay estudios relacionados con la generación de N_2O desde estas áreas que ocupan una extensión de aprox. 800 ha en Bogotá y en las cuales se presentan diferentes grados de eutrofización. Para el humedal SML se han reportado altos niveles de nitrato, demanda biológica de oxígeno y demanda química de oxígeno, y bajos niveles de amonio y oxígeno que alcanzan anoxia en el sedimento en algunos sectores, además de un régimen hidrológico influido por las condiciones ambientales y cambios climáticos locales (López, 2012; Blanco, 2008; Canter *et al.*, 2005; Buitrago *et al.*, 2004). Incluso, se ha podido determinar que a lo largo del año puede presentar áreas eutróficas, mesotróficas y oligotróficas dependiendo de la época y área de muestreo (López, 2012). Con base en las anteriores características se tomó este humedal como área de estudio con el objetivo de determinar si el humedal SML puede ser fuente importante de N_2O y si la producción neta de este gas por parte de la comunidad microbiana varía espacio-temporalmente en relación con los factores ambientales prevalentes.

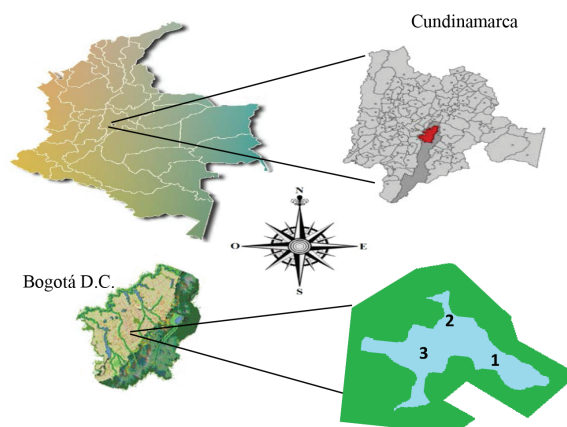


Figura 1. Ubicación de los sitios de muestreo en el humedal Santa María del Lago, Bogotá. Tomada y modificada con permiso previo de López (2012). *Location of sampling sites in the Santa María del Lago wetland, Bogotá, Colombia. Modified with permission from López (2012).*

METODOLOGÍA

Área de estudio

El estudio se realizó en el humedal de Santa María del Lago que está ubicado al noroccidente de Bogotá a $04^{\circ} 41' 32.17''$ N - $74^{\circ} 05' 40.71''$ O, $04^{\circ} 41' 47.69''$ N - $74^{\circ} 05' 37.90''$ O y $04^{\circ} 41' 35.95''$ N - $74^{\circ} 05' 47.24''$ O, $04^{\circ} 41' 41.5''$ N - $74^{\circ} 05' 31.35''$ O. Los muestreos se realizaron durante una época seca (julio 2017) y una época de lluvias (noviembre 2017), y se escogieron tres puntos de muestreo (Fig.1) con características ambientales contrastantes y la presencia o no de vertidos de aguas residuales.

Métodos de muestreo

En cada punto de muestreo se midió el oxígeno disuelto, pH, conductividad, sólidos disueltos totales y temperatura en la superficie del agua y el fondo con un equipo multiparámetro marca Oakton®. Se tomaron muestras de agua de fondo (10 L) con botellas Van Dorn para el desarrollo de los experimentos en laboratorio y determinación de parámetros físico-químicos en agua como N_2O disuelto (en superficie y fondo por triplicado), nutrientes disueltos (amonio y nitrato por duplica-

do y fosfato solo una réplica) y carbono y nitrógeno orgánico total (una réplica). Para determinar el N_2O disuelto las muestras de agua se pasaron directamente de las botellas de muestreo a tubos por triplicado, marca Labco Exetainer de tapa rosca de 11 ml, especiales para la toma de gases, a los cuales se agregaron 50 μ l de solución saturada de $HgCl_2$ y se refrigeraron hasta su cuantificación. Para la determinación de nutrientes en el agua se filtraron 500 ml del agua por membranas de 0.45 μ m (Millipore, Durapore) y el agua se congeló a $-20^\circ C$ hasta su cuantificación. La determinación de N amoniacal se realizó por el método titrimétrico (Método estándar 4500-NH₃), la de nitratos por espectrofotometría UV (Método estándar 4500-NO₃⁻), la de fosfatos mediante el método de ácido ascórbico (Método estándar 4500-P) y la del carbono y nitrógeno orgánico total (COT y NOT) se realizó por el método de combustión a alta temperatura (Método estándar 5310 B) y el método Semi-Micro-Kjeldahl (Método estándar 4500-Norg) respectivamente, de acuerdo al manual de la American Public Health Association (APHA 2005).

En los tres puntos se tomaron muestras de sedimentos (500 g) en bolsas whirlpack que se congelaron hasta los análisis de pH por método potenciométrico, amonio por colorimetría (Método estándar 4500-NH₃ B), nitrato por espectrofotometría UV (Método estándar 4500-NO₃⁻ B), fósforo por digestión y colorimetría, Carbono orgánico total (COT) por digestión y titulometría (NTC 5403) y materia orgánica por combustión, de acuerdo con los métodos analíticos del Laboratorio Nacional de suelos del Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC, 2006).

Experimentos de laboratorio

Los experimentos se realizaron bajo atmósfera de N_2 , para evitar la oxigenación de las muestras. El agua que se usó para las incubaciones se distribuyó en botellas de 1 L oscuras a las que se les adicionó cloranfenicol (1 g/L) para evitar la síntesis enzimática durante los ensayos. Para cada una de las tres áreas de estudio y en ambas épocas de muestreo se realizaron tres experimentos, el primero, correspondió al ensayo control donde se estimó la producción neta de N_2O tanto por

desnitrificación como por nitrificación, el segundo correspondió a la inhibición de la producción de N_2O por nitrificación agregando Alitiourea-ATU (100 mg/L) inhibidor de la oxidación de amonio a nitrito (Ginestet *et al.*, 1998), y el tercero en el que se determinó la producción de N_2O por desnitrificación a través de la inhibición con acetileno (15 % v/v), de la reducción de N_2O a N_2 (Yoshinari *et al.*, 1977). Para cada uno de los tres experimentos (control, ATU y acetileno) se adicionaron 10 g de sedimentos y 90 ml de agua de cada área de estudio en 9 frascos ámbar de 110 ml que permitieran el análisis de la evolución del N_2O durante 48 horas. A las 0, 24 y 48 horas frascos por triplicado fueron fijados con 0.1 ml de $HgCl_2$ saturado para parar la actividad microbiana y se almacenaron a $4^\circ C$ hasta realizar la toma de gases. De tal forma que para cada época de muestreo se trabajó con un total de 81 frascos correspondientes a tres sitios de muestreo con tres tratamientos independientes (control, ATU, acetileno) en cada uno de ellos y con 9 frascos por tratamiento que permitieran cuantificar la evolución del N_2O en cada tiempo (0, 24 y 48 horas) por triplicado.

Paralelamente, para ambas épocas y cada sitio de muestreo, se realizaron ensayos por duplicado en botellas de 500 ml siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente (excepto por la adición de 25 g de sedimento en lugar de 10 g), para la determinación de la evolución del amonio y nitrato durante 48 horas. De estas botellas se tomaron muestras de agua (200 ml) a las 0 y 48 horas, se fijaron con 0.5 ml de $HgCl_2$ saturado, se filtraron por membranas de 20, 11 y 0.45 μ m y se congelaron hasta el análisis de ambos iones por técnicas espectrofotométricas siguiendo los métodos APHA (2005).

Cuantificación de N_2O en muestras de agua (superficie y fondo) y experimentos

Para esto se realizó la técnica de equilibrio de fases gaseosa-líquida de McAuliffe (1971), para lo cual se inyectaron 4 ml o 40 ml de He ultrapuro a los tubos de 11 o 110 ml respectivamente y se agitaron dos horas a $40^\circ C$ para equilibrar los gases entre ambas fases. Luego, se tomó una muestra de la fase gaseosa (4 ml de los tubos y

25 ml de los frascos) y se inyectó en viales pre evacuados al vacío para su cuantificación con un cromatógrafo de gases (Shimadzu GC), equipado con detector de captura de electrones ^{63}Ni a 325 °C (N_2O), con fase móvil de N_2 ultra puro y un límite de detección de 0.1 ppb. Se usaron estándares de N_2O balanceados en N con una precisión de $\pm 5\%$. La concentración de N_2O disuelto se calculó usando la fórmula de solubilidad de Weiss & Price (1980).

Con estos datos se estimaron las tasas de producción o consumo del N_2O por las comunidades microbianas durante el tiempo de incubación de la siguiente manera: la producción de N_2O por nitrificación (N_2Opn) se estimó con base en la diferencia entre las tasas cuantificadas en los experimentos de producción neta de N_2O (N_2O neto) en el ensayo control y las tasas cuantificadas en los experimentos con inhibidores (N_2O inhibido) ya sea con ATU o en algunos casos con acetileno, dado que, ambos compuestos evitan, la oxidación de amonio a nitrito al inhibir la enzima amonio oxigenasa de las bacterias nitrificantes evitando la producción de N_2O por esta vía (Offre *et al.*, 2009). Por lo tanto, la disminución en la producción de N_2O en los experimentos con uno

u otro inhibidor es indicativo de su efecto sobre la nitrificación. La tasa de producción de N_2O por desnitrificación (N_2Opd) se cuantificó sólo en los experimentos con acetileno donde fue evidente la acumulación de N_2O durante las 48 horas de incubación indicando que sí se dio una inhibición efectiva de la reductasa de N_2O .

Análisis de los datos

Las tasas de producción y consumo de N_2O , se realizaron con un análisis de regresión lineal de todos los datos obtenidos en las tres replicas durante las 48 horas del experimento, y la tasa se estimó a partir de la pendiente obtenida en dicho análisis. Los valores positivos indicaron producción de N_2O y los valores negativos representaron su consumo. El error en la tasa se estimó desde el error estándar de la pendiente. Las tasas de producción y consumo de amonio y nitrato se estimaron por la diferencia entre el valor final (48 horas) y el valor inicial (0 horas) cuantificado de cada nutriente, estimando el promedio y desviación estándar de dos réplicas. Se usó el programa estadístico R versión 3.0.2 (Murdoch *et al.*, 2013) para realizar el análisis de varianza que permitió

Tabla 1. Parámetros físico-químicos medidos en muestras de agua superficial (S) y de fondo (F) del Humedal Santa María del Lago en época seca y lluviosa. Nd = no determinado. *Physical and chemical parameters measured on surface (S) and bottom (F) water samples at Santa María del Lago wetland in dry and rainy seasons. Nd = undetermined.*

	PUNTO 1		PUNTO 2		PUNTO 3	
	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa
	F/S	F/S	F/S	F/S	F/S	F/S
Profundidad (m)	2	2.5	1	1.5	3	3.5
Conductividad (μS)	165/126	129/112	138/125	153/100	130/132	124/109
Sólidos Disueltos totales ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	87/63	65/51	68/63	77/53	65/66	61/52
Oxígeno Disuelto (%)	35.4/79.2	12.5/77.9	49.4/60.2	7.9/51.5	36.2/77.7	10.9/69.5
Oxígeno (mg/L)	2.5/5.6	0.9/5.5	3.2/4.3	0.53/3.8	2.6/5.5	0.8/4.6
Óxido nitroso (ppb)	nd	276 $\pm$ 26/288 $\pm$ 7	375 $\pm$ 18/nd	302 $\pm$ 55/266 $\pm$ 3	nd/282 $\pm$ 10.4	254 $\pm$ 4/253 $\pm$ 2
pH	7.3/7.2	6.0/6.5	6.5/6.5	6.5/6.7	6.4/6.6	6.1/6.5
Temperatura (°C)	16.7/17.5	16.5/17.6	16.8/16.9	17.5/17.2	16.8/17.4	16.1/17.5

evaluar la significancia de las diferencias entre la cuantificación de óxido nítrico que se realizó en los experimentos por triplicado en tres puntos y dos épocas de muestreo. Con el mismo programa se analizaron los supuestos de normalidad y residuos, análisis de autocorrelación (test de Durbin & Watson) y homogeneidad de varianzas (test de Levene). Para los datos que no tuvieron réplicas como los físico-químicos en sedimentos no se realizó este análisis.

RESULTADOS

Los parámetros físicoquímicos (Tabla 1) del área de estudio mostraron que los niveles de oxígeno disuelto fueron menores tanto en fondo respecto de superficie como en época lluviosa respecto de época seca. En los tres puntos se observaron bajos niveles de oxígeno en el fondo durante la época lluviosa que oscilaron entre 0.53-0.90 mg/L siendo el punto 2 (el más somero), el que presentó los más bajos valores (0.53 mg/L O₂). En época seca los niveles incrementaron entre 2.5-3.2 mg/L en los tres puntos y en la superficie el O₂ osciló entre 3.8-5.6 mg/L siendo el punto 2 el que presentó los más bajos valores en ambas épocas muestreadas.

Los niveles de N₂O (media $\pm$ desviación estándar) en el agua presentaron concentraciones menores a las reportadas para el aire (328.9 ppb) excepto en el área más somera, punto 2 (375 $\pm$ 18 ppb). La concentración de N₂O disuelto en el

agua osciló entre 253 $\pm$ 2 y 375 $\pm$ 18 ppb y mostró los menores valores en época lluviosa en el área con mayor profundidad, punto 3 (253 $\pm$ 2 ppb) sin diferencias entre superficie-fondo.

El pH se mantuvo en niveles levemente ácidos a neutros entre 6.0 y 7.3 sin diferencias entre superficie y fondo ni entre sitios y épocas de muestreo. La temperatura osciló entre 16.1 °C a 17.6 °C, la conductividad osciló entre 100-165 μ S y los sólidos disueltos totales entre 51-87 μ S/cm, sin diferencias entre superficie y fondo, ni entre sitios o entre épocas de muestreo.

En el agua de fondo del humedal (Tabla 2) se cuantificaron niveles de amonio entre 0.2 y 0.47 mg/L siendo el área 3 la que presentó los mayores valores en época lluviosa seguido por el punto 2 y el punto 1. El nitrato osciló entre 0.56 y 1.5 mg/L entre épocas y puntos de muestreo, mientras que el fosfato estuvo por debajo de 0.12 mg/L en todos los puntos. El porcentaje de NOT varió entre 0.4 y 18 %, observándose que el punto 1 fue el que presentó la mayor diferencia (casi en 40 veces) entre época seca y lluviosa, tendencia que también se observó para el punto 2 aunque en menor proporción (aumento en 4 veces) pero que no se observó en el punto 3 donde el porcentaje de NOT fue igual. El porcentaje de COT osciló durante el estudio entre 14 y 58 % y éste mostró un patrón diferente al NOT dado que en la época de lluvias solo aumentó en el punto uno en 23 %,

Tabla 2. Determinación de nutrientes disueltos, nitrógeno y carbono orgánico en agua de fondo del humedal Santa María del Lago durante época seca y lluviosa. *Determination of dissolved nutrients, organic nitrogen and carbon in bottom waters at Santa María del Lago wetland in dry and rainy seasons.*

	Punto 1		Punto 2		Punto 3	
	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa
Amonio mg/L	<0.2	0.23 $\pm$ 0.0	<0.2	0.41 $\pm$ 0.15	<0.2	0.47 $\pm$ 0.10
Nitrato mg/L	<1.5	1.37 $\pm$ 0.0	<1.5	1.04 $\pm$ 0.07	<1.5	0.56 $\pm$ 0.21
Fosfato mg/L	<0.12	<0.12	<0.12	<0.12	<0.12	<0.12
Nitrógeno orgánico total (%)	0.43	17.06	0.88	3.2	1.13	1.2
Carbono orgánico total (%)	47.8	58	32.9	18.9	54.2	14.5

Tabla 3. Determinaciones de nutrientes disueltos, pH y materia orgánica (%) en sedimentos del humedal Santa María del Lago en época seca y lluviosa. *Determinations of dissolved nutrients, pH and organic matter at Santa María del Lago wetland sediments in dry and rainy seasons.*

	Punto 1		Punto 2		Punto 3	
	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa
Materia orgánica (%)	23	20	15	26	26	36
Carbono orgánico total (%)	8.3	9.9	8.6	10.5	8.4	10.4
Fósforo (mg/kg)	55.9	199.9	63.1	107.0	24.2	174.5
Nitrato (mg/kg)	<50.0	<50.0	<50.0	<50.0	<50.0	<50.0
Amonio (mg/kg)	4.0	18.4	4.8	23.5	3.3	33.5
pH	6.6	6.6	6.1	6.3	6.8	6.4

mientras que en los puntos 2 y 3 descendió en 57 % y 26 % respectivamente.

Las determinaciones que se realizaron en sedimentos del humedal SML (Tabla 3) mostraron un pH ácido que osciló entre 6.1 y 6.8 y niveles de materia orgánica entre 15 y 36 % con incrementos del 80 % en el punto 2 y de 50 % en el punto 3 en época de lluvias respecto a la época seca. El COT osciló entre 8 y 10 % con incrementos de ≈ 10 % en época de lluvias en todos los puntos de muestreo. El fósforo osciló entre 24.2 y 199.9 mg/kg siendo evidente un incremento de 7.2 veces (600 %) en el punto 3, seguido por 3.5 veces (250 %) en el punto 1 y de 1.7 veces (70 %) en el punto 2. El amonio varió entre 3.3 y 33.5 mg/kg observándose durante la época de lluvias un fuerte incremento de hasta 900 % en el punto 3 seguido por 400 % en el punto 2 y 350 % en el punto uno. Para el nitrato no fue posible determinar diferencias entre épocas y sitios de muestreo a causa de que el límite de detección de la metodología de cuantificación usada no fue el adecuado por lo que se reportaron valores de 50 mg/kg en todos los puntos.

Los resultados de los experimentos para determinar los procesos microbianos involucrados en la producción/consumo de N_2O en el humedal SML (Tabla 4) mostraron diferencias significativas en las estimaciones de N_2O entre épocas ($p =$

0.001 y $F = 10.15$) y sitios de muestreo ($p = 0.004$ y $F = 5.6$). Para la época seca, en el punto 1 se observó consumo neto de N_2O por la comunidad microbiana con tasas de -0.040 ± 0.011 ng g⁻¹ d⁻¹, y se estimó que la comunidad nitrificante aporta N_2O a tasas de 0.037 ± 0.004 ng g⁻¹ d⁻¹. En contraste en el punto 2 se observó una producción neta de N_2O a tasas de 0.059 ± 0.013 ng g⁻¹ d⁻¹, y se estimó que entre un 38 y un 80 % fue producido por nitrificación a tasas de 0.023 ± 0.013 y 0.047 ± 0.006 ng g⁻¹ d⁻¹ cuando se inhibió la comunidad con acetileno o con ATU respectivamente. En el punto 3 se cuantificó una tasa neta de producción de N_2O de 0.044 ± 0.007 ng g⁻¹ d⁻¹ similar a la anterior sin diferencias significativas entre puntos ($p = 0.296$ y $F = 1.24$), y se estimó que la nitrificación contribuyó con un 41 % a una tasa de 0.018 ± 0.00 ng g⁻¹ d⁻¹ al inhibir con acetileno.

En la época lluviosa, se observó consumo neto de N_2O para los puntos 1 y 2 a tasas muy similares -0.033 ± 0.015 y -0.035 ± 0.011 ng g⁻¹ d⁻¹ respectivamente. Estos resultados indican que el N_2O está siendo consumido por los desnitrificantes en las áreas someras y que allí la nitrificación contribuye a la producción de N_2O a tasas de entre 0.005 a 0.024 ng g⁻¹ d⁻¹ con diferencias significativas entre épocas ($p = 0.035$ y $F = 4.66$). Durante esta época fue cuantificada una tasa de producción neta de N_2O solo en el punto 3 que descendió en

un 80 % (hasta $0.008 \pm 0.004 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$) con respecto a lo observado en este punto en la época seca. Parte de esta producción de N_2O la hace la desnitrificación dado que en experimentos con acetileno se cuantificaron tasas de 0.039 ± 0.008 y $0.045 \pm 0.018 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ para los puntos 1 y 3 respectivamente con diferencias significativas entre ellos ($p = 0.003$ y $F = 6.54$). En estos puntos no fue posible estimar la participación de la comunidad nitrificante en producción de N_2O dado que el ATU no inhibió la nitrificación, sino que favoreció la producción de N_2O con tasas de producción de entre 0.028 ± 0.009 a $0.053 \pm 0.013 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$, sugiriendo que el ATU podría estar siendo usado como un sustrato por estos microorganismos.

Los resultados de la evolución de amonio y nitrato disueltos durante los experimentos (Tabla 5) mostraron que el amonio se produjo en época seca a tasas bajas de hasta $0.018 \text{ mg g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y se consumió en época de lluvias a tasas de hasta

$-0.027 \text{ mg g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en todos los sitios de muestreo. La evolución del amonio ante la adición del ATU y del acetileno mostró resultados variables dado que no se observó acumulación de amonio en todos los puntos de muestreo y ambas épocas. Se detectó efecto de ambos inhibidores en época de lluvias (punto 1 y 3) y época seca (punto 2), siendo menores las tasas en el sitio 2 (más somero) con respecto al 1 y 3 en donde se cuantificaron tasas de acumulación de amonio de hasta $0.015 \text{ mg g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ con ATU y de hasta $0.032 \text{ mg g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ con acetileno. Los resultados sugieren reducción desasimilativa de nitrato a amonio, dado que el nitrato en época seca se consumió en el punto 1 y 3 a tasas de hasta $0.041 \text{ mg g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (punto 3, más profundo).

En cuanto a la evolución del nitrato se observó para la época de lluvias, producción de este ion en los tres sitios de muestreo a tasas de entre $0.020 \text{ mg g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (punto 2 más somero) hasta

Tabla 4. Estimaciones de producción/consumo de óxido nítrico ($\text{ng g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (media $\pm$ error estándar de la regresión lineal) por parte de la comunidad microbiana en experimentos control, experimentos con adición de N-Aliltiurea-ATU (100 mg/L) y experimentos con adición de acetileno ($15 \% \text{ v/v}$). N_2O neto = Producción neta de N_2O tanto por nitrificación como por desnitrificación, N_2Opd = N_2O producido por desnitrificación, N_2O inhibido = Inhibición de la producción de N_2O por nitrificación. N_2Opn = Estimación del N_2O producido por nitrificación calculado por la resta entre el N_2O cuantificado en experimentos control menos el cuantificado en experimentos de inhibición con ATU* o con acetileno**. *Estimations of N_2O ($\text{ng g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (mean $\pm$ standard error of linear regression) production/consumption by the microbial community in control experiments, N-Allylthiourea-ATU (100 mg/L) experiments and acetylene ($15 \% \text{ v/v}$) experiments. N_2O net = N_2O net production by nitrification and denitrification, N_2Opd = N_2O produced by denitrification, N_2O inhibited = Inhibition of N_2O production by nitrification. N_2Opn = Estimation of N_2O produced by nitrification calculated by subtracting the N_2O quantified in control experiments minus the N_2O quantified in ATU* or acetylene** inhibition experiments.*

Época	Experimento	Proceso medido	Punto 1	Punto 2	Punto 3
Seca	control	N2Oneto	-0.040 ± 0.011	0.059 ± 0.013	0.044 ± 0.007
	acetileno	N2Opd	nd	0.036 ± 0.026	0.026 ± 0.008
	ATU	N2Oinhibido	-0.003 ± 0.014	0.011 ± 0.007	0.045 ± 0.025
		N2Opn(estimado)	0.037 ± 0.003	0.047 ± 0.006 (*)	0.018 ± 0.000 (**)
				0.022 ± 0.013 (**)	
Lluvia	control	N2Oneto	-0.033 ± 0.015	-0.034 ± 0.011	0.008 ± 0.004
	acetileno	N2Opd	0.039 ± 0.008	-0.010 ± 0.004	0.045 ± 0.018
	ATU	N2Oinhibido	0.028 ± 0.009	-0.029 ± 0.007	0.053 ± 0.013
		N2Opn(estimado)	nd	0.024 ± 0.007**	nd
				0.005 ± 0.003*	

Tabla 5. Tasas de evolución del amonio y nitrato disueltos ($\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$) (promedio $\pm$ desviación estándar) en los experimentos control, con ATU y con acetileno. *Dissolved ammonium and nitrate evolution rates ($\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$) (mean $\pm$ standard deviation) in control, ATU and acetylene experiments.*

		Punto 1		Punto 2		Punto 3	
		Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa
Amonio	Control	0.012 $\pm$ 0.010	-0.006 $\pm$ 0.002	0.018 $\pm$ 0.05	-0.011 $\pm$ 0.010	0.005 $\pm$ 0.003	-0.018 $\pm$ 0.010
	ATU	-0.027 $\pm$ 0.015	0.015 $\pm$ 0.010	0.004 $\pm$ 0.002	-0.009 $\pm$ 0.005	-0.007 $\pm$ 0.002	0.015 $\pm$ 0.010
	Acetileno	-0.004 $\pm$ 0.002	0.032 $\pm$ 0.025	0.008 $\pm$ 0.003	-0.007 $\pm$ 0.004	-0.002 $\pm$ 0.001	0.027 $\pm$ 0.015
Nitrato	Control	0.033 $\pm$ 0.025	0.047 $\pm$ 0.018	-0.004 $\pm$ 0.002	0.020 $\pm$ 0.015	-0.041 $\pm$ 0.025	0.136 $\pm$ 0.070
	ATU	0.038 $\pm$ 0.020	0.111 $\pm$ 0.100	0.029 $\pm$ 0.018	0.069 $\pm$ 0.025	-0.107 $\pm$ 0.050	0.053 $\pm$ 0.020
	acetileno	0.005 $\pm$ 0.002	-0.130 $\pm$ 0.080	-0.096 $\pm$ 0.030	0.014 $\pm$ 0.010	0.004 $\pm$ 0.002	-0.120 $\pm$ 0.060

0.136 $\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$ (punto 3) sugiriendo oxidación de amonio a nitrato por bacterias nitrificantes. Sin embargo, se observó un efecto diferencial de los inhibidores sobre la evolución del nitrato dado que este ion incrementó en todos los puntos de muestreo en ambas épocas (excepto punto 3 época seca) a tasas de hasta 0.11 $\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$ cuando se adicionó ATU, pero el nitrato decreció cuando se adicionó acetileno.

DISCUSIÓN

En Colombia se han realizado algunos estudios relacionados con la obtención de cepas de microorganismos presentes en los humedales con potencial biorremediador (Suescún *et al.*, 2004), además de la cuantificación de la abundancia de microorganismos desnitrificantes y/o nitrificantes en humedales artificiales (Gaitán, 2006), en bosques inundados y morichales (Borda & Largo, 2009) y en humedales naturales restaurados en donde se han cuantificado específicamente los microorganismos del ciclo del nitrógeno y del carbono en relación con el grado de eutrofización (Rodríguez & Valencia, 2006; Pulido & Melgarejo, 2006). Sin embargo, este es el primer estudio que aborda el análisis conjunto de los procesos microbianos relacionados con la producción y/o consumo del gas de efecto invernadero N_2O . Los resultados de los análisis de variables fisicoquímicas mostraron que durante el muestreo los

niveles de oxígeno en el agua fueron bajos con valores similares a lo reportado previamente para el área de estudio por López (2012), con la diferencia de que en este estudio los valores más bajos se reportaron en la época de lluvias durante noviembre. Se observó un pH neutro (7.3) en el punto 1 que quizá podría relacionarse con la presencia de macrófitas acuáticas en esta área. El pH fue similar al reportado en el humedal SML por López (2012) y al cuantificado en otros humedales en Colombia, como Techo (pH 7.05-7.2) por PUJ & EAAB (2009) y Tibanica (6.5-8.0) por Talero (2009); así como en humedales naturales (5.2-7.3) y restaurados (5.7-8.1) de Estados Unidos (Peralta *et al.*, 2016), humedales construidos en España (7.6-7.9) (García-Lledó *et al.*, 2011) y lagos eutrofizados en China (7.3-7.8) (Wang *et al.*, 2012). De acuerdo con este parámetro no se estarían dando procesos de descomposición o alta respiración de la comunidad microbiana que conllevaría a condiciones ácidas en el humedal. Los niveles de nitrato, amonio y fósforo en agua de fondo son similares a los reportados en otros humedales urbanos (Harrison *et al.*, 2011) y lagos someros (Liu *et al.*, 2018) con tendencia a la eutrofización, mientras que los niveles de nitrato, amonio y materia orgánica en sedimentos son mucho menores que los reportados en lagos eutróficos (Wang *et al.*, 2012).

El N_2O mostró bajos niveles en el agua sugiriendo que los procesos microbianos de

consumo de N_2O pueden ser más rápidos que su producción evitando escape de este gas a la atmósfera. Estos valores están por debajo de lo reportado por Castro-González & Torres-Valdés, (2015) en la represa de Prado (348 - 366 ppb) considerado un humedal eutrófico, pero están dentro de los rangos estimados para humedales construidos y aluviales reportados por Harrison *et al.*, (2011), Schlesinger (2009) y Hernández & Mitsch (2007).

Los resultados sugieren una variación espacio-temporal en los procesos microbianos de producción y consumo de N_2O . En época de lluvias descendieron los niveles de oxígeno, se mantuvieron los niveles de nitrato en agua, incrementaron los niveles de materia orgánica, COT, fosfato y amonio en sedimentos y se estimaron tasas de desnitrificación de $0.039 \pm 0.008 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (promedio $\pm$ error estándar de la regresión lineal) en las áreas más someras. Estas tasas de desnitrificación son menores que las reportadas por Ruiz-Rueda *et al.*, (2008) en sedimentos de humedales españoles construidos para tratamiento de aguas residuales en las que se cuantificaron tasas de hasta $2.9 \text{ } \mu\text{g-N}_2\text{O g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que la técnica de acetileno puede subestimar las tasas de desnitrificación calculadas para el humedal como ha sido reportado en otros sedimentos con bajos niveles de nitrato (Seitzinger *et al.*, 1993). Por otra parte, los datos sugieren que en época seca hay producción neta de N_2O en el humedal SML (hasta de $0.059 \pm 0.013 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$) por nitrificación (entre 38 hasta 80 %) tanto en el área más somera (punto 2) como en el área más profunda (punto 3), a niveles de oxígeno disuelto de hasta 3.2 mg/L . Sin embargo, otros procesos además de la nitrificación pueden contribuir a la producción neta de N_2O como la nitrificación desnitrificante, la desnitrificación parcial e incluso la oxidación de metano por la comunidad microbiana autótrofa y heterótrofa presente en el sedimento-agua como se ha reportado en otros ecosistemas acuáticos donde se forman consorcios microbianos que comparten productos o sustratos para generar el N_2O (Wrage *et al.*, 2018, Hu *et al.*, 2015). Estos resultados concuerdan con lo observado en otros humedales urbanos donde se han cuantificado tasas bajas de nitrificación incluso con niveles de nutrientes no

Tabla 6. Comparación de las tasas de producción neta de óxido nitroso cuantificadas en diferentes humedales. *Comparison of net N_2O production rates quantified at different wetlands.*

Área de estudio	Tasas de producción neta de N_2O	Referencia
Lagos oligotróficos	$0.0087 \text{ ng N}_2\text{O g}^{-1} \text{ d}^{-1}$	Castellano Hinojosa <i>et al.</i> , 2017
Sedimentos Daneses	$44.16 \text{ ng N}_2\text{O g}^{-1} \text{ d}^{-1}$	Paludan & Blicher-Mathiesen, 1996
Lagos Chinos	$40.32 \text{ ng N}_2\text{O g}^{-1} \text{ d}^{-1}$	Liu <i>et al.</i> , (2018) y Yao <i>et al.</i> , (2016)
Laguna de Sonso	$135.1 \text{ } \mu\text{g N}_2\text{O m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	Canchala, 2014
Lago Taihu	$33.26 \text{ } \mu\text{g N}_2\text{O m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	Liu <i>et al.</i> , (2018a)
Lagos boreales	$492.8 \text{ ng N}_2\text{O m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	Saarenheimo <i>et al.</i> , (2015)
Lagos boreales	$696 \text{ ng N}_2\text{O m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	Myrstener <i>et al.</i> , (2016)
Humedales ribereños	$2928 \text{ } \mu\text{g-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	Audet <i>et al.</i> , (2013)
Humedales urbanos	$11.6 \text{ mg N}_2\text{O/Kg}$	Palta <i>et al.</i> , (2013)
Humedales construidos	$110 \text{ mg N}_2\text{O m}^{-2} \text{ d}^{-1}$	Søvik & Kløve (2007)
Humedal SML	$0.059 \text{ ng N}_2\text{O g}^{-1} \text{ d}^{-1}$	Este estudio

limitantes (Peralta *et al.*, 2016); o con microorganismos provenientes de biorreactores en donde han observado que se estimula la producción de N_2O por la nitrificación desnitrificante y la oxidación de hidroxilamina a bajas concentraciones de oxígeno (Ma *et al.*, 2017) y lo observado en otros humedales urbanos donde se han reportado máximos de N_2O a concentraciones de oxígeno subóptimas tanto para la nitrificación como para la desnitrificación (Cooke *et al.*, 2008).

Los resultados de producción neta de óxido nitroso son mayores a los reportados en sedimentos y/o agua de lagos oligotróficos de alta montaña por Castellano-Hinojosa *et al.*, (2017) e indican que hay producción de N_2O a través de la nitrificación de hasta $0.047 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Nuestros datos concuerdan con lo reportado por Liu *et al.*, (2018a) en que la nitrificación es el proceso que más aporta a la producción neta de N_2O en sedimentos; a lo reportado por Beaulieu *et al.*, (2015) quienes indican que en un 80 % de los reservorios estudiados por ellos cuantificaron producción de N_2O por nitrificación en el epilimnio y a lo reportado por Cooke *et al.*, (2008) quienes sugieren que los flujos de N_2O en humedales donde el nitrato es aportado principalmente por la nitrificación autóctona, son menores que aquellos donde el nitrato es aportado externamente. Esto indica que el humedal SML presentó características similares a humedales oligotróficos durante el muestreo dado que dichas tasas son mucho menores que las reportadas para humedales con tendencia a la eutrofización (Tabla 6) como la laguna de Sonso en Colombia (Canchala, 2014), lagos chinos eutrofizados como el Poyang, Yantze y Taihu donde se cuantificó alta producción de N_2O por desnitrificación y nitrificación (Wang *et al.*, 2017, Liu *et al.*, 2018a, Liu *et al.*, 2018 y Yao *et al.*, 2016); lagos boreales donde se estimaron tasas de producción neta de N_2O de hasta $11.2 \text{ } \mu\text{mol N}_2\text{O m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (Paludan & Blicher-Mathiesen, 1996; Saarenheimo *et al.*, 2015 y Myrstener *et al.*, 2016) y humedales construidos para tratar aguas residuales donde se reportan flujos de N_2O de hasta $110 \text{ mg N}_2\text{O m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (Søvik & Kløve 2007).

Nuestros datos corroboran reportes previos que indican que los humedales presentan variabilidad espacio-temporal en los flujos de N_2O y

tasas de desnitrificación y nitrificación (Harrison *et al.*, 2011; Palta *et al.*, 2014; Jorgensen *et al.*, 2012; Jacinthe *et al.*, 2012) actuando como sumideros o fuente de este gas de efecto invernadero dependiendo de las condiciones ambientales prevalentes en cada uno de ellos. Jin *et al.*, (2016) al igual que en nuestro estudio, también observaron incremento en la producción de N_2O en sedimentos expuestos a sequía en experimentos de laboratorio, complementando estudios previos que indicaban alta actividad de enzimas nitrificantes en sedimentos de reservorios sujetos a sequía asociados al incremento en los flujos de CO_2 y N_2O (Fromin *et al.*, 2010).

Los resultados de consumo de nitrato concomitante con la producción de amonio y producción de N_2O por desnitrificación en experimentos desarrollados en época seca sugieren que se está dando reducción desasimilativa de nitrato a amonio y desnitrificación tanto en el área más somera (punto 2) como en la más profunda (punto 3), donde se cuantificaron niveles de nitrato en el agua al inicio de los experimentos de 12 ± 1.9 y $11 \pm 1.8 \text{ mg/L}$ respectivamente. Sin embargo, se requiere cuantificar también el aporte de la amonificación en el humedal teniendo en cuenta que en esta época hay un mayor nivel de oxígeno (hasta 3.2 mg/L) y existe disponibilidad de materia orgánica, carbono orgánico y nitrógeno orgánico tanto en el agua como en el sedimento. Al respecto, nuestros datos sugieren que en el punto 2 y 3 en época seca donde el % de materia orgánica en sedimento y las relaciones C/N en las aguas de fondo fueron más altas (37.4 y 47.9 respectivamente) que en la época de lluvia (5.9 y 12 respectivamente) se podría estar favoreciendo la reducción desasimilativa de nitrato a amonio dada la mayor cantidad de dadores de electrones en relación a aceptores de electrones y una alta relación C/N como ha postulado previamente Tiedje (1982) y Kuenen & Robertson (1988). Para la época de lluvia, aunque se cuantificó menor disponibilidad de nitrato en el agua de fondo (entre 1.2 - 3.1 mg/L) al inicio de los experimentos, así como producción de N_2O por desnitrificación, no se detectó consumo de este ion durante los experimentos sugiriendo que las tasas de producción fueron levemente mayores al consumo que pudiera darse por desnitrificación.

Un aspecto a tener presente es que, aunque los experimentos para estimar las tasas de producción o consumo de N_2O tanto entre puntos de muestreo como en épocas presentaron diferencias significativas a través del análisis de varianza, si se observó que la replicación fue baja cuando se analizaron por separado los experimentos dado que no en todos los casos se obtuvieron diferencias significativas. Por otro lado, se debe indicar que el uso de inhibidores para estas estimaciones no estuvo exento de variabilidad, ya que se observó que en algunos de los experimentos de inhibición con ATU este compuesto al parecer no inhibió la amonio oxigenasa, y contrariamente a lo esperado, incrementó los niveles de N_2O (probablemente por la oxidación de hidroxilamina), sugiriendo que el ATU fue usado como sustrato por la comunidad microbiana en ambas épocas de muestreo, incluso en época de lluvias donde había exceso de amonio y nitrato tanto en agua como en sedimento. El acetileno también presentó un efecto variable, dado que inhibió la nitrificación en época seca y la desnitrificación en época de lluvias permitiendo un estimado de tasas de producción de N_2O (media $\pm$ error estándar) por nitrificación de $0.018 \pm 0.000 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ y de desnitrificación de hasta $0.045 \pm 0.018 \text{ ng g}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Al respecto, Lehtovirta-Morley *et al.*, (2013) reportaron que el ATU a concentración de 100 nmoles/g no inhibe la nitrificación en suelos quizá por un efecto protector de la estructura del suelo, la baja difusión del inhibidor a través de la matriz del suelo o por degradación, y contrariamente, estimula la nitrificación de la arquea *Nitrosotalea devanattera* a concentraciones de 500 a 1000 nmoles/g. Ellos sugieren que esto se da quizá por la degradación del compuesto presente en alta concentración y su subsecuente liberación de amonio que es usado por las bacterias y/o arqueas nitrificantes, apoyando, además, lo indicado por Kowalchuk & Stephen (2001) de que las bacterias oxidadoras de amonio también usan urea como sustrato. Al respecto también, se ha observado que las arqueas oxidadoras de amonio se inhiben por el acetileno al igual que las bacterias (Zumft & Kroneck, 2007) pero son menos sensibles que estas últimas a la inhibición por ATU tanto en cultivo como en muestras

ambientales (Taylor *et al.*, 2010); lo cual apoya los resultados de nuestros experimentos tanto de evolución de N_2O como del nitrato que sugieren, como era de esperarse, la presencia de arqueas en las muestras de sedimentos del humedal SML. De la misma manera procesos que generan N_2O como la nitrificación desnitrificante desarrollados por bacterias oxidadoras de amonio (Hu *et al.*, 2015, Wrage *et al.*, 2018) puede ser que no estén siendo inhibidos por el ATU o acetileno en sedimentos del humedal SML y se requiera el uso de otros inhibidores como el 3,4-dimethylpirazole fosfato (DMPP) para establecer la contribución de esta comunidad específicamente, como se ha reportado en suelos agrícolas recientemente (Wu *et al.*, 2018).

En cuanto al acetileno se ha reportado que inhibe la reducción de N_2O a N_2 (Yoshinari *et al.*, 1977) la nitrificación (Wrage *et al.*, 2004), la metanogénesis y la reducción de sulfato (Knowles, 1990), sin embargo, para este inhibidor también se ha reportado un efecto variable sobre diferentes bacterias oxidadoras de amonio (Wrage *et al.*, 2004) y sobre la subestimación de tasas desnitrificación y nitrificación desnitrificante en suelos óxicos o de textura arenosa, dado que el acetileno cataliza la descomposición de NO , interactúa con sulfuros (Bollmann & Conrad, 1997), no inhibe completamente la reductasa de N_2O (Seitzinger *et al.*, 1993) o es usado como sustrato por bacterias heterotróficas desnitrificantes (Cooke & White, 1988).

Aunque el uso de inhibidores en este tipo de experimentos trata de dilucidar cuál proceso microbiano está aportando a la generación de N_2O en ambientes acuáticos hay que tener en cuenta que este proceso sucede a través de una acción conjunta de microorganismos que tienen versatilidad fisiológica y que además pertenecen a taxones diferentes, por lo que en suma, se vuelve de mayor relevancia para temas de manejo ambiental de estas áreas el dilucidar la importancia que tienen los factores ambientales sobre las emisiones de gases de efecto invernadero más que conocer el proceso microbiano en sí.

En conclusión, nuestros resultados indican que el humedal SML es fuente de N_2O en baja proporción por procesos de nitrificación principalmente, en época seca, sin diferencias entre áreas de mues-

treo. Aunque puede considerarse que este humedal no es una fuente significativa de N_2O para el inventario regional de este gas de efecto invernadero, es posible, que si el cambio climático global conduce a un decrecimiento de las lluvias y a condiciones más secas en la ciudad de Bogotá como ha sido observado en los últimos años (IDEAM, 2012) pueda conducir a un mayor eflujo de este gas invernadero desde este cuerpo de agua hacia la atmósfera. Por lo tanto, es importante extender este tipo de estudios a los otros humedales de la ciudad con diferente grado de eutrofización que sirvan como insumo para que las entidades ambientales responsables desarrollen las estrategias que permitan mitigar los efectos negativos del cambio climático sobre estas áreas.

AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad Militar Nueva Granada por la financiación de esta investigación producto derivado del Proyecto CIAS-2302 titulado “Procesos microbianos relacionados con la producción de óxido nitroso en el humedal Santa María del Lago en Bogotá, Colombia”. A la Secretaría Distrital de Ambiente y funcionarios del humedal Santa María del Lago por su autorización y apoyo para la toma de muestras usadas en esta investigación. Al profesor J. Acuña por su colaboración en el análisis estadístico.

BIBLIOGRAFÍA

- APHA. 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st Edition, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC.
- AUDET, J., C. C. HOFFMANN., P. M ANDERSEN., A. BAATTRUP-PEDERSEN., J. R. JOHANSEN & S. E. LARSEN. 2014. Nitrous oxide fluxes in undisturbed riparian wetlands located in agricultural catchments: Emission, uptake and controlling factors. *Soil Biology and Biochemistry*, 68: 291-299. DOI: 10.1016/j.soilbio.2013.10.011
- BEAULIEU, J. J., C. T. NIETCH & J. L. YOUNG. 2015. Controls on nitrous oxide production and consumption in reservoirs of the Ohio River Basin. *Journal Geophysical Research: Biogeosciences*, 120: 1995–2010. DOI: 10.1002/2015JG002941
- BLANCO L. 2008. *Influencia de algunas variables abióticas sobre el plancton del humedal Santa María del Lago (Bogotá, Colombia) durante el periodo mayo-septiembre de 2006*. Trabajo de grado. Universidad Militar Nueva Granada, Colombia.
- BOLLMANN, A. & R. CONRAD. 1997. Acetylene blockage technique leads to underestimation of denitrification rates in oxic soils due to scavenging of intermediate nitric oxide. *Soil Biology Biochemistry*, 29(7): 1067-1077.
- BUITRAGO, L. M., N. A. RIVEROS & S. C. OTÁLORA. 2004. *Determinación de la calidad del agua en el humedal Santa María del Lago (Bogotá) a partir de los cambios producidos por la recuperación, mediante un estudio de plancton y un análisis físico-químico* (Informe Técnico). Universidad Francisco José de Caldas, Bogotá, D.C.
- CAMAYO, M-E., D. C. SIERRA & M. A. CAMACHO. 2011. *Seguimiento a las políticas ambientales distritales y las herramientas de planeación en dos humedales del distrito capital* (Informe Técnico).
- CANCHALA, T. 2014. *Generación de gases de efecto invernadero en los sedimentos de un humedal natural eutrofizado: influencia de nutrientes (N y P)*. Trabajo de grado maestría, Universidad del Valle, Colombia.
- CANTER, M., M. SÁNCHEZ., T. MENESES & N. FRANJA. 2005. *Diagnóstico ecológico del humedal de Santa María del Lago, Bogotá, Colombia* (Informe Técnico). Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, D.C.
- CASTELLANO-HINOJOSA, A., D. CORREA-GALEOTE., P. CARRILLO., E. J. BEDMAR & J. MEDINA-SÁNCHEZ. 2017. Denitrification and Biodiversity of Denitrifiers in a High-Mountain Mediterranean Lake. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1911. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01911
- CASTRO-GONZÁLEZ, M. & V. TORRES-VALDÉS. 2015. Gases invernadero en aguas con bajo oxígeno en el reservorio eutrófico de

- Prado (Colombia). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*, 39(152): 399-407.
- COOKE, J. G. & R. E. WHITE. 1988. The effect of prolonged exposure to acetylene on denitrification in a laboratory stream sediment system. *Water research*, 22(6): 685-691.
- COOKE, J., K. RUTHERFORD., B. WILCOCK & F. MATHESON. 2008. *The Significance of wetlands in the agricultural landscape as sources of Nitrous Oxide emissions*. (Artículo informativo). Ministerio de Industrias Primarias-MPI. Fuentes difusas Ltd and NIWA. <https://www.mpi.govt.nz/news-and-resources/publications?start=2296>. 58p.
- DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO DEL MEDIO AMBIENTE – DAMA -. 2000. *Historia de los Humedales de Bogotá, con Énfasis en cinco de ellos* (Informe técnico). DAMA. Bogotá, Colombia.
- EMPRESA DE ACUEDUCTO Y ALCANTARILLADO DE BOGOTÁ. 2006. *Plan de manejo ambiental humedal Jaboque* (Informe técnico). EAAB, Bogotá, Colombia.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 2010. *Methane and Nitrous Oxide Emissions from Natural Sources*, EPA, Washington, DC.
- FROMIN, N., G. PINAY., B. MONTUELLE., D. LANDAIS., J. M. OURCIVAL., R. JOFFRE & R. LENS. 2010. Impact of seasonal sediment desiccation and rewetting on microbial processes involved in greenhouse gas emissions. *Ecohydrology*, 3(3): 339-348.
- GARCÍA-LLEDÓ, A., O. RUIZ-RUEDA., A. VILAR-SANZ., L. SALA & L. BAÑERAS. 2011. Nitrogen removal efficiencies in a free water surface constructed wetland in relation to plant coverage. *Ecological Engineering*, 37: 678-684.
- GINESTET, P., J. M. AUDIC., V. URBAIN & J. C. BLOCK. 1998. Estimation of nitrifying bacterial activities by measuring oxygen uptake in the presence of the metabolic inhibitors N-Allylthiourea and azide. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 2266-2268.
- HARRISON, M. D., P. M. GROFFMAN., P. M. MAYER., S. S. KAUSHAL & T. A. NEWCOMER. 2011. Denitrification in alluvial wetlands in an urban landscape. *Journal of Environmental Quality*, 40: 634-46.
- HERNANDEZ, M. E. & W. J. MITSCH. 2007. Denitrification in created riverine wetlands: Influence of hydrology and season. *Ecology Engineering*, 30: 78-88.
- HU, H-W., D. CHEN & J-Z. HE. 2015. Microbial regulation of terrestrial nitrous oxide formation: understanding the biological pathways for prediction of emission rates. *FEMS Microbiology Reviews*, 39: 729-749.
- IGAC. 2006. *Métodos analíticos del laboratorio de suelos*. 6th edición. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Colombia.
- IDEAM. 2001. *Primera Comunicación Nacional ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático* (Informe técnico). Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia, Colombia.
- IDEAM. 2012. *Alteraciones de la precipitación y la temperatura ante variabilidad y cambio climático para la ciudad de Bogotá* (Informe técnico). Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia, Colombia.
- IPCC. 2014: *Climate Change 2014: Synthesis Report*. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.
- JACINTHE, P. A., J. S. BILLS., L. P. TEDESCO & R. C. BARR. 2012. Nitrous oxide emission from riparian buffers in relation to vegetation and flood frequency. *Journal of Environmental Quality*, 41: 95-105.
- JIN, H., T. K. YOON., S. H. LEE., H. KANG., J. IM & J. H. PARK. 2016. Enhanced greenhouse gas emission from exposed sediments along a hydroelectric reservoir during an extreme drought event. *Environmental Research Letters*, 11(12): 124003.
- JOHANSSON, A., A. KLEMEDTSSON., L. KLEMEDTSSON & B. SVENSSON. 2003. Nitrous oxide exchanges with the atmosphere of a constructed wetland treating wastewater. *Tellus B*, 55B: 737-750.
- JORGENSEN, C. J., S. STRUWE & B. ELBER-

- LING. 2012. Temporal trends in N₂O flux dynamics in a Danish wetland-effects of plant-mediated gas transport of N₂O and O₂ following changes in water level and soil mineral-N availability. *Global Change Biology*, 18: 210-222.
- KOWALCHUK, G. A. & J. R. STEPHEN. 2001. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology. *Annual Review Microbiology*, 55: 485-529.
- KUENEN, J. G & L. A. ROBERTSON. 1988. Ecology of nitrification and denitrification. In: *The nitrogen and Sulphur cycles; 42nd symposium of the Society for General Microbiology held at the University of Southampton*, pag. 161-218.
- LEHTOVIRTA-MORLEY, L. E., VERHAMME, D. T., NICOL, G. W., PROSSER, J. I. 2013. Effect of nitrification inhibitors on the growth and activity of *Nitrosotalea devanattera* in culture and soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 62: 129-133.
- LIU, X., L. YAO., X. JIANG., L. GUO., X. CHENG & G. LIU. 2018. Sediment denitrification in Yangtze lakes is mainly influenced by environmental conditions but not biological communities. *Science of the Total Environment*, 616-617: 978-987. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.221
- LIU, D., J. ZHONG., X. ZHENG., CH. FAN & J. YU. 2018a. N₂O fluxes and rates of nitrification and denitrification at the sediment-water interface in Taihu Lake, China. *Water*, 10: 911. DOI: 10.3390/w10070911.
- LÓPEZ, R.H. 2012. *Estado trófico de un humedal urbano andino tropical: Santa María del Lago*. Universidad Militar Nueva Granada. Colombia.
- MA, CH., M. M. JENSEN., B. F. SMETS & B. THAMDRUP. 2017. Pathways and controls of N₂O production in Nitritation–Anammox biomass. *Environmental Science & Technology*, 51 (16): 8981-8991. DOI: 10.1021/acs.est.7b01225
- MCAULLIFE, L. 1971. GC determination of solutes by multiple phase equilibration. *Chemistry and Technology*, 1: 46–51.
- MEJÍA-MARTÍNEZ, A. P. 2006. *Estudio evaluativo descriptivo de los humedales Juan Amarillo, Córdoba y Jaboque como mitigadores del cambio climático y planteamiento de una estrategia de fortalecimiento para este potencial (Bogotá-Colombia)*. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia.
- MURDOCH, D., G. MASAROTTO & B. RIPLEY. 2013. R-3.0.2 for Windows. <https://cran.r-project.org/bin/windows/base/old/3.0.2/>
- MYRSTENER, M., A. JONSSON & A. BERGSTROM. 2016. The effects of temperature and resource availability on denitrification and relative N₂O production in boreal lake sediments. *Journal of Environmental Science*, 47: 82-90. DOI: 10.1016/j.jes.2016.03.003
- OFFRE, P., J. I. PROSSER & G. W. NICOL. 2009. Growth of ammonia-oxidizing archaea in soil microcosms is inhibited by acetylene. *FEMS Microbiology and Ecology*, 70: 99-108
- PALTA, M. M., J. G. EHRENFELD & P. M. GROFFMAN. 2013. Denitrification and potential Nitrous Oxide and Carbon Dioxide production in brownfield wetlands soils. *Journal of Environmental Quality*, 42: 1507-17. DOI: 10.2134/jeq2012.0392
- PALUDAN, C & G. BLICHER-MATHIESEN. 1996. Losses of inorganic carbon and nitrous oxide from a temperate freshwater wetland in relation to nitrate loading. *Biogeochemistry*, 35: 305-326.
- PERALTA, A. L., E. R. JOHNSTON., J. W. MATTHEWS & A. D. KENT. 2016. Abiotic correlates of microbial community structure and nitrogen cycling functions vary within wetlands. *Freshwater Science*, 35(2): 573-588.
- PICHINOTY, F., M. MANDEL., B. GREENVAY & J. L. GARCIA. 1977. Etude de 14 bactéries dénitrifiantes appartenant au groupe *Pseudomonas stutzeri* isolées du sol par culture d'enrichissement en présence d'oxyde nitreux. *Annales del Institut Pasteur Microbiologie*, 128A: 75-87.
- PUJ & EAAB. 2009. *Plan de manejo ambiental del humedal de Techo* (Informe técnico). Pontificia Universidad Javeriana-Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá, Bogotá, D.C.
- ROLDÁN. 1992. *Fundamentos de limnología*

- tropical. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
- RUIZ-RUEDA, O., S. HALLIN & L. BAÑERAS. 2008. Structure and function of denitrifying and nitrifying bacterial communities in relation to the plant species in a constructed wetland. *FEMS Microbiology and Ecology*, 67: 308-319.
- SAARENHEIMO, J., A. J. RISSANEN, L. ARVOLA, H. NYKÄNEN, M. F. LEHMANN & M. TIROLA. 2015. Genetic and Environmental Controls on Nitrous Oxide Accumulation in Lakes. *PLoS ONE*, 10(3): e0121201. DOI: 10.1371/journal.pone.0121201
- SCHLESINGER, W. H. 2009. On the fate of anthropogenic nitrogen. *Proceedings of National Academy of Science USA*, 106: 203-208.
- SECRETARÍA DE LA CONVENCIÓN DE RAMSAR. 2006. *Manual de la Convención de Ramsar: Guía a la Convención sobre los Humedales (Ramsar, Irán, 1971)*. 4a. edición. Secretaría de la Convención de Ramsar, Gland (Suiza).
- SECRETARÍA DISTRITAL DE AMBIENTE. 2011. *Dirección de Planeación y Sistemas de Información Ambiental: Plan de Manejo Ambiental Parque Ecológico Distrital del Humedal Santa María del Lago* (Informe técnico). Secretaría Distrital de Ambiente. Bogotá D.C.
- SEITSINGER, S. P., L. P. NIELSEN, J. CAFFREY & P. B. CHRISTENSEN. 1993. Denitrification measurements in aquatic sediments: a comparison of three methods. *Biogeochemistry*, 23: 147-167.
- SØVIK, A. K. & B. KLØVE. 2007. Emission of N₂O and CH₄ from a constructed wetland in southeastern Norway. *Science of The Total Environment*, 380(1-3): 28-37.
- TALERO G. M. 2009. *Macroinvertebrados bentónicos como posibles indicadores de la calidad del agua del humedal Tibanica*. Trabajo de grado. Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C.
- TAYLOR, A. E., L. H. ZEGLIN, S. DOOLEY, D. D. MYROLD & P. J. BOTTOMLEY. 2010. Evidence for different contributions of archaea and bacteria to the ammonia-oxidizing potential of diverse Oregon soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 7691-7698.
- TIEDJE, J. M., A. J. SEXSTONE, D. D. MYROLD & J. A. ROBINSON. 1982. Denitrification: ecological niches, competition and survival. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 48(6): 569-583.
- WANG, CH., G. ZHU, Y. WANG, S. WANG & CH. YIN. 2012. Nitrous oxide reductase gene (*nosZ*) and N₂O reduction along the littoral gradient of a eutrophic freshwater lake. *Journal of environmental Sciences*, 25(1): 44-52.
- WANG, H., L. ZHANG, X. YAO, B. XUE & W. YAN. 2017. Dissolved nitrous oxide and emission relating to denitrification across the Poyang lake aquatic continuum. *Journal of environmental sciences*, 52: 130-140.
- WEISS, R. F. & B. A. PRICE. 1980. Nitrous oxide solubility in water and seawater. *Marine Chemistry*, 8: 347-359.
- WRAGE, N., G. L. VELTHOF, O. OENEMA & H. J. LAANBROEK. 2004. Acetylene and oxygen as inhibitors of nitrous oxide production in *Nitrosomonas europaea* and *Nitrosospira briensis*: a cautionary tale. *FEMS Microbiology Ecology*, 47: 13-18.
- WRAGE, N., M. HORN, R. WELL, C. MALLER, G. L. VELTHOF & O. OENEMA. 2018. The role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide revisited. *Soil Biology and Biochemistry*, 123. DOI: 10.1016/j.soilbio.2018.03.020
- WU, D., Z. ZHAO, X. HAN, F. MENG, W. WU, M. ZHOU, N. BRÜGGEMANN & R. BOL. 2018. Potential dual effect of nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate on nitrifier denitrification in the mitigation of peak N₂O emission events in North China plain cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 121: 147-153.
- YAO, L., X. JIANG, CH. CHEN, G. LIU & W. LIU. 2016. Within-lake variability and environmental controls of sediment denitrification and associated N₂O production in a shallow eutrophic lake. *Ecological Engineering*, 97: 251-257.
- YOSHINARI, T., R. HYNES & R. KNOWLES. 1977. Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction and measurement of denitrification and nitrogen fixation in soil. *Soil Biology and*

- Biochemistry*, 9: 177-183.
- YOSHINARI, T. 1980. N₂O reduction by *Vibrio succinogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 39: 81-84.
- YU, J., J. LIU., J. WANG., W. SUN., W. PATRICK & F. MEIXNER. 2007. Nitrous Oxide Emission from *Deyeuxia angustifolia* Freshwater Marsh in Northeast China. *Environmental Management*, 40: 613-622.
- ZUMFT, W. G., K. DÖHLER & H. KÖRNER. 1985. Isolation and characterization of transposon Tn5-induced mutants of *Pseudomonas perfectomarina* defective in nitrous oxide respiration. *Journal of Bacteriology*, 163: 918-924.
- ZUMFT, W. G. 1997. Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 61: 533-616.
- ZUMFT, W. G. & P. M. H. KRONECK. 2007. Respiratory transformation of nitrous oxide to dinitrogen by Bacteria and Archaea. *Advances in microbial physiology*, 52: 164-170.

Con el patrocinio de:



VICEPRESIDENCIA
CUARTA DEL GOBIERNO
MINISTERIO
PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA
Y EL RETO DEMOGRÁFICO



Fundación Biodiversidad