

UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA

ESCUELA POLITECNICA SUPERIOR DE GANDIA

Licenciado en Ciencias Ambientales



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA



ESCUELA POLITECNICA
SUPERIOR DE GANDIA

**“Experimentos ex situ para la
determinación de flujos de nutrientes
en la interfase agua-sedimento: Puesta
a punto.”**

TRABAJO FINAL DE CARRERA

Autor/es:
Itzía Colodro Sainz

Director/es:
D. Silvia Laura Falco Giaccaglia

GANDIA, 2012

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....2

2. MATERIAL Y MÉTODOS.....9

2.1. Sedimentos

2.1.1. Extracción

2.1.2. Características de los sedimentos

2.1.3. Preparación del sedimento base

2.2. Preparación de los distintos niveles de materia orgánica en el sedimento

2.2.1. Ensayos a pequeña escala

2.2.1.1. Ensayo 1: Mejillones liofilizados

2.2.1.2. Ensayo 2: Mejillones frescos

2.2.1.3. Ensayo 3: Pienso

2.2.2. Ensayos a mediana escala

2.2.2.1. Ensayo 4: Fitoplancton

2.2.2.2. Ensayo 5: Pienso

2.3. Incubaciones ex situ para la determinación de los flujos de nutrientes en la interfase sedimento agua

2.3.1. Instalación

2.3.2. Ensayo 4: Fitoplancton

2.3.3. Ensayo 5: Pienso

2.4. Técnicas analíticas

2.4.1. Análisis de aguas

2.4.2. Análisis de sedimentos

2.5. Cálculo de flujos

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....28

4. CONCLUSIONES.....68

5. BIBLIOGRAFÍA.....69

1. INTRODUCCIÓN

1.1. CICLOS DE NUTRIENTES EN ECOSISTEMAS MARINOS

En los ecosistemas marinos y costeros las entradas de nutrientes provienen desde fuentes externas como los ecosistemas continentales a través de las descargas superficiales y subterráneas y desde la atmósfera por deposición atmosférica. También pueden originarse en el mismo sistema marino o costero (producción autóctona).

Una vez en el sistema marino, los nutrientes son inmovilizados por los productores primarios como el fitoplancton, fitobentos, macroalgas y plantas vasculares y entran a formar parte de la red trófica del ecosistema. Los requerimientos nutricionales (basado en la relación de Redfield) del principal productor primario marino, el fitoplancton, es de 106:16:1:1 para C:N:P:S y en el caso de las diatomeas es de 106:16:16:1 para C:N:Si:P, ya que requieren del silicio para el desarrollo de las frústulas (estructura externa de este grupo fitoplanctónico). Estas relaciones son generales, cada especie puede variar su composición y dependiendo del ciclo evolutivo de cada población.

El Mediterráneo, en comparación con otros mares y con los océanos, es un mar pobre en nutrientes, se trata de un mar oligotrófico. Por ejemplo, en el Mediterráneo, las concentraciones máximas de nitrato se sitúan torno a $5,5 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ en la cuenca Levantina mientras que en el océano Atlántico Norte estas se sitúan alrededor de los $25 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. La causa de ello es el balance negativo del mar Mediterráneo, donde se exportan aguas profundas ricas en nutrientes y se importan aguas superficiales pobres en dichos elementos.

Según Bethoux et al. (1992), Sala et al. (2002) y Krom et al. (2004), el nutriente generalmente limitante en la cuenca mediterránea es el fósforo, al contrario de lo que sucede en la mayoría de mares similares al Mediterráneo y en los océanos. No obstante, en determinadas condiciones locales a causa del efecto de entradas continentales de nutrientes y/o modificaciones en las corrientes marinas, esta pauta general puede verse cambiada.

- **Oxígeno disuelto**

El oxígeno es el nutriente más importante para la vida en los ecosistemas costeros. Su principal reservorio está en la atmósfera donde su concentración es del 21% mientras que en el agua marina, el oxígeno disuelto desciende a concentraciones de $7-9 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$. El principal proceso productivo de oxígeno en el mar es la fotosíntesis realizada por los organismos fotoautótrofos. Por cada molécula de CO_2 fijada por estos organismos en el ciclo de Calvin, se libera otra molécula de O_2 en la fase luminosa de la fotosíntesis por la oxidación del agua. La otra fuente de oxígeno es la reaireación desde la atmósfera hacia el agua condicionada por el viento, oleaje, salinidad y temperatura del agua, por lo que a mayor hidrodinamismo (turbulencia) mayor será la transferencia de oxígeno hacia el agua, al igual que con un descenso de la temperatura, el grado de saturación aumenta por lo que admite mayor concentración. En contraposición, el principal sumidero de O_2 es la respiración celular llevada a cabo por todos los organismos aerobios donde el O_2 es utilizado como último aceptor de electrones en el ciclo de Krebs.

Principalmente esto ocurre en el sedimento marino, donde existe una mayor densidad de bacterias, aunque también se dan en la columna de agua, se producen otros procesos consumidores de O_2 . La degradación oxidativa de la materia orgánica es uno de ellos. Otro sumidero de O_2 es la nitrificación del amonio hasta nitratos pasando por nitritos. Este proceso es inhibido por la radiación solar así como por la escasez de O_2 .

- **Fósforo**

No existe un reservorio significativo de este elemento en la atmósfera ya que no forma compuestos volátiles, con lo cual la dinámica de este nutriente difiere de la del nitrógeno, carbono u oxígeno. Las transformaciones microbianas tienen una importancia mínima en el caso del fósforo desde el punto de vista de los tipos metabólicos involucrados. Estas transformaciones biológicas podrían resumirse en la asimilación que tiene lugar en los procesos de biosíntesis y por otro lado, en la liberación como consecuencia de la mineralización de la materia orgánica.

El principal reservorio de fósforo está inmovilizado en las rocas sedimentarias, como el apatito, el cual se libera en forma de fosfato por la acción del lavado y erosionado de estas rocas.

Las entradas de fósforo son a través de las descargas fluviales arrastradas por la erosión, donde entre el 5-10% del fósforo erosionado es transportado hacia los mares (Froelich, 1988). Conjuntamente con el fósforo erosionado de forma natural, a través de los ríos, acequias...etc. se descarga el fósforo producido por las actividades antrópicas como la agricultura, aguas residuales domésticas. Otra entrada, aunque menos importante por cantidad, es la deposición atmosférica, los vientos procedentes del Sahara transportan fosfatos así como silicio en el polvo suspendido en el aire.

El fósforo entra al mar en forma de ácido fosfórico o en su forma básica como ion fosfato dependiendo del pH, adsorbido en la materia particulada e incluso formando flóculos de fosfato férrico en el agua de mar (Riley y Chester, 1971). El fósforo orgánico particulado se asocia a los organismos tanto vivos o muertos formando parte de numerosas moléculas orgánicas presentes en los seres vivos.

Cuando el fósforo entra en el mar en forma de ortofosfatos es absorbido por el fitoplancton, el cual una vez muerto pasa a engrosar la materia orgánica particulada no viva y pone a disposición de los organismos heterótrofos una fuente de nutrientes. Las excreciones de los seres vivos segregan ortofosfatos nuevamente. El fosforo orgánico particulado es mineralizado por la acción de las bacterias transformándolo a ortofosfatos y fósforo orgánico disuelto. De nuevo, los ortofosfatos pueden acomplejarse con el hierro, manganeso o el calcio principalmente, formando flóculos y precipitando en el sedimento en presencia de oxígeno (Benítez-Nelson, 2000). Este fósforo queda parcialmente inmovilizado hasta que no disminuya el pH y el oxígeno disuelto del sedimento. El fósforo también queda inmovilizado al ser adsorbido por las partículas arcillosas presentes en la columna de agua o el sedimento. Una vez en el sedimento y en condiciones de escasa concentración de oxígeno, el azufre reduce al hierro o manganeso acomplejado con el fósforo, liberando al fósforo hacia la columna de agua.

- **Nitrógeno**

El nitrógeno tiene su principal reservorio en la atmósfera donde está presente en forma de N_2 (gas). En el mar, el nitrógeno se encuentra en forma orgánica formando parte de los organismos vivos o muertos y en forma inorgánica como nitrato, nitrito o amonio, principalmente.

El nitrógeno tiene varias formas de entrar en el sistema marino. Lo puede hacer formando parte de la materia orgánica o de forma disuelta transportado por las descargas desde el continente a través de ríos, canales, emisarios submarinos o desde la atmósfera.

No obstante, el mayor reservorio de nitrógeno está en forma invariable para ser utilizado por la inmensa mayoría de las plantas y animales. Para poderlo utilizar se debe transformar a sus formas disueltas. Sólo existen dos vías de fijación desde su forma gaseosa N_2 hacia una forma asequible para la mayoría de los organismos. Una es por el efecto de las descargas energéticas que suponen las tormentas eléctricas en la atmósfera y la otra, mucho más común, la realizan un determinado grupo de procariotas. Este proceso biológico de fijación del N_2 es considerado por muchos autores como el mayor factor regulador de la producción primaria en ambientes marinos someros (Herbert, 1999). Este proceso requiere de un elevado

consumo energético para romper la unión muy estable entre las dos moléculas de nitrógeno. En cuanto al fitoplancton, el principal orden que lleva a cabo este proceso son las cianobacterias

La nitrificación es el proceso a través del cual el amonio es oxidado a nitrito y nitrato. En presencia de oxígeno y escasa radiación solar, el amonio se oxida a las formas nitrito en primer momento y nitrato. Este proceso está regulado por la presencia de O_2 y NH_4^+ , la radiación solar así como la concentración de CO_2 , y pH.

El nitrato formado por la oxidación de formas reducidas del amonio puede ser asimilado por los organismos autótrofos o por el contrario se puede reducir. Una vía es la reducción no asimilatoria, donde el producto final es el amonio nuevamente por la respiración fermentativa de algunas bacterias heterótrofas (amonificación de nitrato).

La desnitrificación es un proceso anaeróbico de reducción mediante el cual las bacterias heterótrofas usan nitrato como un aceptor terminal de electrones en la respiración y lo reducen a sus productos gaseosos

La materia orgánica muere y se descompone, por la acción de las bacterias heterótrofas. Los compuestos orgánicos que albergan nitrógeno, como las proteínas, son hidrolizados en un primer momento a péptidos, luego a aminoácidos y finalmente a amonio.

- **Silicio**

El silicio es un oligoelemento para la mayoría de los organismos vivos aunque se trate del segundo elemento más abundante en la corteza terrestre, sólo se requiere de concentraciones muy inferiores a los requerimientos de carbono o nitrógeno. Sólo las diatomeas y algún otro grupo menos abundante de organismos vivos marinos requieren de este elemento para el desarrollo de sus estructuras externas (frústulas) en concentraciones similares a las de nitrógeno.

La principal entrada de sílice al mar es a través de las aportaciones continentales ya que procede de la erosión de minerales como el cuarzo, feldespato, arcilla, olivino... etc. en forma disuelta. Los principales procesos que participan en el ciclo del silicio estarán relacionados con las diatomeas ya que en muchas ocasiones suponen el grupo más abundante del fitobentos (Cibic et al., 2009). Posteriormente, cuando mueren estos organismos, el sílice es regenerado a formas disueltas por procesos químicos por lo que el proceso de regeneración es más lento que en el caso del fósforo o el nitrógeno (Broecker y Peng, 1982; Dugdale y Wilkerson, 2001). Esta regeneración del sílice es mayor cuando mayor es la temperatura por lo que a un incremento de temperatura, existe un incremento de la disolución de sílice hacia la columna de agua (Lawson et al., 1978).

Los organismos predadores de las diatomeas liberan el sílice consumido por excreción. Los sedimentos adquieren un papel más importante en la regeneración de este elemento que incluso en el caso del nitrógeno o fósforo (Webb, 1999).

1.2. LOS FLUJOS DE NUTRIENTES EN LA INTERFASE SEDIMENTO-AGUA

En las zonas someras, los flujos bentónicos de nutrientes en la interfase sedimento-agua se ven afectados por el fitobentos, ya que la radiación alcanza la superficie del fondo, y afecta la calidad del propio sedimento. En zonas ricas en materia orgánica así como con mayor concentración de macrofauna se produce una mayor liberación de nutrientes (Bertuzzi et al., 1997; Engelsen et al., 2008). En cambio, la presencia de fitobentos contribuye a la retención en el sedimento y puede eliminar nutrientes adicionales de la columna de agua.

Los flujos de nutrientes pueden verse afectados de forma positiva cuando se liberan hacia la columna de agua o de forma negativa cuando se retienen o consumen en el sedimento. En general y en condiciones de oscuridad, los flujos evolucionan de forma lineal en el tiempo tanto de forma positiva como negativa (Hall et al., 1996; Bertuzzi et al., 1997; Prattihary et al., 2009). Las concentraciones de nutrientes en condiciones de oscuridad para el O_2 , pH y NO_3^- , disminuyen generalmente a causa de la inhibición de la producción primaria. Los flujos permanecen constantes y negativos a lo largo del tiempo. Únicamente existen procesos consumidores de O_2 , por lo que el ambiente se vuelve más reductor. El NO_3^- , puede ser generado en un primer instante pero a la larga irá transformándose a formas reducidas de nitrógeno por la ausencia de oxígeno.

En el caso del pH, éste desciende con el tiempo en la oscuridad ya que no se fija CO_2 por parte de los productores primarios y además se continúa liberando en la respiración celular y la mineralización. El CO_2 en el agua de mar rápidamente se hidrata y se transforma en ácido carbónico. Por otro lado, en condiciones normales de oscuridad, se libera desde el sedimento dióxido de carbono, amonio, fosfatos y sílice. El amonio, al ser una forma reducida de nitrógeno no sufre ningún tipo de transformación, se acumula. Lo mismo ocurre con el fosfato y la sílice, no pueden ser fijados por los productores primarios ni acompañado con otros elementos (Ferrón et al., 2009).

Los flujos se ven alterados por el ciclo de actividad del fitobentos en condiciones de luz. Las concentraciones de nutrientes ya no se comportan de forma lineal como en el caso de las variaciones de estos en ausencia de luz, ahora se comportan siguiendo la tendencia de la radiación solar y la tasa fotosintética por lo que los flujos evolucionan de manera aproximada a curvas de forma sinuóide. En condiciones de radiación solar, los flujos no son constantes en el tiempo. Estos cambios son descritos en Wenzhöfer y Glud (2004), de Freitas, (2006) y Jahnke et al (2008) para el caso concreto del oxígeno disuelto en zonas de someras a 1 metros en de Freitas (2006) y a 17 metros en Jahnke et al. (2008). Pocos son los estudios de los flujos realizados considerando la radiación solar en comparación con el elevado número de trabajos que utilizan las cámaras opacas aún realizándose la mayoría de ellos en la zona infralitoral, la cual se caracteriza por la fuerte radiación incidente en zona bentónica.

1.3. ENSAYOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS FLUJOS DE NUTRIENTES

Existen dos tipos de ensayos para la determinación de los flujos de nutrientes en la interfase sedimento-columna de agua, los realizados in situ y los realizados ex situ.

Para el estudio de los flujos de nutrientes entre la interfase sedimento-agua in situ se diseñaron en la década de los 60 del siglo pasado unas cámaras que instaladas en la superficie del sedimento aíslan el agua circundante y mediante la instalación de sensores o recogida de pequeños volúmenes de agua interna se determina las concentraciones de los diferentes parámetros a lo largo del tiempo de un incubación, estimándose la evolución del parámetro en cuestión.

Estas cámaras, llamadas también campanas, box o meso o microcosmos, aíslan del medio un cierto volumen conocido de agua en contacto directo con una superficie conocida de sedimento por lo que sin renovación aparente del agua se experimentará un consumo o una liberación de los parámetros estudiados en función de los organismos presentes tanto en la columna de agua contenida en la cámara como en el interior del sedimento así como en función de parámetros ambientales y químicos (temperatura, radiación o materia orgánica). Los cambios en las concentraciones de los solutos presentes en el agua encerrada a lo largo del tiempo de experimentación están sujetos a una serie de asunciones tales (Violler et al., 2003):

- *Son válidas las condiciones estacionarias durante el periodo de incubación con respecto al gradiente de concentraciones entre el sedimento y la columna de agua.*
- *Los procesos biogeoquímicos ocurridos en la columna de agua son insignificantes comparados con los que tienen lugar en el sedimento.*
- *El régimen hidrodinámico dentro de las cámaras no altera el intercambio de solutos a través de la interfase sedimento-agua.*
- *El área muestreada es representativa de un área mucho más extensa.*

Bajo algunas circunstancias, alguna o varias de estas asunciones no son ciertas si bien, no impiden el cálculo de los flujos pero sí que hay que tenerlas en cuenta a la hora de analizar e interpretar los resultados. Además, tal y como se dice en la segunda asunción, se debe considerar que dichas cámaras incuban un área de sedimento pero también un volumen de agua donde se llevan a cabo unos procesos biogeoquímicos que pueden ser o no similares a los del sedimento, por lo que los flujos obtenidos deben ser tratados como tal y no únicamente como derivados de procesos bentónicos. Una manera de eliminar este sesgo del agua incubada, es, paralelamente a la incubación de las cámaras en el sedimento, incubar un volumen de agua sin sedimento en las mismas condiciones. Por otro lado, el sedimento se trata de una superficie heterogénea y variable en composición como en orografía. El fitobentos y la macrofauna no se distribuyen uniformemente a lo largo de la superficie del sedimento si no que tienden a agregarse, en parches en el caso del fitobentos (Wenzhofer y Glud, 2004), por lo que es difícil alcanzar una representatividad adecuada.

Estas cámaras han sido usadas para el estudio de compuestos inorgánicos como lo son los nutrientes o metales y de contaminantes orgánicos así como tanto en aguas someras situadas en la costa como en aguas profundas de los fondos abisales (Violler et al., 2003). Sin embargo, en sus inicios fueron empleadas para el estudio del consumo de oxígeno como el método más fiable de cuantificar el carbono total degradado en los sedimentos. Hasta hace pocos años, la gran mayoría de los estudios con cámaras bentónicas in situ se centraban en el estudio de sedimentos fangosos y no se trabajaba con sedimentos arenosos principalmente a causa de su bajo contenido en materia orgánica. Actualmente esta tendencia está cambiando.

En estudios anteriores realizados en el Mediterráneo se ha observado que los flujos son más elevados en las zonas próximas a la costa que en mar abierto debido a las mayores tasas de sedimentación, y por tanto mayor aporte de materia orgánica, que existen en la costa (Baric et al., 2002). En aquellos estudios que se ha hecho un seguimiento temporal también se ha observado una variación a lo largo del ciclo siendo mayores los flujos en la época cálida (Baric et al., 2002; Bertuzzi et al., 1997) lo que hace sugerir que los flujos pueden llegar a ser regulados por la temperatura en las zonas someras.

El impacto de los productores primarios en la dinámica del ciclo de nutrientes en zonas oligotróficas, como es el caso de gran parte del Mediterráneo, no es bien conocido ya que la mayoría de estudios de este tipo se centran en espacios eutróficos y en determinadas especies de productores primarios (Lepoint et al., 2003). Pocos autores son los que han intentado determinar los flujos de nutrientes en zonas someras en condiciones de luz y al mismo tiempo obtener información sobre la composición bioquímica y faunística del sedimento.

Otra forma de abordar el estudio de los flujos de materiales (nutrientes, metales pesados, compuestos orgánicos hidrofóbicos...), es mediante el análisis de los distintos parámetros en el agua intersticial del sedimento o del agua inmediatamente sobre el sedimento incubada en condiciones controladas de laboratorio (Pratihary et al., 2009). Generalmente, para las estimaciones de los distintos flujos a partir del agua intersticial se incuban corers de sedimento intacto en condiciones ex situ, en la misma embarcación de muestreo, o en laboratorio, o se extrae dicha agua directamente sin incubar. En esta técnica se recoge el agua presente en los poros a distintas profundidades a lo largo del corer para obtener un gradiente de concentración en función del tiempo y del área de sedimento incubada. La otra técnica se trata de la incubación del sedimento objeto de estudio en recipientes (cámaras) durante un

determinado tiempo en el cual se extraen distintas alícuotas del agua incubada en contacto con el sedimento o se recopilan datos con sensores instalados dentro de dicha cámara de incubación.

Las cámaras de incubación pueden ser utilizadas tanto en laboratorio, donde se inserta un determinado volumen de sedimento, que puede ser modificado según el interés y objetivo del estudio, en condiciones de irradiancia, temperatura y turbulencia reguladas, como en condiciones in situ. Sus formas, materiales, dimensiones y grados de automatismo son muy variados aunque la mayoría de ellas presentan formas cilíndricas o rectangulares y elaboradas en PVC, acrílico, metacrilato o acero inoxidable. En sus orígenes, en condiciones in situ, estas cámaras bentónicas fueron diseñadas para estimar el consumo de oxígeno del sedimento como método fiable para la cuantificación del carbono total degradado (Violler et al. 2003).

La mayoría de los trabajos realizados con cámaras bentónicas en situaciones in situ han sido realizados en áreas eutróficas como son las desembocaduras de ríos caudalosos como el Danubio o el Dnieper (Friedl et al., 1998), el río Ródano (Denis et al., 2000), estuarios (Pratihary et al., 2009), lagunas costeras (Murray et al., 2006) o zonas de producción acuícola (Nizzoli et al., 2007) por lo que la producción bentónica primaria en zonas oligotróficas no es bien conocida.

Algunos autores han realizado estudios de flujos de nutrientes para estimar la producción primaria ya sea de alguna especie en concreto (Lepoint et al., 2004), con especies de macrófitas en el Adriático Norte (Bartoli et al., 2008) o con el conjunto del microfitorobentos (Jahnke et al., 2000; Jahnke et al., 2008). Para tal fin es necesario el empleo de cámaras transparentes, en las que se permite la realización de la fotosíntesis y cámaras opacas donde se inhibe la fotosíntesis y son útiles para la determinación de los procesos consumidores de oxígeno. Además, muchos de los trabajos han sido llevados a cabo sobre sedimentos poco permeables como lo son los sedimentos arcillosos o limosos.

En el mar Mediterráneo el uso in situ de las cámaras bentónicas para el estudio del comportamiento de los nutrientes en los sedimentos se han llevado a cabo principalmente en el Adriático Norte (Golfo de Trieste) al tratarse de un mar poco profundo y eutrofizado en el que se puede llegar a la anoxia en los meses veraniegos (Hernl et al., 1989; Bertuzzi et al., 1997; Bartoli et al., 2008). Otros estudios se han realizado en lagunas costeras como en l'Albufera de Mallorca (López et al., 1995), Thau, en el sur de Francia, (Thouzeau et al., 2007) el estuario del río Palmones en Cádiz (Ortega et al., 2002) aunque sin considerar el efecto de la irradiancia en las incubaciones salvo escasos trabajos como Nizzoli et al. (2007) en las proximidades de la desembocadura del río Po dentro de una instalación acuícola.

En el presente trabajo se pretende determinar un ensayo apto para la determinación de los flujos de nutrientes en la interfase sedimento-columna de agua ex situ, utilizando cámaras de incubación con condiciones controladas en el laboratorio. Para ello se realizarán distintos ensayos con el fin de determinar la variación en los flujos de nutrientes cambiando parámetros como la materia orgánica en el sedimento.

Se describirán los distintos ensayos realizados y su metodología para determinar la puesta a punto de este tipo de experimentos ex situ, ya que existen muy pocos estudios realizados sobre el tema con estas condiciones de variación de la materia orgánica en el sedimento. Para ello se utilizarán 12 cámaras de incubación a las que se le añadirá diferentes concentraciones de materia orgánica al sedimento realizando distintas metodologías que resultarán útiles para determinar qué metodología es la apropiada para futuros ensayos similares.

A partir de los resultados observados se extraerán conclusiones que facilitarán la toma de decisiones para la realización correcta de este tipo de ensayos ex situ con condiciones controladas.

Por lo tanto los objetivos de este trabajo son los siguientes:

- *Puesta a punto del ensayo en laboratorio bajo condiciones controladas para la determinación del flujo de nutrientes en la interfase sedimento-columna de agua mediante la utilización de 12 cámaras a 3 diferentes niveles de materia orgánica en el sedimento.*
- *Determinación de los flujos de oxígeno disuelto, amonio, fosfato disuelto, nitratos y silicio en la interfase sedimento-agua para las distintas concentraciones de materia orgánica en el sedimento.*

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 SEDIMENTOS.

EXTRACCIÓN

El punto de recogida de sedimentos marinos se localiza en el Mediterráneo occidental, en el interior del golfo de Valencia. En concreto, la estación de muestreo se sitúa en el litoral del municipio costero de Gandía, situado en el Levante español, como se observa en la Figura 2.1. Se halla aproximadamente a 700 metros de distancia de la costa y a 9 metros de profundidad, en frente de la playa Norte del municipio de Gandía, cuyas coordenadas exactas UTM son 746317 4321780 30S. Figura 2.2.



Figura 2.1: Situación general de la zona



Figura 2.2: Localización del punto de recogida de sedimento.

Se recogen sedimento de la estación de muestreo, unos 110 l de sedimentos (11 cubos de 10 l cada uno) mediante la ayuda de buzos.

CARACTERÍSTICAS DE LOS SEDIMENTOS

Los sedimentos en esta zona están formados por arenas finas bien calibradas dentro del piso infralitoral. Estos fondos al ser someros están sometidos al oleaje por lo que se ejerce un continuo movimiento hídrico que da lugar a una buena selección de los sedimentos por su granulometría (Melzer y Herzer, 2004). Las arenas finas bien calibradas están formadas en más de un 95% por un tamaño de arena comprendido entre (0,063 y 0,250 mm de diámetro de luz del tamiz). En consecuencia, estos sedimentos están bien oxigenados y más cuanto mayor es el tamaño del grano de arena.

La temperatura de la columna de agua que está sobre estos sedimentos en la estación de muestreo suele variar entre los 10-11°C a finales del invierno hasta los 27-28°C de finales de agosto (Sospedra, 2010).

PREPARACIÓN DEL SEDIMENTO BASE

Para realizar el procesado del sedimento recogido para su posterior uso en los ensayos se realizarán los pasos citados a continuación:

- 1- Primera decantación del sedimento en los cubos de recogida para la posterior eliminación del agua sobrenadante. Esta tarea se realiza en la misma barca al momento de haberlos recogidos.
- 2- Tamizado del sedimento en el laboratorio utilizando un tamiz con malla de 1 mm para eliminar la macrofauna y demás partículas grandes del mismo.
- 3- Decantación y eliminación del agua sobrenadante.

- 4- Se homogeniza todo el sedimento dentro de un bidón grande de plástico (de 170 l) con una pala.
- 5- Decantación y eliminación del agua sobrenadante.
- 6- Colocar por separado distintas porciones de unos 3,8 litros (para cada una de las cámaras) en cubos de plástico, se deja reposar unos minutos para eliminar el agua sobrenadante que quede.
- 7- Se congela como mínimo dos semanas (Emmerson et al, 2001).
- 8- Se descongela y se coloca todo el sedimento en un bidón grande de plástico para su homogeneización con una pala.

2.2 PREPARACIÓN DE LOS DISTINTOS NIVELES DE MATERIA ORGÁNICA EN EL SEDIMENTO

Se realizaron diversos ensayos para la determinación del tipo de materia orgánica óptima. Estos ensayos se pueden separar en dos grandes grupos, unos a pequeña escala y otros a mediana escala. Se realizaron tres ensayos a pequeña escala, uno con mejillones liofilizados, un segundo con mejillones frescos, ambos añadiendo la materia orgánica al sedimento base desde la columna de agua y otro final añadiendo pienso directamente mezclado con el sedimento base. Los ensayos a mediana escala están comprendidos por dos experimentos, uno con fitoplancton previamente congelado añadido directamente desde la columna de agua y otro con pienso mezclado directamente con el sedimento base. En los ensayos a pequeña escala no se llegó a realizar la aclimatación.

ENSAYOS A PEQUEÑA ESCALA

ENSAYO 1: MEJILLONES LIOFILIZADOS

Se realizó adicionando mejillones liofilizados, que fueron homogeneizados mediante mortero, directamente desde la columna de agua.

Se colocaron 6 vasos de precipitados de 250 ml (12 cm de alto y 6 cm de diámetro). A ellos se les añadió 1 cm de sedimento base (aproximadamente 80 g húmedos) y 10 cm de agua de mar.

En cada vaso se añadió una concentración determinada de materia orgánica (mejillones liofilizados) desde la columna de agua y se esperó durante 24 horas.

A continuación se puede observar en la tabla 2.1 las concentraciones añadidas a cada vaso de precipitado.

Tratamiento	Masa sedimento húmedo (g)	MO añadida (%)	Masa seca de MO añadida (g)
Control	78	-	-
0,50%	78	0,5	0,30
1%	78	1	0,59
1,50%	78	1,5	0,90
2%	78	2	1,20
2,50%	78	2,5	1,51

Tabla 2.1: Masa de materia orgánica añadida a cada tratamiento para la realización del ensayo.

ENSAYO 2: MEJILLONES FRESCOS

A partir de los resultados obtenidos en el Ensayo 1 se optó por adicionar mejillones frescos (sólo la parte blanda) previamente triturados añadiéndolos directamente a la columna de agua a distintas concentraciones. Los mejillones son triturados y tamizados con un tamiz de 1 mm.

Se utilizaron los mismos vasos de precipitados que en el Ensayo 1, donde se colocó 1 cm de sedimento base y 10 cm de agua de mar y posteriormente se añadió los mejillones frescos triturados desde la columna de agua. Las cantidades de materia orgánica (figura 2.3) añadidas a cada vaso de precipitado se observan en la tabla 2.2:

Tratamiento	Masa sedimento húmedo (g)	MO añadida (%)	Masa MO húmeda a añadir (g)	Masa MO seca a añadir (g)
Control	70	-	-	-
0,50%	70	0,5	0,75	0,35
1%	70	1	1,52	0,71
2%	70	2	3,06	1,43

Tabla 2.2: Masa de mejillones frescos a añadir para cada tratamiento

Finalmente se esperó durante 24 horas y se observaron los resultados.

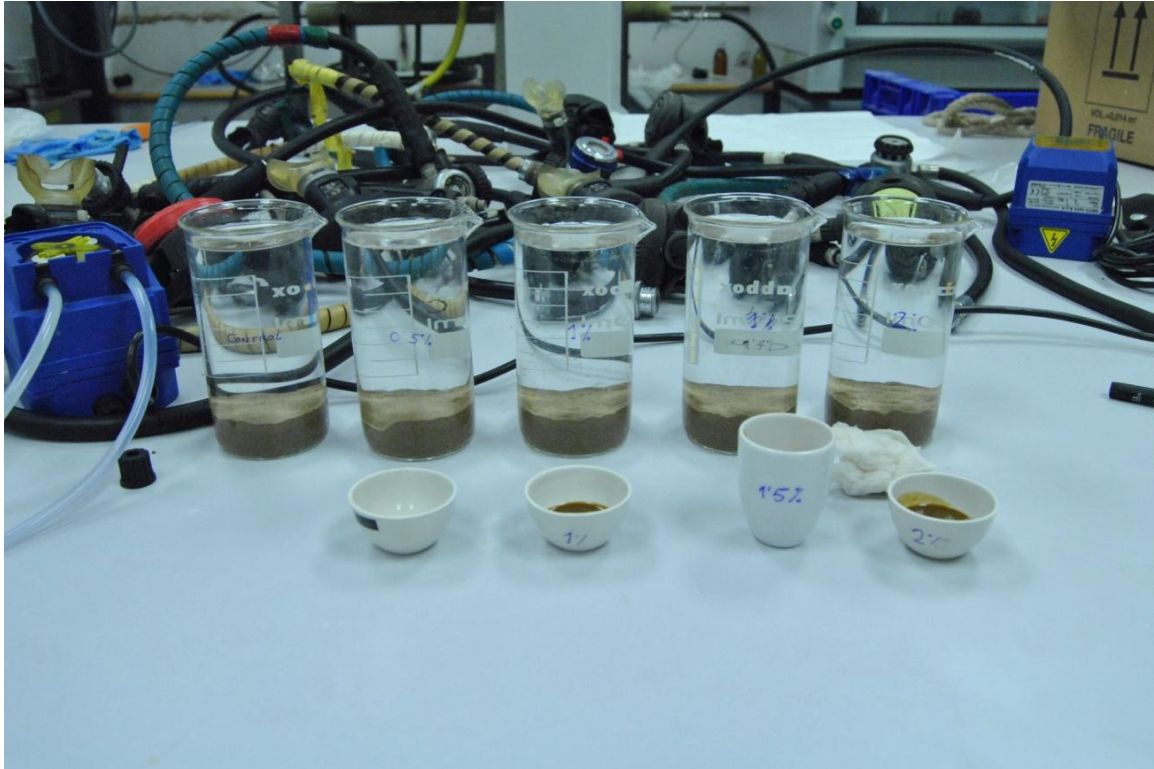


Figura 2.3: Ensayo 2 con mejillones frescos triturados antes de verter a distintas concentraciones de materia orgánica a la columna de agua.

ENSAYO 3: PIENSO

Se realizan dos ensayos en el laboratorio uno a pequeña escala y otro a escala media. En este apartado describiremos el que se realizó a pequeña escala.

Se añade pienso para alevines de doradas como fuente de materia orgánica y éste es adicionado directamente al sedimento en vez de la columna de agua como en los experimentos anteriores.

Características del pienso (diámetro 2 mm):

Pienso completo para dorada y lubina desde los 40 a 100 g de peso vivo.

Constituyentes analíticos: Proteína bruta 42,00%, cenizas brutas 9,00%, celulosa bruta 2,00%, materias grasas brutas 21,00%, fosforo 0,9%.

Aditivos: Vit A 10000 UI/Kg, Vit D3 1700 UI/Kg, Vit E (alfa tocoferol) 200 UI/Kg, Cobre (sulfato de cobre penta-hidratado) 8 mg/kg, Antioxidantes (etoxiquina +BHT).

Materias primas para la alimentación animal: Harina de pescado 24,3%, trigo 18,4%, harina de extracción de soja tostada y decorticada 10,8%, hemoderivados 10,0%, aceite vegetal de soja 8,0%, aceite de pescado 7,8%, haba de soja 6,8%, concentrado de proteína de soja 6,7%, harina de colza 5,0%, gluten 1,7%, minerales 0,53%.

Primero se trabaja a pequeña escala mezclando el pienso directamente al sedimento base. En cada vaso se adiciona alrededor de 1 cm de sedimento base (unos 75 g húmedos) al cual se le han añadido distintas concentraciones de materia orgánica en forma de pienso y 10 cm de agua de mar.

Se trabaja con 4 vasos precipitados de 250 ml de las mismas medidas que en los ensayos anteriormente descritos. Al sedimento base de cada vaso se añaden distintas concentraciones de pienso como se observa en la tabla 2.3:

Tratamiento	Masa sedimento húmedo (g)	MO añadida (%)	Masa MO añadida seca (g)
Control	75	-	-
0,50%	75	0,5	0,19
1%	75	1	0,38
2%	75	2	0,77

Tabla 2.3: Masa de materia orgánica (pienso) a añadir mezclado con el sedimento para cada tratamiento.

Luego se deja 24 horas como se observa en la figura 2.4 y al día siguiente se quita el agua y se determina la materia orgánica del sedimento.

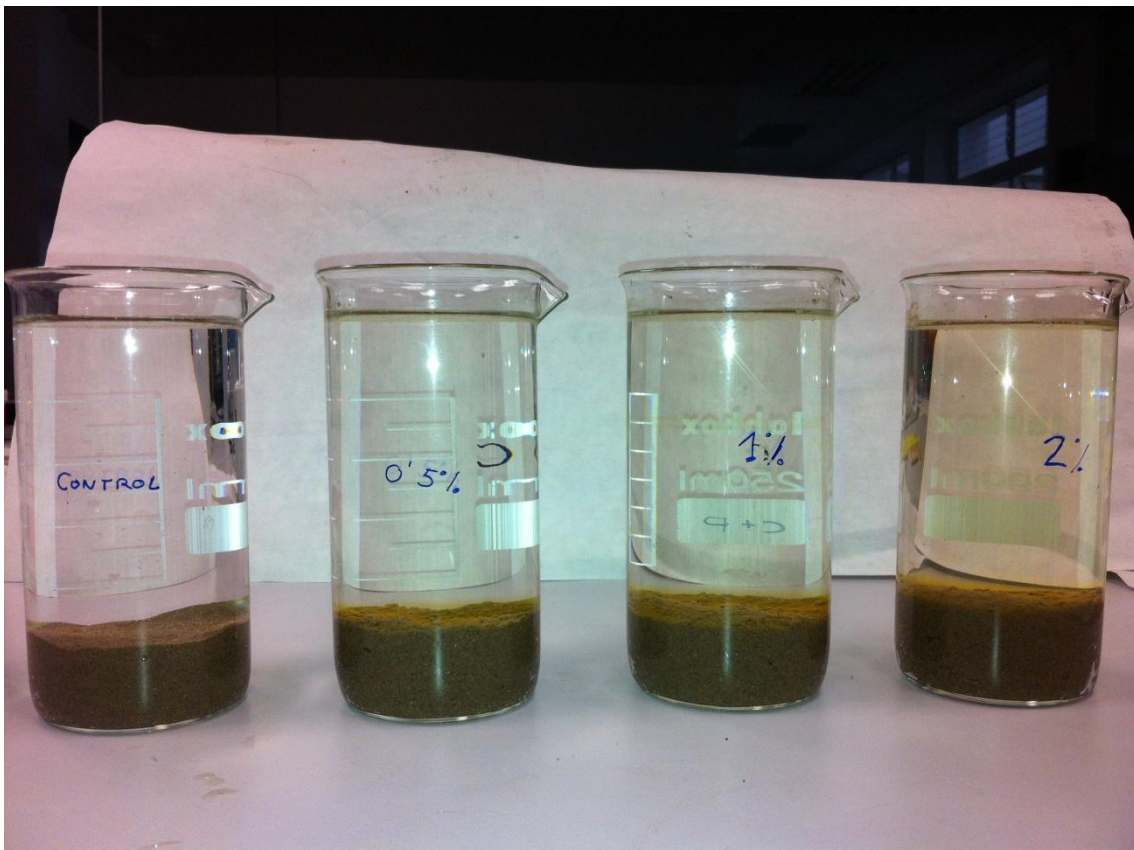


Figura 2.4: Ensayo 4 con pienso añadido directamente al sedimento a distintas concentraciones de materia orgánica. No se observó turbidez en la columna de agua.

Al cabo de un día se midió la concentración de materia orgánica del sedimento.

ENSAYOS A MEDIANA ESCALA

ENSAYO 4: FITOPLANCTON

El fitoplancton cultivado es concentrado mediante sedimentación durante unas 3-4 horas. Luego se elimina el agua lentamente con un tubo y posteriormente es recogido y congelado en frascos de plástico por separado para cada siembra. A continuación se descongelan todos los frascos (3 horas fuera del congelador), se mezclan todos en un recipiente de 2 litros y se agitan con agitador magnético a 400 rpm. Se tamiza con tamiz de 1mm de luz de malla y con una pipeta, sumergiéndola a 1 cm del fondo y sin parar de agitar, se extrae y se reparten en tubos de plástico de 12 ml fracciones de 10 ml de fitoplancton cultivado y se vuelven a congelar. La concentración final de clorofila en estos tubos fue de $66,48 \text{ mg m}^{-3}$.

En este primer experimento se decidió agregar la materia orgánica al sedimento una vez que las cámaras ya estaban incubadas. Es decir, cada cámara contenía unos 12 cm de sedimento base más unos 18 cm de agua. La materia orgánica se adicionó vertiéndola directamente sobre la columna de agua en cada cámara justo antes de empezar el experimento el mismo día del ensayo con las siguientes cantidades:

- 0 ml en las 4 cámaras denominadas CONTROL
- 5 ml en cada una de las 4 cámaras denominadas BAJA CONCENTRACIÓN
- 10 ml en cada una de las 4 cámaras denominadas ALTA CONCENTRACIÓN

Cuando las cámaras están ya incubadas y llenas de agua marina filtrada se adiciona el fitoplancton desde la columna de agua y se cierra rápidamente la tapa. Se homogeneiza muy suavemente con un molinillo (más o menos con 5 vueltas en 10 segundos) para que ésta materia orgánica se reparta uniformemente en todo el volumen de agua de la cámara. Se deja que sedimente una hora.

ENSAYO 5: PIENSO

A partir de los resultados obtenidos a pequeña escala se decide trabajar de la siguiente forma:

Se adicionan 8 cm de sedimento base a cada uno de las 12 cámaras de 20 cm de diámetro. Posteriormente se agregan 4 cm de sedimento base mezclado con la cantidad adecuada de pienso para obtener los tres niveles de concentración de materia orgánica:

- *Control: se añaden 4 cm más de sedimento base*
- *Concentración Baja: 4 cm sedimento base + pienso al 0,9 %*
- *Concentración Alta: 4 cm sedimento base + pienso al 1,8 %*

Las cantidades añadidas se realizan en función de los siguientes cálculos:

A partir del Ensayo 3 en el que se utilizaron distintas concentraciones de pienso para evaluar el aumento de la materia orgánica en el sedimento, se calcula el porcentaje de materia orgánica a añadir al sedimento para la realización de este ensayo.

En la tabla 2.4 se observan los cálculos que estiman el peso seco y húmedo del sedimento en 4 cm de una cámara. El peso húmedo se obtiene a partir del volumen que ocupan 4 cm en la cámara y de la densidad del sedimento. Luego el peso seco se calcula a partir del peso húmedo y del porcentaje de humedad del sedimento. A partir de estas cuentas se realizan las estimaciones de pienso a añadir a cada uno de los tres niveles de materia orgánica.

Diámetro cámara (m)	0,20
Humedad sedimento (%)	24,60
Área (m²)	0,03
Área (cm²)	314,16
Volumen en 4 cm (cm³)	1256,64
Masa sedimento húmedo en 4 cm (g)	2764,60
Masa sedimento seco en 4 cm (g)	2084,51
Densidad (g/cm³)	2,20

Tabla 2.4: Datos del sedimento

Para el cálculo de la masa en gramos de Materia Orgánica (MO) a añadir en los 4 cm superficiales de sedimento húmedo primero se establece el porcentaje de MO con el que deseamos trabajar y luego se calcula la masa de MO a añadir que representa dicho porcentaje. Esta masa se obtiene a través del peso seco que ocupa el sedimento en 4 cm y para ello se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{Masa MO} = (\text{Masa sed seco} * \%_i) / (100 - \%_i) = g \quad (1)$$

Donde:

Masa sed seco, son los gramos de sedimento seco que hay en los 4 cm superficiales del sedimento en la cámara.

$\%_i$, es el porcentaje de materia orgánica a añadir para cada tratamiento.

Una vez establecida la cantidad de Materia Orgánica a añadir a una cámara se multiplica por el número de réplicas para cada nivel (que es de 4 réplicas) y se prepara conjuntamente cada nivel de sedimento.

Por ejemplo si queremos añadir MO al 1,8% a las cámaras denominadas "Altas" en los 4 cm superficiales de cada cámara aplicamos la ecuación 1 y se obtiene que se deberían añadir 38,2 g de pienso a cada cámara. Como son 4 réplicas, ese valor de 38,2 g se multiplica por 4, es decir 152,8 g en total para las cámaras "Altas".

$$\text{Masa MO} = (2084,51 * 1,8)/(100-1,8) = 38,2 \text{ g}$$

2.3. INCUBACIONES EX SITU PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS FLUJOS DE NUTRIENTES EN LA INTERFASE SEDIMENTO AGUA

Sólo en los Ensayos 4 y 5 a escala media (figura 2.8) se determinó el flujo de oxígeno y nutrientes mediante la utilización de las 12 cámaras bajo condiciones controladas.

INSTALACIÓN

Se instalaron 12 cámaras con las siguientes medidas como se observa en la figura 2.5:

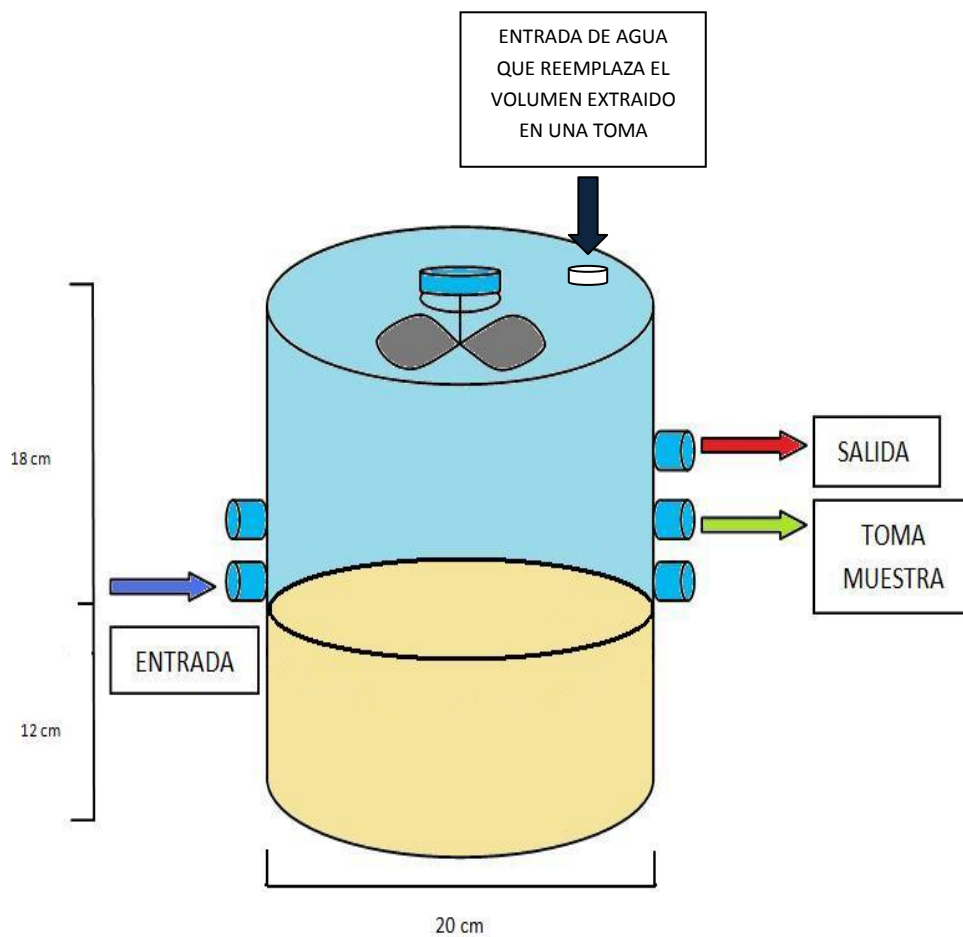


Figura 2.5: Esquema de una cámara.

En la figuras 2.6 y 2.7 se observan imágenes de la instalación.

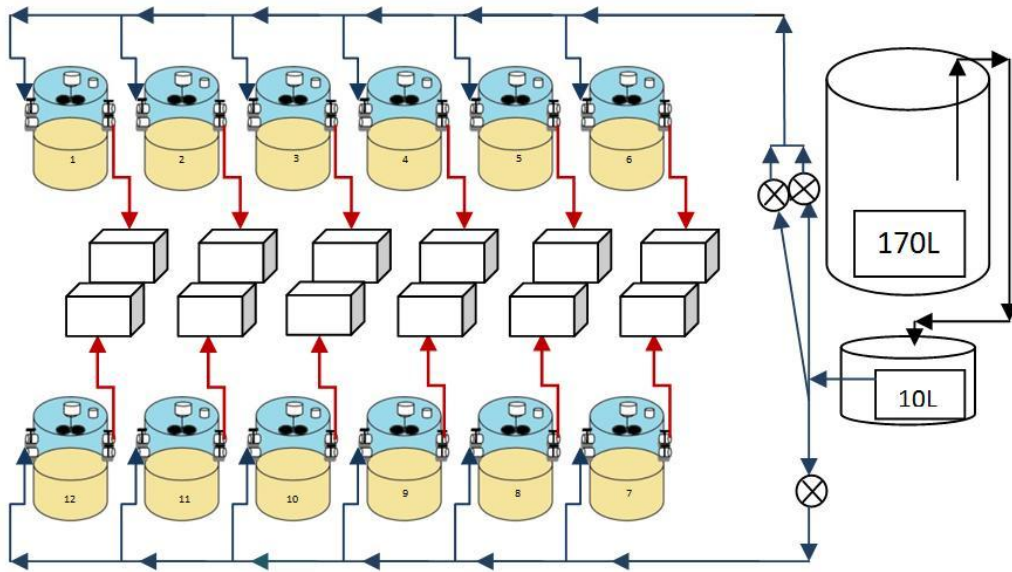


Figura 2.6: Imagen de las cámaras utilizadas en el ensayo.



Figura 2.7: Ensayo ex situ.

El esquema de la instalación será el siguiente:






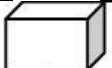
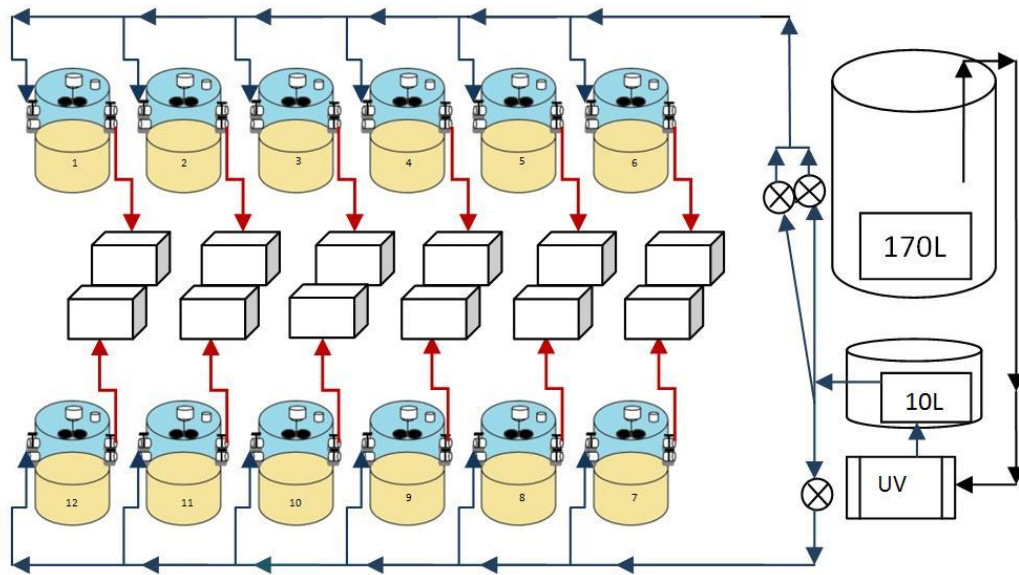
	Bidón de plástico de 170 l, donde se descarga el agua de mar recogida. Se le coloca un aireador.
	Recipiente de plástico de 10 l. Se le coloca un aireador.
	Bomba peristáltica
	Envase de 25 l que recoge el agua de salida de las cámaras.

Figura 2.8 (a): Esquema del proceso con agua marina sin filtrar.








	Bidón de plástico de 170 l, donde se descarga el agua de mar recogida. Se le coloca un aireador.
	Recipiente de plástico de 10 l. Se le coloca un aireador.
	Bomba peristáltica
	Envase de 25 l que recoge el agua de salida de las cámaras.
	Lámpara Ultravioleta

Figura 2.8 (b): Esquema del proceso con agua filtrada.

En los esquemas de las figuras 2.7 y 2.8 se observan las 12 cámaras utilizadas:

- Cámaras 1,2 y 3: Se corresponden a las condiciones CONTROL
- Cámaras 4, 5, y 6: Se corresponden a las de CONCENTRACIÓN BAJA
- Cámaras 7, 8, y 9: Se corresponden a las de CONCENTRACIÓN ALTA
- Cámaras 10, 11 y 12: Cada uno se corresponde con un CONTROL, CONCENTRACIÓN BAJA y CONCENTRACIÓN ALTA respectivamente, serán descartados en el primer tiempo del ensayo ya que a partir de ellos se muestrea el sedimento superficial inicial.

El suministro de agua consta de 3 bombas peristálticas reguladas para que entre las tres aporten un caudal de 135 l/día al total de las cámaras equivalente a renovar el agua 3 veces cada día en cada cámara. Las bombas trabajan en discontinuo para aportar la suficiente presión en los tubos de distribución y garantizar un adecuado reparto en cada una de las cámaras a través de los goteros autocompensantes.

Los caudales medios diarios de cada cámara se calcularon a partir de los volúmenes de agua recogida al día en los recipientes de descarte de 25 l.

La entrada se sitúa en el orificio a 12cm del fondo de la cámara (ligeramente por encima del sedimento) y la salida del agua en el orificio opuesto y superior. El orificio situado a 18 cm del fondo (unos 6 cm por encima del sedimento) es para la extracción de las muestras de agua en el ensayo para la determinación de los flujos. Cada orificio está regulado por una válvula. Las válvulas son de 1 cm y se acoplan con teflón directamente al orificio de metacrilato.

Se colocará un aireador en cada cámara para evitar la anoxia durante el período de aclimatación.

El caudal saliente de las cámaras es recogido en bidones de 25 l. Las cámaras estarán a temperatura constante de aproximadamente unos 18,85°C que se corresponde con la temperatura media anual para el mar Mediterráneo en la costa suroeste de España (Mayer et al, 2012). Las cámaras permanecieron en oscuridad durante el ensayo, mientras, durante la aclimatación, se siguió un fotoperiodo con (12 horas luz, 12 horas oscuridad).

Ensayo 4: Fitoplancton

ACLIMATACIÓN

Este proceso de aclimatación se realiza para poner a punto el sedimento, es decir, para que se encuentre en régimen constante y estabilizado cuando se realice el ensayo.

Se vertió el sedimento en las cámaras hasta la altura de 12cm, se niveló y compactó con espátula lo mejor posible y se llenaron de agua de mar sin filtrar, hasta la altura de salida, lentamente mediante bomba peristáltica con un caudal aproximado entre 10,5 y 12 l/día cada cámara. Este proceso de llenado tardó unas 7-8 horas. Así se evitó la resuspensión y alteración de los primeros centímetros del sedimento por acumulación de finos.

Se hizo circular con agua de mar sin filtrar durante unos 3 días para la aclimatación del sedimento y se produjo la siembra del sedimento por microorganismos. No se colocaron aireadores individuales, solo se colocó uno en el bidón de 170 l.

Posteriormente se hizo circular agua de mar filtrada: se filtra toda el agua con la malla de fitoplancton de 50 µm. Posteriormente se filtraron unos 30-40 litros, es decir un 30 % del volumen recogido y filtrado con malla de fitoplancton, utilizando filtros de 0,45 µm para eliminar el seston.

Se vació el bidón de 170 l y se rellenó con 50 l de agua tamizada. Se puso en marcha la lámpara UV para esterilizar cualquier tipo de microorganismo que pudo haber quedado residualmente después de filtrar el agua y se cambió el cubo de 10 l por el agua filtrada.

Cada día se recogieron 155 litros de agua marina (5 bidones de 25 l + 2 bidones de 10 l + 1 bidón de 20 l de reserva), que durante los primeros 3 días no se filtró ni tamizó. Al día las cámaras consumieron normalmente en el orden de 130 y 145 litros. El agua filtrada representa un 30% del agua recogida diariamente. Como se mezclaron los 40 l filtrados con malla y filtro de 0,45 µm más con el 70 % del volumen de agua que solamente se filtró con malla, quedó una cantidad de organismos que al pasar por UV murieron.

ENSAYO

El día del ensayo se cerró la salida de agua de cada cámara y se fueron llenando las cámaras con agua de mar filtrada hasta el máximo de su capacidad. Una vez las cámaras se encontraron casi completamente llenas se paró la entrada de agua, se vertió el contenido en materia orgánica (5 ml en cada una de las 4 cámaras BAJAS, 10 ml en cada una de las 4 cámaras ALTAS y nada en las 4 cámaras restantes) desde la columna de agua, se cerró rápidamente la tapa y se homogeneizó muy suavemente con el molinillo (más o menos con 5 vueltas en 10 segundos) para que ésta materia orgánica se repartiera uniformemente sobre la superficie del sedimento. Se dejó que sedimente durante una hora.

Después de la sedimentación de la materia orgánica, se vaciaron 3 cámaras (una será control, otra de concentración baja y la otra de concentración alta). Y de éstas se recogió sedimento del centímetro superficial, con el fin de determinar la concentración de materia orgánica al inicio del ensayo. Se extrajeron unos 12 cores de 1,7 cm de diámetro interno por cámara.

Se recogieron muestras del agua de mar filtrada por 0,45 μm , utilizada para reemplazar el volumen extraído en cada toma durante la incubación para el análisis de los distintos parámetros que servirán para corregir las concentraciones de cada variable a lo largo del ensayo. Se tomaron al inicio, a la mitad del ensayo y al final para el amonio, nitratos, fosforo reactivo soluble, sílice y oxígeno disuelto.

Una vez transcurrida la hora de sedimentación, se paró la circulación y se empezó la incubación del ensayo prolongándose hasta 8 horas en las que se extrajeron muestras de agua cada 2 horas (6 tomas o tiempos). El agua extraída se sustituyó por agua nueva filtrada, se dejó abierta la válvula de entrada y se insertó por el orificio superior con ayuda de vaso de precipitados. Se extrajeron muestras para amonio, NH_4^+ (15 ml); fósforo reactivo soluble, PSR (15 ml); Sílice, Si (15 ml); oxígeno disuelto, OD (45 ml) y nitratos, N+N (40 ml). En total se requieren 135 ml, es decir, se extrajeron 3 jeringas de 45 ml en cada cámara (9 cámaras, porque ya se han descartado 3). Se anotó la cantidad exacta de agua extraída.

Justo en el momento de finalizar el experimento, se vació el agua de los depósitos lentamente y se extrajeron cores de cada cámara para su posterior determinación de MO y granulometría. Al igual que en las otras 3 cámaras iniciales, se extrajeron unos 12 cores por cámara.

Ensayo 5: Pienso

ACLIMATACIÓN

Se vertió el sedimento base en las cámaras hasta la altura de 12 cm en las cuatro cámaras CONTROL y 8 cm de sedimento base en las 8 cámaras restantes. De estas 8 cámaras, a 4 de ellas, que fueron las de Concentración Baja, se les adicionó 4 cm de sedimento mezclado con pienso que añadió una concentración de 0,9 % de materia orgánica y a las 4 cámaras restantes, que fueron las de Concentración Alta, se les adicionó 4 cm de sedimento mezclado con pienso que añadió un 1,8 % de materia orgánica. Se nivelaron y compactaron con espátula lo mejor posible y se llenaron de agua de mar NO filtrada, hasta la altura de evacuación por gravedad, lentamente mediante bomba peristáltica con el caudal determinado. Este proceso de llenado tardó unas 7-8 horas, de esta forma se evitó la resuspensión y alteración de los primeros centímetros del sedimento.

En este ensayo se colocaron aireadores individuales en cada cámara además del aireador del bidón de 170 l y en el de 10 l.

Se hizo circular con agua de mar NO FILTRADA durante unos 3,5 días para la aclimatación del sedimento y se produjo la siembra de microorganismos.

Posteriormente se hizo circular agua de mar filtrada: se filtró toda el agua recogida con la malla de fitoplancton de 50 μm . Posteriormente se filtraron unos 30-40 litros, es decir un 30 % del volumen recogido filtrado, utilizando filtros de 0,45 μm para eliminar el seston.

Se vació el bidón de 170 l y se rellenó con 50 l de agua tamizada. Se puso en marcha la lámpara UV para esterilizar y eliminar cualquier tipo de microorganismo que pudo haber quedado residualmente después de filtrar el agua y se cambió el cubo de 10 l por el agua filtrada.

Al día se recogieron 135 litros de agua marina que durante los primeros 3 días no fue agua filtrada. Al día las cámaras consumieron 130 y 145 litros. El agua filtrada representa un 30% del agua recogida diariamente. Como se mezclaron los 40 l filtrados con malla y filtro de 0,45 μm más con el 70 % del volumen de agua que solamente se filtró con malla de fitoplancton, quedó una cantidad de organismos que al pasar por UV murieron.

ENSAYO

El día del ensayo se cerró la salida de agua de cada cámara y se fueron llenando las cámaras con agua de mar filtrada.

El ensayo se realizó en condiciones de oscuridad, se utilizó una luz roja para realizar las extracciones de las muestras.

Se vaciaron 3 cámaras (una de control, otra de Concentración baja y la otra de Concentración alta). Y de éstas se recogió sedimento del centímetro superficial, con el fin de determinar materia orgánica. Se extrajeron 12 cores por cámara.

Se recogieron muestras del agua entrante FILTRADA durante la incubación para el análisis de los distintos parámetros que servirán para calcular las concentraciones del ensayo. Por ejemplo se puede tomar al inicio, a la mitad del ensayo y al final para el amonio (NH_4^+), nitratos (N+N), fósforo reactivo soluble (PSR), sílice (Si) y oxígeno disuelto (OD).

Se paró la circulación y se empezó la incubación del ensayo prolongándose hasta 8 horas en las que se extrajeron muestras de agua cada 2 horas (6 tomas o tiempos). El agua extraída se sustituyó por agua nueva filtrada, se deja abierta la válvula de entrada y se inserta por el orificio superior con ayuda de un vaso de precipitados y se eliminaron las burbujas de aire que pudieran quedar dentro de la cámara. Se extrajeron muestras para NH_4^+ (15ml), PSR (15ml), Si (15ml), OD (45ml) y N+N (40ml). En total se requieren 135ml, es decir, se deben extraer 3 jeringas de 45ml en cada cámara (9 cámaras, porque ya se han descartado tres para medir las condiciones iniciales del sedimento) el tiempo de extracción de cada muestra con cada jeringa debe ser de 30 segundos aproximados para extraer 45 ml de muestra. Se anotó la cantidad exacta de agua extraída y el tiempo en el que se extrae cada muestra.

Antes de la recogida de la muestra se abrió el tapón superior de la cámara para la entrada de agua que reemplazará al agua extraída con la jeringa. En ese tapón se colocó una jeringa abierta a presión

atmosférica la que se le añade agua filtrada con un vaso de precipitados. El cierre debe ser hermético para evitar la entrada de aire a la cámara durante la extracción de la muestra (Figura 2.9).



Figura 2.9: Se observa la jeringa colocada verticalmente para sustituir el agua extraída.

Justo en el momento de finalizar el experimento, se vació el agua de los depósitos lentamente y se extrajeron cores de ellos para su posterior determinación MO y granulometría. Al igual que en las otras 3 cámaras iniciales, se extraen unos 12 cores por cámara.

2.4. Técnicas analíticas

ANÁLISIS DE AGUAS

Las muestras de agua, procedentes de las cámaras y la utilizada para reemplazar el volumen de agua extraída durante el ensayo (inicio, medio y fin) fueron procesadas rápidamente tras su obtención. El oxígeno disuelto es analizado inmediatamente y sin filtrar la muestra ya que se trata de un gas muy reactivo. En cambio, para el resto de parámetros químicos (amonio, nitratos, fósforo soluble reactivo y sílice) las muestras son filtradas a través de membrana de acetato de celulosa de 0,45 μm (Sartorius). A excepción del amonio, el resto de nutrientes son almacenados a -20°C hasta el momento de su determinación en recipientes de polietileno translúcido de 15 ml para el fósforo reactivo soluble y el sílice, y de 50 ml para los nitratos.

A continuación se resumen los parámetros analizados en el agua y la metodología seguida para su determinación:

→OXÍGENO DISUELTO: Se determinó siguiendo el método iodométrico clásico de Winkler (Baumgarten et al., 1996) el cual consiste en la adición de sulfato de manganeso y ioduro alcalino de potasio. El sulfato de manganeso junto con el ioduro alcalino y en contacto con el oxígeno disuelto del agua forma un precipitado marrón de $\text{Mn}(\text{OH})_3$. Luego con la adición de ácido, el Mn^{+3} presente en el precipitado marrón se reduce de nuevo a Mn^{+2} oxidando al mismo tiempo aniones de ioduro (I^-) a I_2 en una cantidad idéntica a la de oxígeno presente en un principio en la muestra de agua. Finalmente, este iodo es titulado con una solución de tiosulfato de sodio. Para las muestras de la columna de agua.

→AMONIO: La muestra debe ser filtrada previamente a través de membranas de acetato de celulosa de 0.45 μm . Se conserva a 4°C y se realiza su determinación antes de 24 horas. Su determinación se basa en la reacción de Berthelot. En medio alcalino el amonio disuelto reacciona con el hipoclorito formando una monocloramina. Este compuesto, en presencia de fenol, y un exceso de hipoclorito da lugar a la formación de azul de indofenol proporcional a la cantidad de amonio que podremos determinar colorimétricamente. El ion nitroprusiato cataliza la reacción. La adición de citrato trisódico elimina la interferencia de Ca y Mg (Solòrzano, 1969).

→NITRATOS: Descrito en Baumgarten et al (1996). Los nitratos son reducidos hasta nitritos empleando una columna rellena de cadmio y una solución cúprica lo que se conoce, como la reacción de Griess, que serán leídos, junto los nitritos originales, en espectrofotómetro a 543nm previa adición de sulfanilamida y etilendiamina. El límite de detección se sitúa en 0,1 μM .

→FÓSFORO SOLUBLE REACTIVO (PSR): Se midió siguiendo el método de Murphy y Riley (1962) que consiste en provocar la formación de un complejo fosfomolibdico de color azul mediante la adición de molibdato amónico en medio ácido. El molibdato de amonio y el tartrato de antimonio y potasio reaccionan con el ortofosfato en un medio ácido para formar un complejo de fosfomolibdato de antimonio, el cual es reducido a azul de molibdeno por el ácido ascórbico.

→SÍLICE: Se basa en la reacción entre el molibdato amónico y el ácido ortosilícico según Strickland y Parson (1972). El silicio disuelto reacciona con el molibdato de amonio en medio ácido formando un complejo amarillento que a su vez, con la adición de una mezcla reductora de metolsulfito, se reduce a ácido silicomolibdato reducido, un complejo azul, cuya absorción máxima la alcanza a 810 nm. El límite de detección está en 0,1 μM .

→**CLOROFILA:** Este método es usado para la determinación de la concentración del fitoplancton añadido en el Ensayo 4. Es analizada por el método tricromático basado en espectrofotometría visible (APHA, 2005) usando las ecuaciones descritas por Jeffrey y Humprey (1975). La clorofila a es extraída por la acetona tamponada con CaCO₃ durante al menos 2 horas para su posterior lectura a cuatro longitudes de onda diferentes (630, 647, 664 y 750 nm).

ANÁLISIS DE SEDIMENTOS:

→**% MATERIA ORGÁNICA:** El contenido en materia orgánica se determinó con el método de calcinación a 600 °C con eliminación de carbonatos (Dell'Anno et al. 2002). Se deseca una muestra de unos 4 gramos a 100-105°C, se pesa con precisión y se mezcla con 50 ml de ácido clorhídrico al 5 % (v/v), manteniendo en contacto unos 15 minutos para eliminar los carbonatos de la muestra. Transcurrido este tiempo, se filtra la muestra, sobre un filtro sin cenizas desecado y tarado previamente, añadiéndole poco a poco un volumen de unos 100 ml de ácido clorhídrico 5%, hasta conseguir limpiar todo el recipiente donde estaba contenida la muestra. El filtro se introduce dentro del crisol y se deseca a 105°C durante 24 h. A continuación se pesa el crisol y se lleva a calcinar en la mufla a 600°C durante una hora. Se vuelve a pesar y se calcula el contenido de Materia Orgánica.

$$\% \text{ MO} = ((b - c) / a) * 100 \quad (2)$$

Donde,

a = peso de la muestra seca en gramos (g),

b = peso tras estar a 105°C en gramos (g),

c = peso tras estar a 600°C en gramos (g).

→**GRANULOMETRÍA:** Técnica basada en Shepard (1954) la cual divide el sedimento en gravas, arenas y limos y arcillas conjuntamente. Mediante una batería de 7 tamices con diferente luz de malla y superpuestos en orden de mayor a menor luz se aplican vibraciones durante 15 minutos. Los distintos tamices corresponden a diferentes tamaños de partículas que van desde las gravas (>2 mm) hasta limos y arcillas (<0,063mm) pasando por cinco clases de arenas (2mm>arena muy gruesa > 1mm; 1mm> arena gruesa > 0,5mm; 0,5mm> arena media > 0,25mm; 0,25mm> arena fina > 0,125mm y 0,125mm > arena muy fina > 0,063) según la escala de Wentworth.

2.5. Cálculo de flujos

Para calcular la concentración en cada tiempo aplicaremos:

$$\begin{aligned}n_0 &= C_0 \cdot V & (3) \\n_1 &= n_0 + (C_1 - C_0) \cdot V - C_{e1} \cdot V_{e1} + C_{s1} \cdot V_{s1} \\n_2 &= n_1 + (C_2 - C_1) \cdot V - C_{e2} \cdot V_{e2} + C_{s2} \cdot V_{s2} \\n_3 &= n_2 + (C_3 - C_2) \cdot V - C_{e3} \cdot V_{e3} + C_{s3} \cdot V_{s3} \\n_4 &= n_3 + (C_4 - C_3) \cdot V - C_{e4} \cdot V_{e4} + C_{s4} \cdot V_{s4}\end{aligned}$$

Donde,

n son los moles en cada tiempo,

C la concentración,

V el volumen incubado (3,8L),

C_e y V_e es la concentración y volumen que entra en cada tiempo

C_s y V_s concentración y volumen de salida.

Así se restituye los moles que se insertan y los que se extraen, obteniendo la concentración de X en el supuesto de que no hubiera ni entradas ni salidas de agua.

Los flujos fueron calculados a partir de la variación de concentraciones para cada nutriente analizado según de Freitas (2006) adaptado a su vez de Zarzur (2005) y Hargrave & Connolly (1978). Para ello se ajusta una función lineal, a cada serie de valores de concentraciones para cada parámetro analizado a lo largo del tiempo en ensayo y se aplica la ecuación de Hargrave & Connolly:

$$F = (C_t - C_0)/(t_t - t_0) \cdot V \cdot 24 \cdot (1/A) = \mu \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1} \quad (4)$$

Donde,

V es el volumen en litros del agua incubada en el interior de la cámara.

C₀ y C_t (en μM) son las concentraciones del nutriente para el tiempo inicial y final de la incubación calculado a partir de la función de ajuste.

t₀ y t_f (en horas) son los tiempos inicial y final de la incubación.

A (en m²) es el área de sedimento encerrada dentro de la cámara.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ENSAYOS A PEQUEÑA ESCALA

ENSAYO 1: MEJILLONES LIOFILIZADOS

Los resultados obtenidos después de 1 hora y media mostraban como se observa en la figura 3.1 una gran turbidez en la columna de agua para todas las concentraciones de MO añadida (tratamientos), además se observó que gran parte de la materia orgánica se quedaba flotando en la superficie como se observa en la figura 3.2. Esto indicaba que la MO añadida desde la columna de agua no se estaba homogeneizando correctamente en el sedimento y se procedió a descartar la realización del ensayo a escala media.



Figura 3.1: Resultados visuales.



Figura 3.2: Imagen en la que se observa como los mejillones liofilizados triturados quedan flotando en la superficie de la columna de agua.

ENSAYO 2: MEJILLONES FRESCOS

Los resultados obtenidos en este ensayo fueron similares a los obtenidos en el ensayo a pequeña escala realizado con mejillones liofilizados (Ensayo 1). Los resultados indicaron que añadir Materia Orgánica en forma de mejillones frescos triturados desde la columna de agua generaba mucha turbidez como se observa en la figura 3.3 y además la materia orgánica se depositaba de forma muy heterogénea en el sedimento como se muestra en la figura 3.4 formando grumos en la superficie del sedimento.

Se procedió al descarte de realizar este tipo de ensayo utilizando materia orgánica en forma de mejillones frescos triturados a mediana escala.

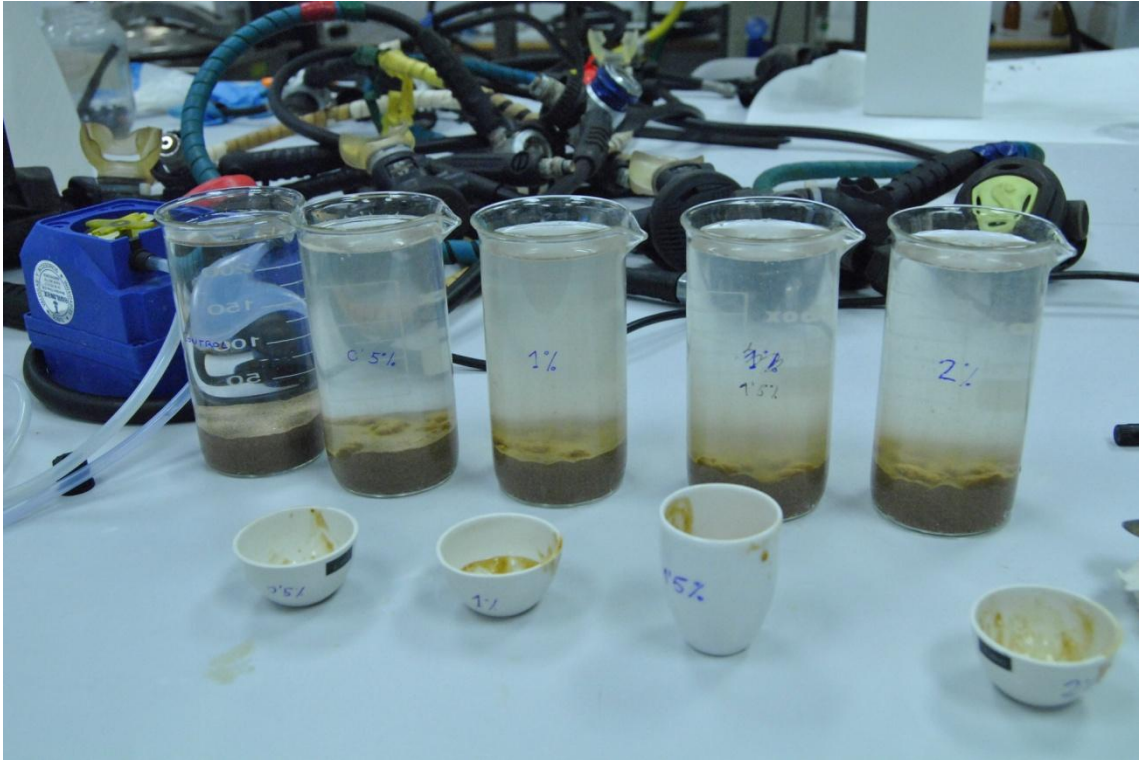


Figura 3.3: Ensayo 2 con mejillones frescos triturados después de verter las distintas concentraciones de materia orgánica a la columna de agua.

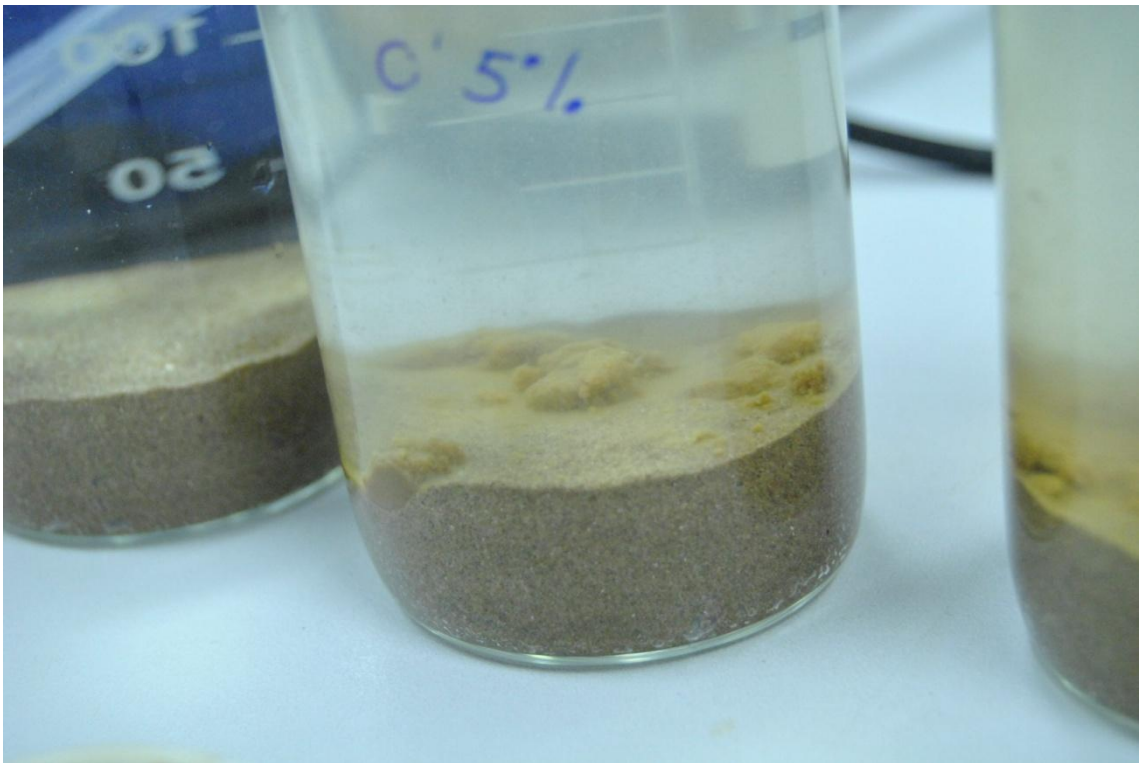


Figura 3.4: Grupos de materia orgánica sobre la superficie del sedimento.

ENSAYO 3: PIENSO

En este ensayo a pequeña escala utilizando pienso para doradas mezclado directamente a distintas concentraciones con el sedimento base, los resultados 24 horas después indicaron que no hubo ninguna turbidez en la columna de agua como se observa en la figura 3.5 y el sedimento visualmente no presentaba grumos como se observó en el Ensayo 2.

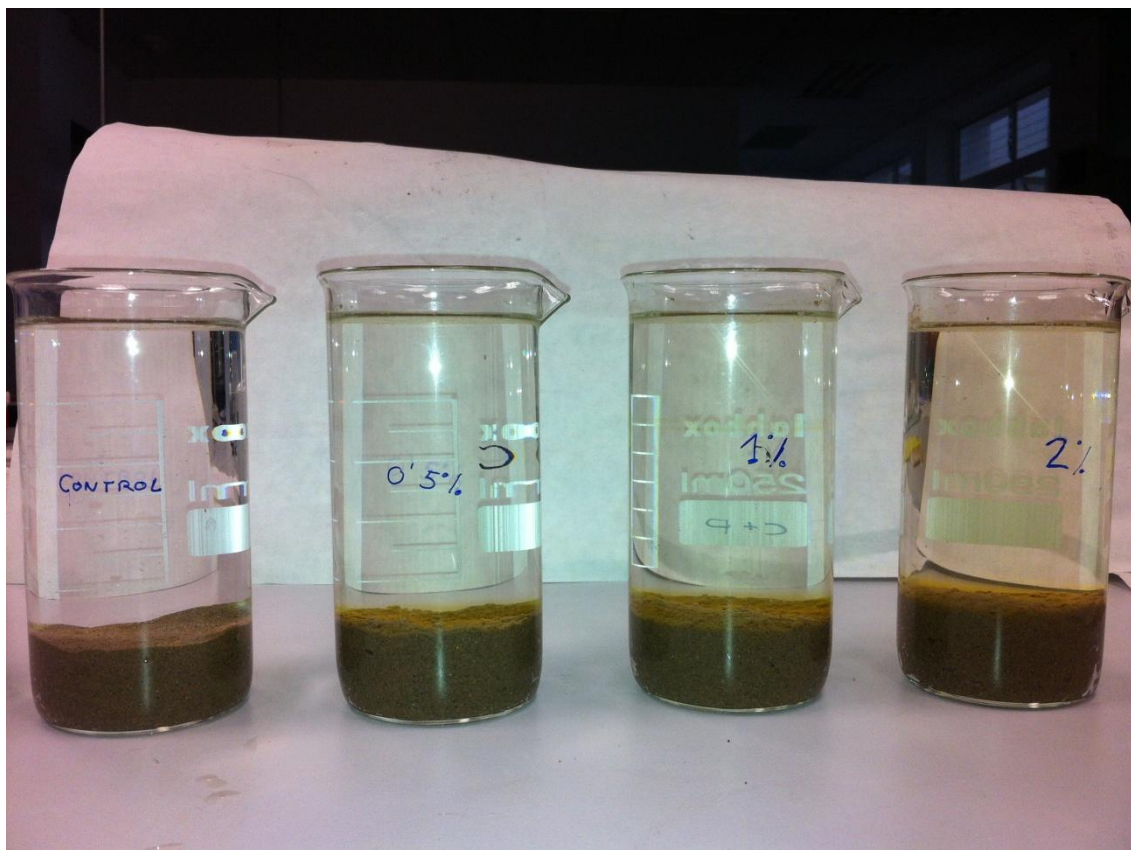


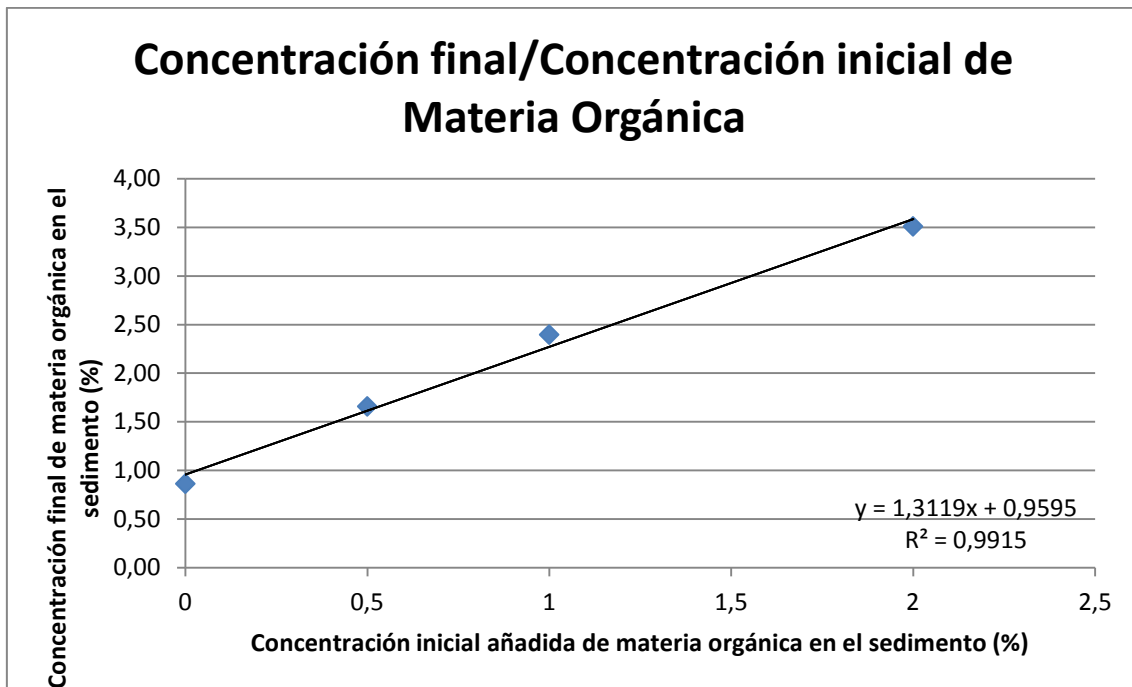
Figura 3.5: Ensayo 3 con pienso añadido directamente al sedimento a distintas concentraciones de materia orgánica. No se observó turbidez en la columna de agua.

En consecuencia se procedió a medir la materia orgánica del sedimento 24 horas después y se obtuvieron los valores que se observan en la Tabla 3.1:

	MO (%)
Control	0,86
0,50%	1,66
1%	2,40
2%	3,51

Tabla 3.1: Resultados de la concentración de materia orgánica en el sedimento al cabo de un día.

Con los resultados de materia orgánica en el sedimento obtenidos 24 horas después se realizó la gráfica 3.1 en la que se relaciona linealmente mediante ajuste de mínimos cuadrados el porcentaje de Materia orgánica final (24 horas después) respecto al porcentaje de Materia orgánica añadido inicialmente al sedimento base.



Gráfica 3.1: Relación entre la concentración inicial añadida de materia orgánica en el sedimento frente a la concentración de materia orgánica medida al cabo de 24 horas.

$$C_f = 1,13119 \cdot C_0 + 0,9595 \quad (5)$$

Donde,

C_f = Concentración medida de materia orgánica en el sedimento al cabo de un día (%).

C_0 = Concentración de materia orgánica añadida al sedimento base (%).

Con estos resultados, favorables respecto a los obtenidos en los Ensayos 1 y 2, se procedió a realizar el Ensayo a mediana escala con pienso.

ENSAYOS A MEDIANA ESCALA

ENSAYO 4: FITOPLANCTON

No se realizaron ensayos previos sobre la adición de materia orgánica en el sedimento. Se utilizó fitoplancton cultivado con una concentración de clorofila de $66.476 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ añadido directamente desde la columna de agua y se añadieron a cada tratamiento de la siguiente forma:

- 0 ml en las 4 cámaras denominadas CONTROL
- 5 ml en cada una de las 4 cámaras denominadas BAJA CONCENTRACIÓN
- 10 ml en cada una de las 4 cámaras denominadas ALTA CONCENTRACIÓN

Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 3.2 para los flujos de nutrientes y en la Tabla 3.3 para los porcentajes de Materia orgánica medida en el sedimento al inicio del ensayo y al final del mismo.

FLUJOS ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{día}^{-1}$)	Control	Baja	Alta
Oxígeno Disuelto (OD)	-3084	-7076	-10705
Amonio (NH_4^+)	855	646	1218
Nitratos (NO_3^-)	3176	7966	11653
Fósforo Reactivo Soluble (PSR)	7	-23	-93
Sílice (Si)	-319	-145	-290

Tabla 3.2: Síntesis de los resultados calculados para el flujo de nutrientes utilizando la ecuación 4 del apartado de Material y Métodos.

Tratamiento	INICIO			FINAL		
	Control	Baja	Alta	Control	Baja	Alta
MO (%) (promedio)	0,8	0,6	0,6	0,4	0,5	0,6

Tabla 3.3: % MO del sedimento medidos al inicio y al finalizar el ensayo.

Los resultados de los análisis realizados indicaron que este tipo de tratamiento con MO orgánica (fitoplancton) quedaba disuelto en la columna de agua y no pasaba al sedimento como se hubiera esperado. En la tabla 3.3 se observa cómo la concentración medida al inicio de MO en el sedimento no experimentó un aumento en su contenido entre las cámaras Control, Baja y Alta sugiriendo que la clorofila añadida quedó en el agua y no alcanzó a afectar a la MO del sedimento. Además se observó que durante la realización del ensayo se produjeron entradas de aire en las cámaras durante la recogida de muestras, y que las mediciones de Oxígeno Disuelto que se realizaron a continuación de la recogida de muestras de agua de cada cámara, estaban afectadas por esta causa, si bien se obtuvieron flujos más negativos de este elemento en las cámaras altas seguidas por las bajas y control como cabría esperar (tabla 3.2). Si bien los flujos del resto de parámetros fue determinado no tiene sentido su discusión debido a toda la problemática ya expuesta.

ENSAYO 5: PIENSO

PREPARACIÓN DE LOS DISTINTOS NIVELES DE MATERIA ORGÁNICA EN EL SEDIMENTO

Para el cálculo de la masa en gramos de Materia Orgánica (MO) a añadir en los 4 cm superficiales de sedimento se utilizó la ecuación 1:

$$\text{Masa MO } (\%) = (\text{Masa sedimento} * \%_i) / (100 - \%_i) = \text{gr} \quad (1)$$

Donde:

Masa del sedimento, son los gramos de sedimento seco que hay en los 4 cm superficiales del sedimento en el cámara.

$\%_i$, es el porcentaje de materia orgánica a añadir.

Los resultados obtenidos se observan en la tabla 3.6

Masa MO (%)	g
0,9	18,93
1,8	38,21

Tabla 3.2: Valores en gramos para los porcentajes de materia orgánica inicial añadida que se decidieron añadir al sedimento partir de la gráfica 3.1.

Se añaden 18,93 g de pienso a 2764 g de sedimento húmedo (es lo que ocuparían los 4 cm superficiales) para obtener un % de pienso del 0,9 que correspondería a las cámaras con una concentración de materia orgánica “Bajas”

Se añaden 38.21 g de pienso a 2764 g de sedimento húmedo (es lo que ocuparían los 4 cm superficiales) para obtener un % de pienso del 1.8 que correspondería a las cámaras con una concentración de materia orgánica “Altas”

Estos valores se multiplicaron por 4 ya que se realizan 4 réplicas de cada tratamiento (Control, Bajas y Altas) obteniendo los siguientes resultados:

CONCENTRACIÓN BAJA (0,9% MO) → 302,4 g de pienso (75,6 g * 4) + 11056 g de sedimento base húmedo

CONCENTRACIÓN ALTA (1,8% MO) → 152,8 g de pienso (38,2 g * 4) + 11056 g de sedimento base húmedo

En la tabla 3.3 se muestran los resultados de MO medidos al inicio y al finalizar el ensayo. Se constata que la concentración de MO en las cámaras control fue la más baja en torno a 0.7% y que la concentración de MO en las cámaras Bajas a las que se le añadió un 0.9% de MO fue un poco más alta (2.1%) de lo que el sedimento base más la MO añadida debería haber dado (0.7% + 0.9% = 1.6%). Por último las cámaras Altas con una concentración de MO del 2.5% se ajustaron muy bien a lo esperado (0.7 % del sedimento base + 1.8% de MO añadida).

Los valores de MO obtenidos al final del ensayo fueron siempre menores que los medidos al inicio indicando el consumo de la MO durante el ensayo en los tres tipos de cámaras

Tratamiento	INICIO			FINAL		
	Control	Baja	Alta	Control	Baja	Alta
% MO añadida a los 4 cm superficiales	0,0	0,9	1,8	0,0	0,8	1,9
MO (%) (promedio)	0,7	2,1	2,5	0,5	1,6	2,2

Tabla 3.3: Valores del % de MO en el sedimento al inicio del ensayo y al finalizar el mismo

CONCENTRACIONES DE OXÍGENO DISUELTO Y NUTRIENTES OBTENIDAS EN LAS DISTINTAS TOMAS DURANTE EL ENSAYO 5.

→OXÍGENO DISUELTO:

En la tabla 3.3 se muestran los valores obtenidos en el laboratorio para al Oxígeno disuelto mediante el método iodométrico clásico de Winkler (Baumgarten et al., 1996).

Tiempo	Muestra	OD (mg/l)
0	Control 1	8,0
	Control 2	7,8
	Control 3	8,6
	Alta 1	5,7
	Alta 2	6,1
	Alta 3	6,7
	Baja 1	4,9
	Baja 2	5,1
	Baja 3	5,9
1	Control 1	7,6
	Control 2	7,6
	Control 3	8,2
	Alta 1	4,7
	Alta 2	5,3
	Alta 3	6,5
	Baja 1	6,7
	Baja 2	6,9
	Baja 3	7,1
2	Control 1	7,1
	Control 2	7,6
	Control 3	7,6
	Alta 1	4,5
	Alta 2	5,9
	Alta 3	6,3

	Baja 1	5,5
	Baja 2	6,1
	Baja 3	6,7
3	Control 1	7,6
	Control 2	7,1
	Control 3	7,8
	Alta 1	2,2
	Alta 2	4,9
	Alta 3	5,7
	Baja 1	5,3
	Baja 2	7,1
	Baja 3	7,3
4	Control 1	7,3
	Control 2	7,6
	Control 3	7,6
	Alta 1	1,2
	Alta 2	3,1
	Alta 3	4,5
	Baja 1	4,3
	Baja 2	5,9
	Baja 3	4,5
5	Control 1	7,6
	Control 2	7,3
	Control 3	7,1
	Alta 1	0,3
	Alta 2	1,8
	Alta 3	3,3
	Baja 1	3,5
	Baja 2	6,3
	Baja 3	6,1
6	Control 1	6,7
	Control 2	7,1
	Control 3	7,3

Tabla 3.3: Resultados de la concentración de oxígeno disuelto (mg/l) de las muestras de cada cámara para cada tiempo.

También se tomaron muestras de agua de mar filtrada utilizada para reemplazar el volumen extraído en una toma durante el ensayo y se midió la concentración de OD en mg/l (Tabla 3.4):

Muestra	OD (mg/l)
Inicio	7,3
Medio	7,3
Final	7,3

Tabla 3.4: Concentración de Oxígeno Disuelto en mg/l para las muestras que se tomaron en el agua de entrada en el Inicio del ensayo, a la mitad y al finalizar el mismo.

→**AMONIO:**

En la tabla 3.5 se muestran los valores obtenidos en el laboratorio para el Amonio. Su determinación se basa en la reacción de Berthelot.

Tiempo	Muestra	[NH ₄ ⁺] (μM)
0	Control 1	13,6
	Control 2	6,7
	Control 3	10,2
	Alta 1	160,1
	Alta 2	163,7
	Alta 3	140,3
	Baja 1	204,3
	Baja 2	114,3
	Baja 3	103,2
1	Control 1	10,4
	Control 2	8,7
	Control 3	13,1
	Alta 1	164,3
	Alta 2	138,0
	Alta 3	137,0
	Baja 1	178,6
	Baja 2	100,5
	Baja 3	106,1
2	Control 1	9,6
	Control 2	11,4
	Control 3	8,6
	Alta 1	196,3
	Alta 2	215,5
	Alta 3	217,0
	Baja 1	129,8
	Baja 2	105,5
	Baja 3	71,6
3	Control 1	10,1

Tiempo	Muestra	[NH ₄ ⁺] (μM)
	Control 2	6,9
	Control 3	9,4
	Alta 1	187,7
	Alta 2	138,0
	Alta 3	168,6
	Baja 1	211,4
	Baja 2	96,6
	Baja 3	76,8
4	Control 1	11,5
	Control 2	10,2
	Control 3	8,7
	Alta 1	205,5
	Alta 2	141,6
	Alta 3	159,4
	Baja 1	127,2
	Baja 2	78,8
	Baja 3	57,1
5	Control 1	15,0
	Control 2	14,5
	Control 3	13,9
	Alta 1	193,8
	Alta 2	141,0
	Alta 3	123,9
	Baja 1	120,9
	Baja 2	72,2
	Baja 3	69,6
6	Control 1	21,0
	Control 2	15,6
	Control 3	20,2

Tabla 3.5: Resultados de la concentración de Amonio (μM) de las muestras de cada cámara para cada tiempo.

También se tomaron muestras de agua de mar filtrada utilizada para reemplazar el volumen extraído en una toma durante el ensayo y se determinó la concentración de amonio en μM (Tabla 3.6):

Muestra	[NH ₄ ⁺] (μM)
Inicio	2,5
Medio	4,6
Final	4,4

Tabla 3.6: Concentración de Amonio (μM) para las muestras que se tomaron en el agua de entrada en el Inicio del ensayo, a la mitad y al finalizar el mismo.

→NITRATOS:

En la tabla 3.7 se muestran los valores obtenidos en el laboratorio para los nitratos mediante el método descrito en Baumgarten et al (1996).

Tiempo	Muestra	NO_3^- (μM)
0	Control 1	2,7
	Control 2	1,0
	Control 3	0,4
	Alta 1	0,2
	Alta 2	0,3
	Alta 3	0,5
	Baja 1	0,1
	Baja 2	0,5
	Baja 3	0,4
1	Control 1	2,6
	Control 2	1,1
	Control 3	0,5
	Alta 1	0,3
	Alta 2	0,5
	Alta 3	0,7
	Baja 1	2,3
	Baja 2	0,7
	Baja 3	1,0
2	Control 1	2,3
	Control 2	2,5
	Control 3	0,7
	Alta 1	0,5
	Alta 2	0,8
	Alta 3	0,8
	Baja 1	0,6
	Baja 2	0,6
	Baja 3	0,8
3	Control 1	1,9
	Control 2	1,1
	Control 3	0,4
	Alta 1	0,4
	Alta 2	0,5
	Alta 3	1,1
	Baja 1	0,4
	Baja 2	0,7
	Baja 3	1,0
4	Control 1	2,9
	Control 2	0,9
	Control 3	0,4
	Alta 1	0,7
	Alta 2	0,4
	Alta 3	0,6
	Baja 1	0,1

Tiempo	Muestra	NO ₃ ⁻ (μM)
	Baja 2	0,7
	Baja 3	1,0
5	Control 1	3,4
	Control 2	0,8
	Control 3	0,7
	Alta 1	0,2
	Alta 2	0,5
	Alta 3	1,0
	Baja 1	0,4
	Baja 2	0,3
	Baja 3	0,9
	6	Control 1
Control 2		3,5
Control 3		4,5

Tabla 3.7: Resultados de la concentración de Nitratos (μM) de las muestras de cada cámara para cada tiempo.

También se tomaron muestras de agua de mar filtrada utilizada para reemplazar el volumen extraído en una toma durante el ensayo y se determinó la concentración de nitratos en μM (Tabla 3.8):

Muestra	NO ₃ ⁻ (μM)
Inicio	0,7
Medio	0,6
Final	1,7

Tabla 3.8: Concentración de Nitratos (μM) para las muestras que se tomaron en el agua de entrada en el inicio del ensayo, a la mitad y al finalizar el mismo.

→FÓSFORO SOLUBLE REACTIVO (PSR):

En la tabla 3.9 se muestran los valores obtenidos en el laboratorio para el Fósforo Reactivo Soluble mediante el método descrito método de Murphy y Riley (1962).

Tiempo	Muestra	PSR (μM)
0	Control 1	0,05
	Control 2	0,08
	Control 3	0,03
	Alta 1	0,08
	Alta 2	0,02
	Alta 3	0,10
	Baja 1	0,10
	Baja 2	0,02

Tiempo	Muestra	PSR (μM)
	Baja 3	0,16
1	Control 1	0,02
	Control 2	0,02
	Control 3	0,03
	Alta 1	0,05
	Alta 2	0,08
	Alta 3	0,03
	Baja 1	0,03
	Baja 2	0,01
	Baja 3	0,02
2	Control 1	0,04
	Control 2	0,01
	Control 3	0,09
	Alta 1	0,08
	Alta 2	0,06
	Alta 3	0,17
	Baja 1	0,07
	Baja 2	0,07
	Baja 3	0,04
3	Control 1	0,04
	Control 2	0,03
	Control 3	0,00
	Alta 1	0,17
	Alta 2	0,08
	Alta 3	0,07
	Baja 1	0,11
	Baja 2	0,03
	Baja 3	0,17
4	Control 1	0,00
	Control 2	0,01
	Control 3	0,01
	Alta 1	0,08
	Alta 2	0,04
	Alta 3	0,04
	Baja 1	0,03
	Baja 2	0,04
	Baja 3	0,07
5	Control 1	0,02
	Control 2	0,04
	Control 3	0,04
	Alta 1	0,16
	Alta 2	0,04
	Alta 3	0,05
	Baja 1	0,04
	Baja 2	0,11
	Baja 3	0,05
6	Control 1	0,03
	Control 2	0,05
	Control 3	0,08

Tabla 3.9: Resultados de la concentración de PSR (μM) de las muestras de cada cámara para cada tiempo.

También se tomaron muestras de agua de mar filtrada utilizada para reemplazar el volumen extraído en una toma durante el ensayo y se determinó la concentración de PSR en μM (Tabla 3.10):

Muestra	PSR (μM)
Inicio	0,12
Medio	0,41
Final	0,09

Tabla 3.10: Concentración de de PSR (μM) para las muestras que se tomaron en el agua de entrada en el inicio del ensayo, a la mitad y al finalizar el mismo.

→SÍLICE:

En la tabla 3.11 se muestran los valores obtenidos en el laboratorio para el Fósforo Reactivo Soluble mediante el método descrito método de Strickland y Parson (1972).

Tiempo	Muestra	Si (μM)
0	Control 1	1,5
	Control 2	2,1
	Control 3	1,6
	Alta 1	2,6
	Alta 2	2,5
	Alta 3	2,6
	Baja 1	3,1
	Baja 2	2,2
	Baja 3	3,5
1	Control 1	2,4
	Control 2	3,0
	Control 3	3,5
	Alta 1	17,8
	Alta 2	7,0
	Alta 3	1,6
	Baja 1	3,1
	Baja 2	2,2
	Baja 3	3,0
2	Control 1	6,7
	Control 2	2,9
	Control 3	3,0
	Alta 1	6,5
	Alta 2	3,9
	Alta 3	1,9

Tiempo	Muestra	Si (μM)
	Baja 1	3,0
	Baja 2	3,3
	Baja 3	2,4
3	Control 1	2,0
	Control 2	3,1
	Control 3	2,6
	Alta 1	10,1
	Alta 2	3,5
	Alta 3	3,1
	Baja 1	3,3
	Baja 2	4,3
	Baja 3	2,2
4	Control 1	4,4
	Control 2	2,3
	Control 3	2,2
	Alta 1	3,4
	Alta 2	3,7
	Alta 3	3,0
	Baja 1	2,7
	Baja 2	4,5
Baja 3	4,0	
5	Control 1	1,7
	Control 2	1,5
	Control 3	2,3
	Alta 1	9,4
	Alta 2	2,5
	Alta 3	3,2
	Baja 1	3,4
	Baja 2	2,0
	Baja 3	2,6

Tabla 3.11: Resultados de la concentración de Sílice (μM) de las muestras de cada cámara para cada tiempo.

También se tomaron muestras de agua de mar filtrada utilizada para reemplazar el volumen extraído en una toma durante el ensayo y se determinó la concentración de sílice en μM (Tabla 3.12):

Muestra	Si (μM)
Inicio	6,8
Medio	8,0
Final	3,2

Tabla 3.12: Concentración de Sílice (μM) para las muestras que se tomaron en el agua de entrada en el inicio del ensayo, a la mitad y al finalizar el mismo.

FLUJOS DE NUTRIENTES

→OXÍGENO DISUELTO:

A las concentraciones de oxígeno obtenidas en las distintas tomas del ensayo (Tabla 3.3), es necesario realizar una corrección para eliminar el efecto de dilución que se produce al introducir agua para reemplazar el volumen extraído en cada toma. Para ello se utiliza la ecuación 3 desarrollada en material y métodos. En la Tabla 3.13 se observan dichos cálculos.

Cámara	Muestra	Intervalo tiempo (min)	Tiempo (min)	OD (mg/l)	OD (mmol)	OD (mmol ₀ -mmol _t)	Volumen muestra (ml)	OD (mmol ₀)	OD (mmol _t)	OD (mmol)	OD (mg/l)
CONTROL 1	0		0	8,0	1,500	-0,077	143	0,033	0,036	1,500	7,96
	1	104	104	7,6	1,423	-0,077	135	0,031	0,032	1,426	7,57
	2	84	188	7,1	1,346	0,077	136	0,031	0,030	1,350	7,16
	3	110	298	7,6	1,423	-0,038	135	0,031	0,032	1,426	7,57
	4	77	375	7,3	1,385	0,038	140	0,032	0,032	1,388	7,37
	5	172	547	7,6	1,423	-0,154	137	0,031	0,032	1,427	7,57
	6	888	1435	6,7	1,269		138	0,032	0,029	1,274	6,76
CONTROL 2	0		0	7,8	1,424	-0,038	141	0,032	0,034	1,424	7,76
	1	94	94	7,6	1,386	0,000	135	0,031	0,032	1,388	7,56
	2	86	180	7,6	1,386	-0,075	137	0,032	0,032	1,389	7,57
	3	110	290	7,1	1,311	0,075	135	0,031	0,030	1,315	7,16
	4	77	367	7,6	1,386	-0,038	133	0,031	0,031	1,389	7,57
	5	181	548	7,3	1,349	-0,038	136	0,031	0,031	1,352	7,37
	6	887	1435	7,1	1,311		135	0,031	0,030	1,315	7,16
CONTROL 3	0		0	8,6	1,565	-0,075	135	0,031	0,036	1,565	8,57
	1	85	85	8,2	1,491	-0,112	136	0,031	0,035	1,496	8,19
	2	86	171	7,6	1,379	0,037	135	0,031	0,032	1,387	7,60
	3	110	281	7,8	1,416	-0,037	135	0,031	0,033	1,426	7,81
	4	77	358	7,6	1,379	-0,075	137	0,032	0,032	1,390	7,61
	5	190	548	7,1	1,304	0,037	136	0,031	0,030	1,316	7,21
	6	887	1435	7,3	1,342		137	0,032	0,032	1,353	7,41
BAJA 1	0		0	4,9	0,880	0,330	137	0,032	0,021	1,010	4,90
	1	66	66	6,7	1,210	-0,220	136	0,031	0,029	0,823	6,68
	2	96	162	5,5	0,990	-0,037	132	0,030	0,023	0,775	5,44
	3	110	272	5,3	0,953	-0,183	135	0,031	0,022	0,366	5,19
	4	78	350	4,3	0,770	-0,147	136	0,031	0,018	0,164	4,12
	5	65	415	3,5	0,623		139	0,032	0,015	-0,024	3,23
BAJA 2	0		0	5,1	0,927	0,334	139	0,032	0,022	1,124	5,10
	1	65	65	6,9	1,260	-0,148	133	0,031	0,029	0,969	6,89
	2	88	153	6,1	1,112	0,185	134	0,031	0,026	1,073	6,06
	3	110	263	7,1	1,297	-0,222	133	0,031	0,030	0,879	7,05
	4	78	341	5,9	1,075	0,074	134	0,031	0,025	0,532	5,82
	5	64	405	6,3	1,149		136	0,031	0,027	0,289	6,20
BAJA 3	0		0	5,9	1,046	0,216	135	0,031	0,025	1,230	5,92
	1	65	65	7,1	1,262	-0,072	137	0,032	0,031	1,190	7,11
	2	79	144	6,7	1,190	0,108	135	0,031	0,028	1,149	6,69
	3	110	254	7,3	1,298	-0,505	137	0,032	0,032	1,033	7,29
	4	78	332	4,5	0,793	0,289	133	0,031	0,019	0,803	4,44
	5	63	395	6,1	1,082		138	0,032	0,026	0,567	6,00
ALTA 1	0		0	5,7	1,010	-0,180	136	0,031	0,024	0,880	5,71
	1	40	40	4,7	0,830	-0,036	137	0,032	0,020	1,199	4,65
	2	94	134	4,5	0,793	-0,397	136	0,031	0,019	0,977	4,39
	3	111	245	2,2	0,397	-0,180	136	0,031	0,010	0,933	2,07
	4	78	323	1,2	0,216	-0,162	134	0,031	0,005	0,741	0,93
	5	42	365	0,3	0,054		138	0,032	0,001	0,581	-0,13
ALTA 2	0		0	6,1	1,124	-0,150	133	0,031	0,025	0,927	6,12
	1	39	39	5,3	0,974	0,112	137	0,032	0,023	1,250	5,28
	2	87	126	5,9	1,087	-0,187	135	0,031	0,025	1,101	5,84
	3	110	236	4,9	0,899	-0,337	136	0,031	0,021	1,281	4,79
	4	79	315	3,1	0,562	-0,225	136	0,031	0,013	1,057	2,90
	5	42	357	1,8	0,337	-0,337	136	0,031	0,008	1,126	1,57
ALTA 3	0		0	6,7	1,230	-0,037	134	0,031	0,028	1,046	6,73
	1	37	37	6,5	1,193	-0,037	138	0,032	0,028	1,256	6,52
	2	80	117	6,3	1,155	-0,112	136	0,031	0,027	1,183	6,29
	3	110	227	5,7	1,044	-0,224	135	0,031	0,024	1,289	5,66
	4	79	306	4,5	0,820	-0,224	136	0,031	0,019	0,784	4,40
	5	42	348	3,3	0,596		136	0,031	0,014	1,060	3,10

Tabla 3.13: Corrección de las concentraciones para eliminar el efecto de la dilución.

A partir de los datos de la tabla 3.13 se obtienen las gráficas en las que se muestra la evolución de Oxígeno Disuelto en mg/l a lo largo del día del ensayo 5 para cada cámara (Figuras 3.1, 3.2 y 3.3):

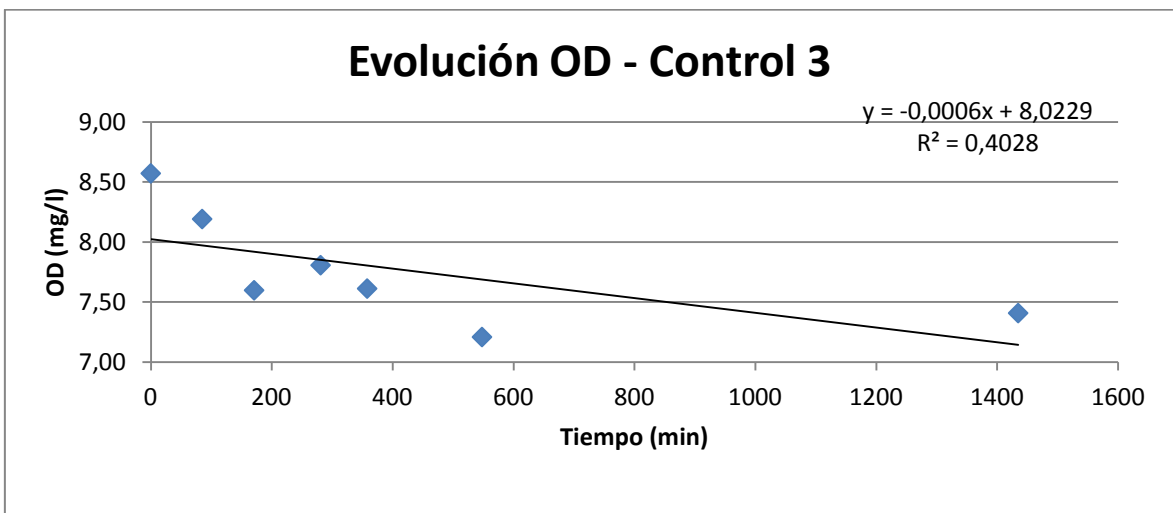
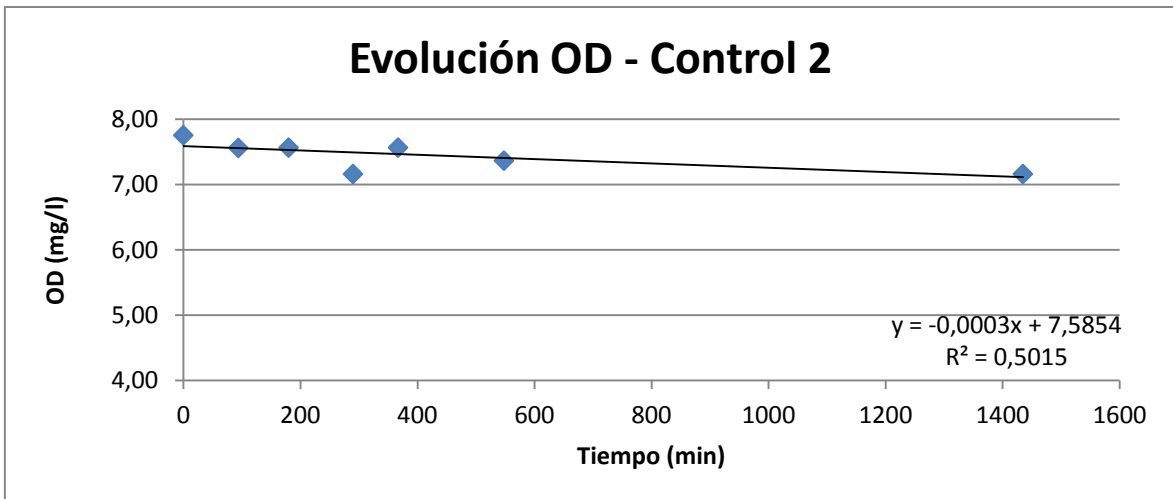
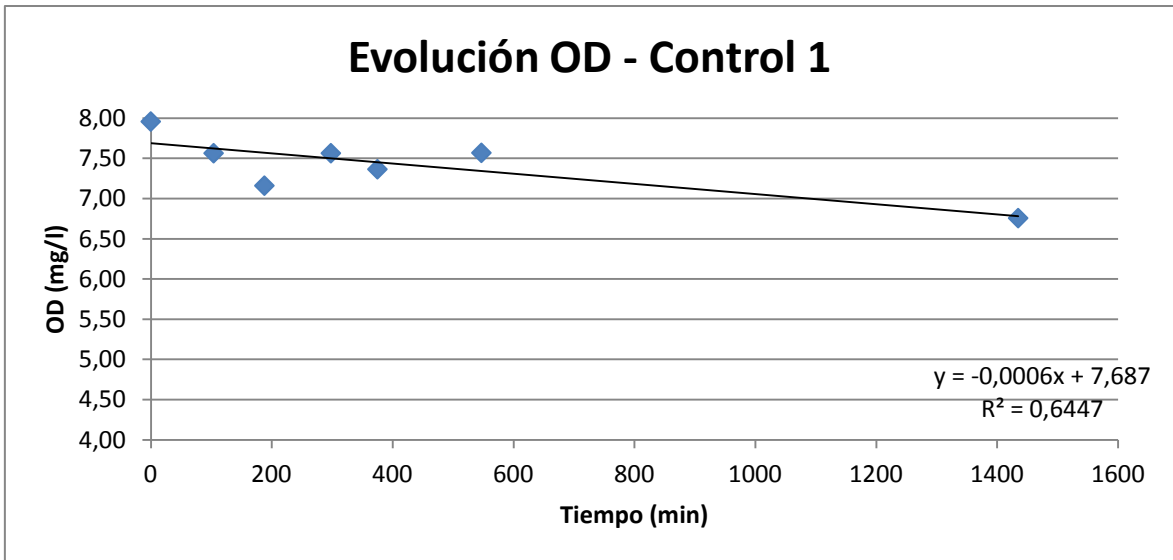


Figura 3.1: Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo del Oxígeno Disuelto en mg/l en las cámaras Control.

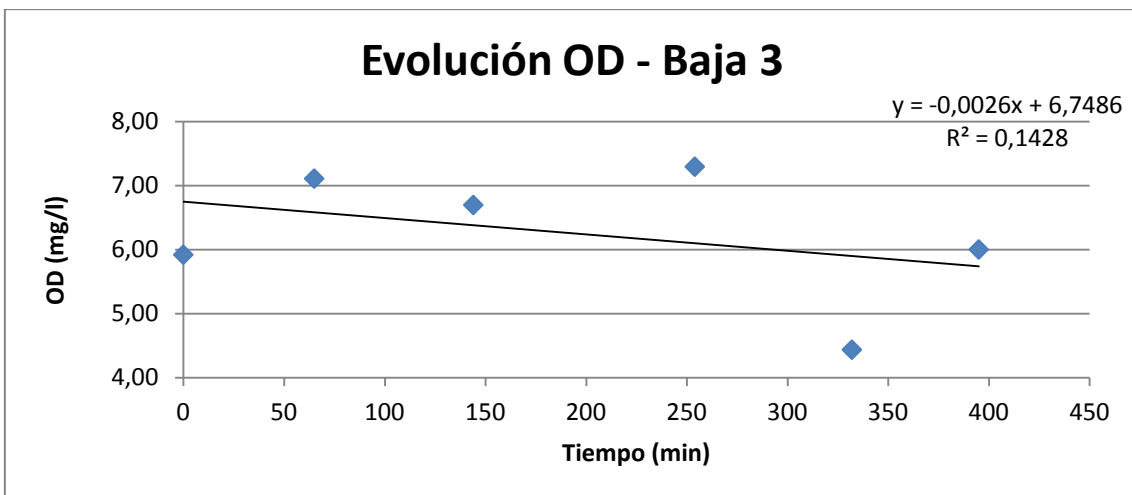
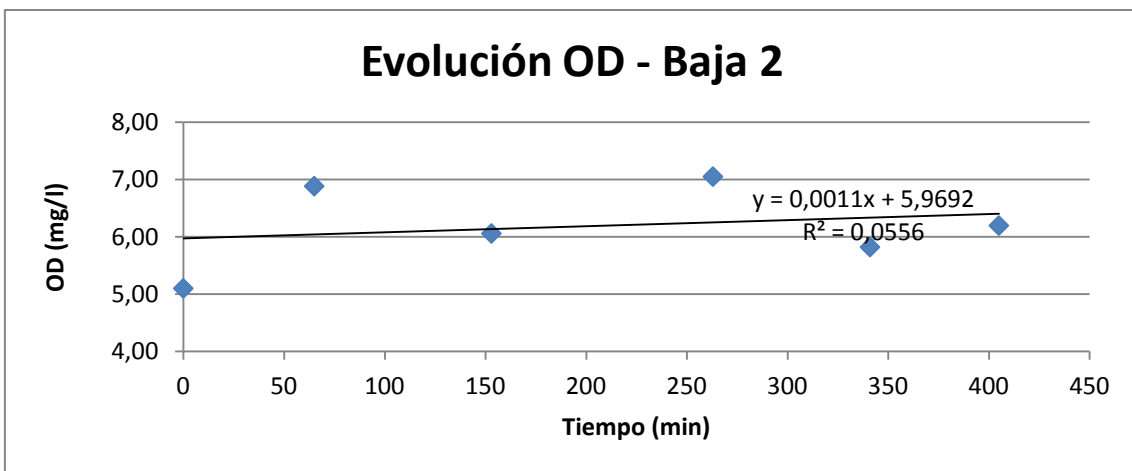
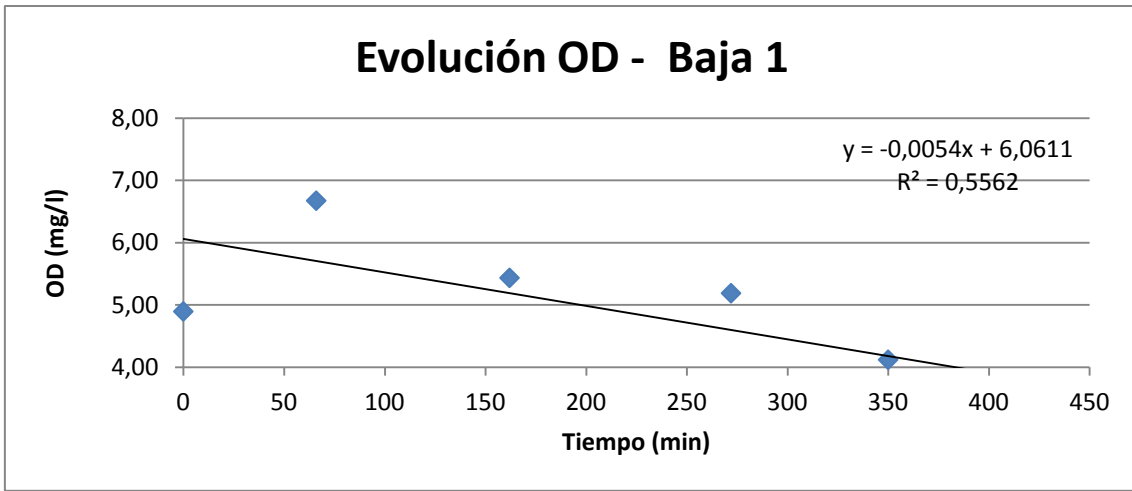


Figura 3.2 Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo del Oxígeno Disuelto en mg/l en las cámaras Bajas.

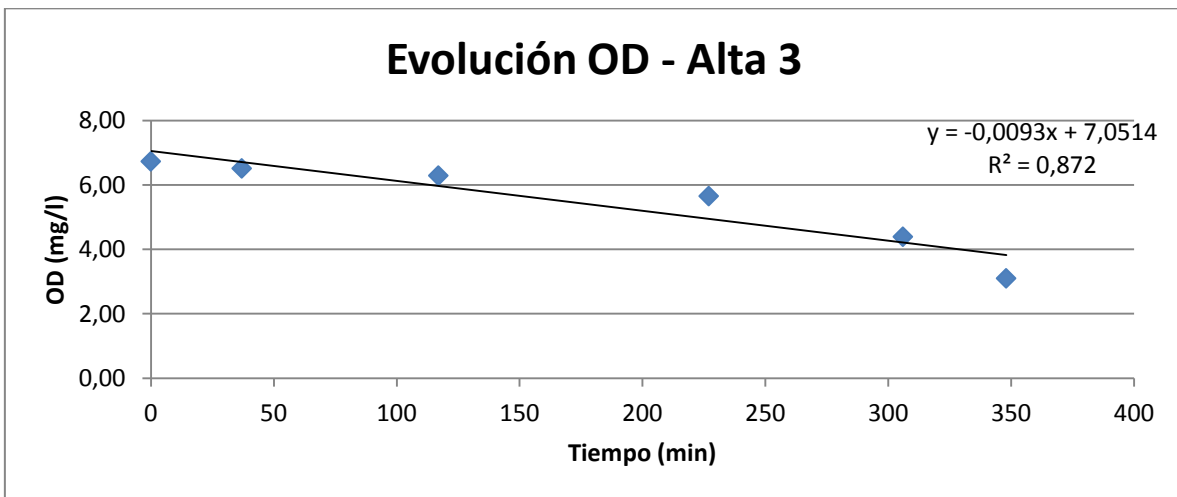
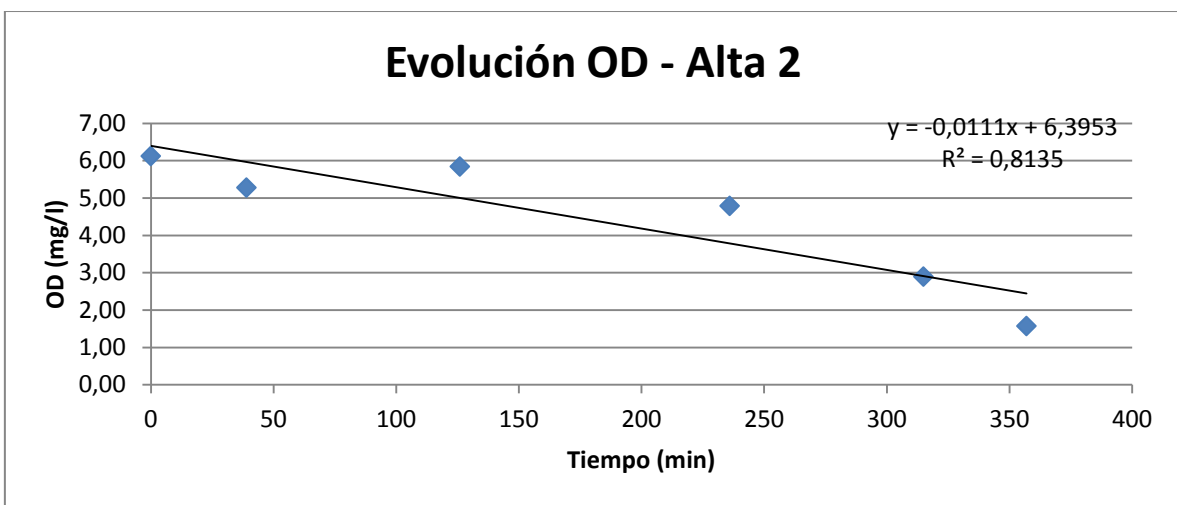
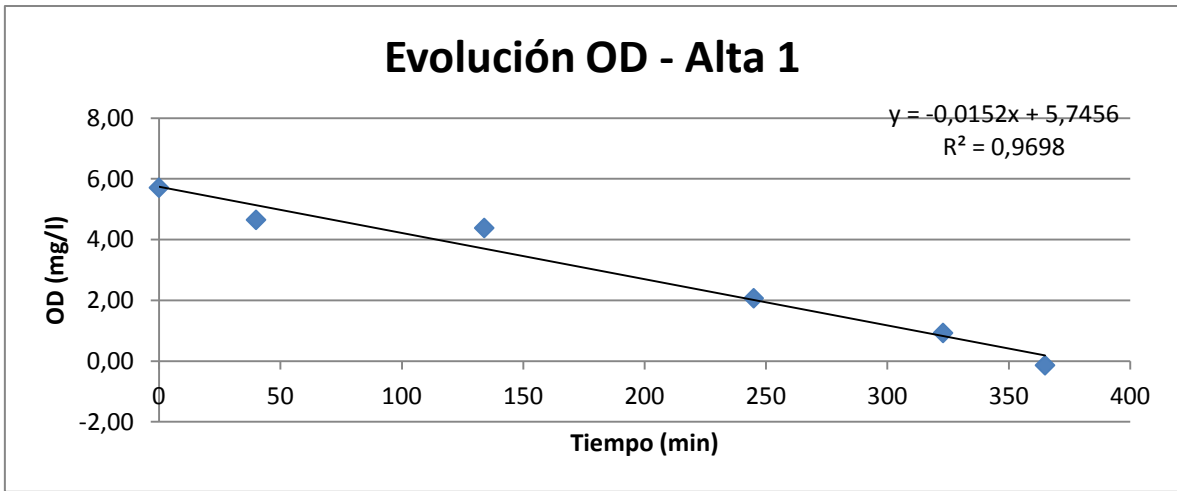


Figura 3.3: Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo del Oxígeno Disuelto en mg/l en las cámaras Altas.

A partir de las ecuaciones de las rectas obtenidas en las figuras 3.1, 3.2 y 3.3 se estima C_0 y C_t (en mg/l) que son las concentraciones del nutriente para el tiempo inicial y final de la incubación de cada cámara y se calcula el flujo de OD en $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ para cada cámara (Tabla 3.15) utilizando la Ecuación 4 descrita en el Apartado 2.5 y los datos de la Tabla 3.14.

CÁMARA	CONTROL 1	CONTROL 2	CONTROL 3	ALTA 1	ALTA 2	ALTA 3	BAJA 1	BAJA 2	BAJA 3
Área (m^2)	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Radio (m)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Volumen (l)	5,8	5,9	5,8	5,7	5,9	5,8	5,7	5,8	5,7

Tabla 3.14: Datos de cada cámara.

CÁMARA	CONTROL 1	CONTROL 2	CONTROL 3	ALTA 1	ALTA 2	ALTA 3	BAJA 1	BAJA 2	BAJA 3
Flujo ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$)	-5184,0	-2524,5	-5022,0	-131328,0	-93406,5	-77841,0	-44469,0	9157,5	-21060,0

Tabla 3.15: flujos de OD en $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ para cada cámara.

→ NITRATOS

A las concentraciones de nitratos obtenidas en las distintas tomas del ensayo (Tabla 3.5), es necesario realizar una corrección para eliminar el efecto de dilución que se produce al introducir agua para reemplazar el volumen extraído en cada toma. Para ello se utiliza la ecuación 3 desarrollada en material y métodos. En la Tabla 3.16 se observan dichos cálculos.

Cámara	Muestra	Intervalo tiempo (min)	Tiempo (min)	[N+N] (µM)	[N+N] (µmol)	[N+N] (µmol _l -µmol _l)	Volumen muestra (ml)	[N+N] ₀ (µM)	[N+N] ₀ (µmol)	[N+N] ₁ (µmol)	[N+N] ₁ (µmol)	[N+N] ₁ (µM)
CONTROL 1	0		0	2,662	16,056	-0,646	143	0,673	0,096	0,381	16,056	2,662
	1	104	104	2,555	15,410	-1,524	135	0,648	0,087	0,345	15,694	2,602
	2	84	188	2,302	13,885	-2,488	136	0,622	0,085	0,313	14,427	2,392
	3	110	298	1,889	11,397	5,886	135	0,597	0,081	0,255	12,167	2,017
	4	77	375	2,865	17,283	3,017	140	0,571	0,080	0,401	18,227	3,022
	5	172	547	3,365	20,300	-14,227	137	1,694	0,232	0,461	21,566	3,575
6	888	1435	1,007	6,072		138	1,694	0,234	0,139	7,567	1,255	
CONTROL 2	0		0	0,972	5,712	0,500	141	0,673	0,095	0,137	5,712	0,972
	1	94	94	1,057	6,212	8,341	135	0,648	0,087	0,143	6,254	1,065
	2	86	180	2,477	14,553	-8,065	137	0,622	0,085	0,339	14,651	2,494
	3	110	290	1,104	6,488	-1,277	135	0,597	0,081	0,149	6,839	1,164
	4	77	367	0,887	5,211	-0,518	133	0,571	0,076	0,118	5,631	0,958
	5	181	548	0,799	4,693	15,943	136	1,694	0,230	0,109	5,155	0,877
6	887	1435	3,513	20,636		135	1,694	0,229	0,474	20,976	3,571	
CONTROL 3	0		0	0,432	2,522	0,471	135	0,673	0,091	0,058	2,522	0,432
	1	85	85	0,512	2,993	0,871	136	0,648	0,088	0,070	2,960	0,507
	2	86	171	0,661	3,863	-1,441	135	0,622	0,084	0,089	3,812	0,652
	3	110	281	0,414	2,422	0,191	135	0,597	0,081	0,056	2,376	0,407
	4	77	358	0,447	2,613	1,430	137	0,571	0,078	0,061	2,542	0,435
	5	190	548	0,692	4,043	22,303	136	1,694	0,230	0,094	3,955	0,677
6	887	1435	4,509	26,346		137	1,694	0,232	0,618	26,122	4,470	
ALTA 1	0		0	0,213	1,204	0,583	136	0,673	0,092	0,029	1,204	0,213
	1	40	40	0,316	1,788	1,265	137	0,648	0,089	0,043	1,725	0,305
	2	94	134	0,540	3,052	-0,888	136	0,622	0,085	0,073	2,944	0,521
	3	111	245	0,383	2,164	1,776	136	0,597	0,081	0,052	2,044	0,362
	4	78	323	0,697	3,940	-2,915	134	0,571	0,077	0,093	3,791	0,670
5	42	365	0,181	1,025		138	1,694	0,234	0,025	0,893	0,158	
ALTA 2	0		0	0,328	1,926	0,752	133	0,673	0,090	0,044	1,926	0,328
	1	39	39	0,456	2,678	1,811	137	0,648	0,089	0,062	2,632	0,448
	2	87	126	0,764	4,489	-1,802	135	0,622	0,084	0,103	4,417	0,752
	3	110	236	0,457	2,687	-0,275	136	0,597	0,081	0,062	2,633	0,448
	4	79	315	0,410	2,412	0,590	136	0,571	0,078	0,056	2,339	0,398
5	42	357	0,511	3,001		136	1,694	0,230	0,069	2,907	0,495	
ALTA 3	0		0	0,511	2,987	0,953	134	0,673	0,090	0,069	2,987	0,511
	1	37	37	0,674	3,941	0,611	138	0,648	0,089	0,093	3,919	0,671
	2	80	117	0,779	4,551	1,600	136	0,622	0,085	0,106	4,533	0,776
	3	110	227	1,053	6,151	-2,934	135	0,597	0,081	0,142	6,154	1,053
	4	79	306	0,551	3,217	2,380	136	0,571	0,078	0,075	3,282	0,562
5	42	348	0,958	5,597		136	1,694	0,230	0,130	5,659	0,968	
BAJA 1	0		0	0,071	0,408	3,469	137	0,673	0,092	0,010	0,408	0,071
	1	66	66	0,674	3,877	0,601	136	0,648	0,088	0,092	3,795	0,660
	2	96	162	0,779	4,478	1,574	132	0,622	0,082	0,103	4,399	0,765
	3	110	272	1,053	6,052	-2,887	135	0,597	0,081	0,142	5,994	1,043
	4	78	350	0,551	3,165	2,342	136	0,571	0,078	0,075	3,168	0,551
5	65	415	0,958	5,507		139	1,694	0,235	0,133	5,507	0,958	
BAJA 2	0		0	0,517	3,004	1,282	139	0,673	0,094	0,072	3,004	0,517
	1	65	65	0,737	4,286	-0,698	133	0,648	0,086	0,098	4,264	0,734
	2	88	153	0,617	3,588	0,196	134	0,622	0,083	0,083	3,578	0,616
	3	110	263	0,651	3,785	0,121	133	0,597	0,079	0,087	3,774	0,649
	4	78	341	0,672	3,905	-2,133	134	0,571	0,077	0,090	3,902	0,671
5	64	405	0,305	1,772		136	1,694	0,230	0,041	1,782	0,307	
BAJA 3	0		0	0,360	2,036	3,617	135	0,673	0,091	0,049	2,036	0,360
	1	65	65	1,000	5,653	-1,195	137	0,648	0,089	0,137	5,611	0,992
	2	79	144	0,788	4,458	1,099	135	0,622	0,084	0,106	4,464	0,789
	3	110	254	0,983	5,557	0,146	137	0,597	0,082	0,135	5,585	0,988
	4	78	332	1,009	5,703	-0,529	133	0,571	0,076	0,134	5,784	1,023
5	63	395	0,915	5,174		138	1,694	0,234	0,126	5,313	0,940	

Tabla 3.16: Datos necesarios para el cálculo del flujo de Nitratos en cada Cámara

A partir de los datos de la Tabla 3.16 se obtienen las Gráficas en las que se muestra la evolución de los nitratos en µM a lo largo del día del ensayo 5 para cada cámara (Figuras 3.4, 3.5 y 3.6):

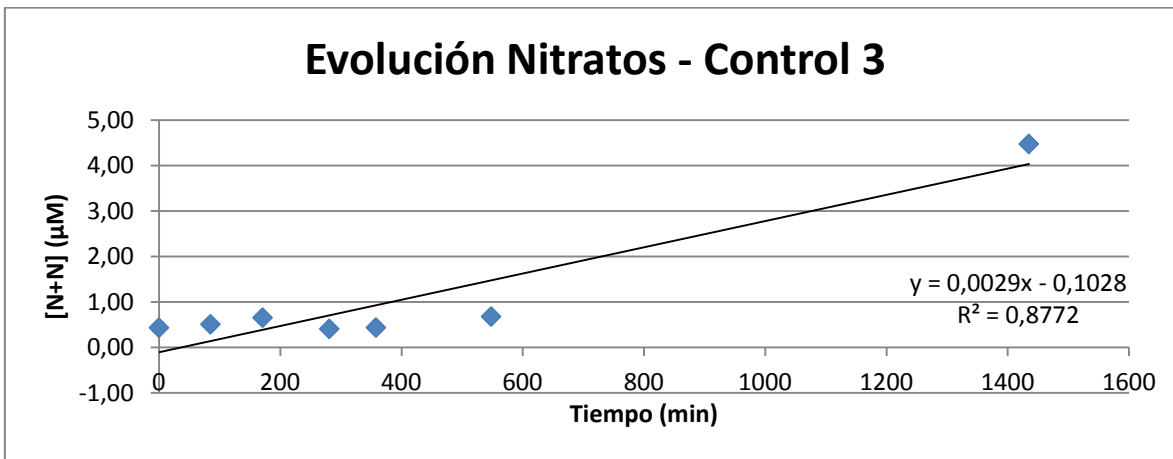
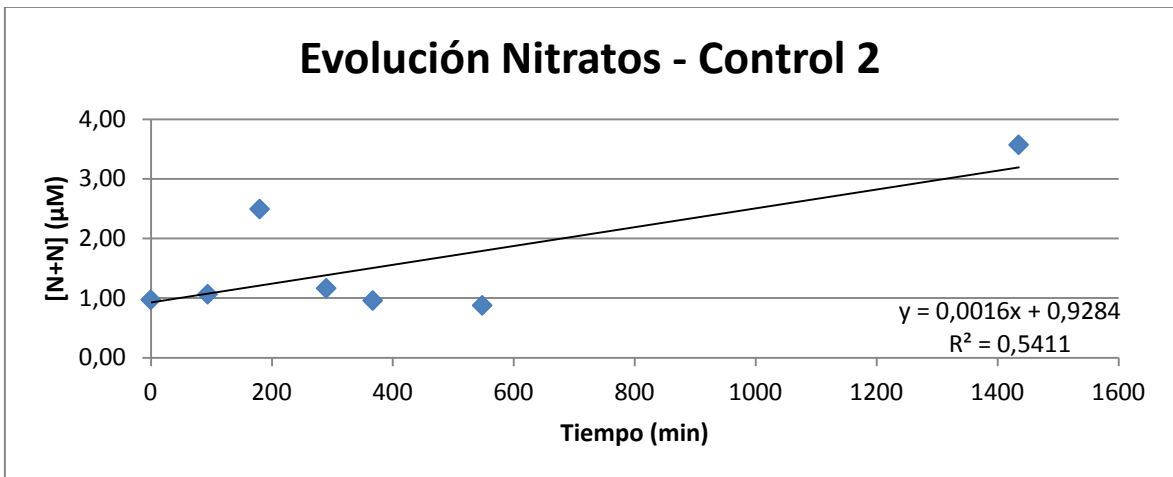
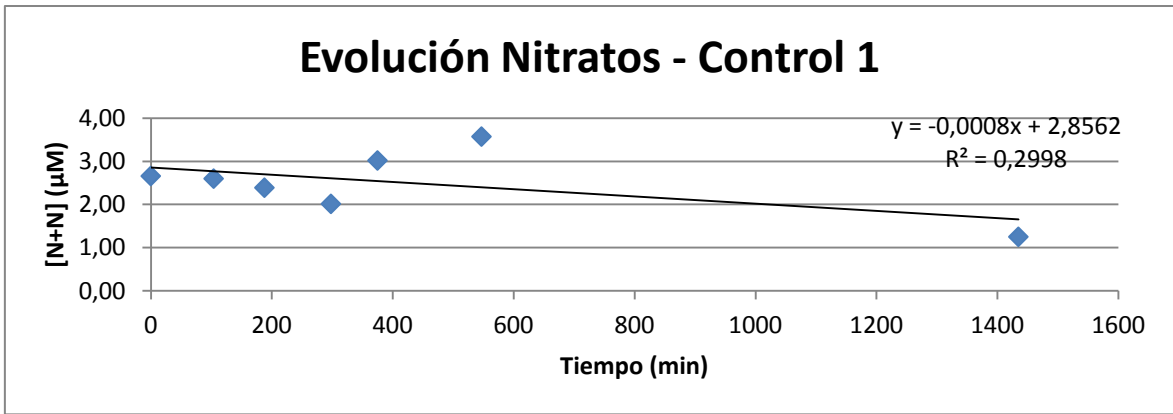


Figura 3.4: Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo de los nitratos en μM en las cámaras Control.

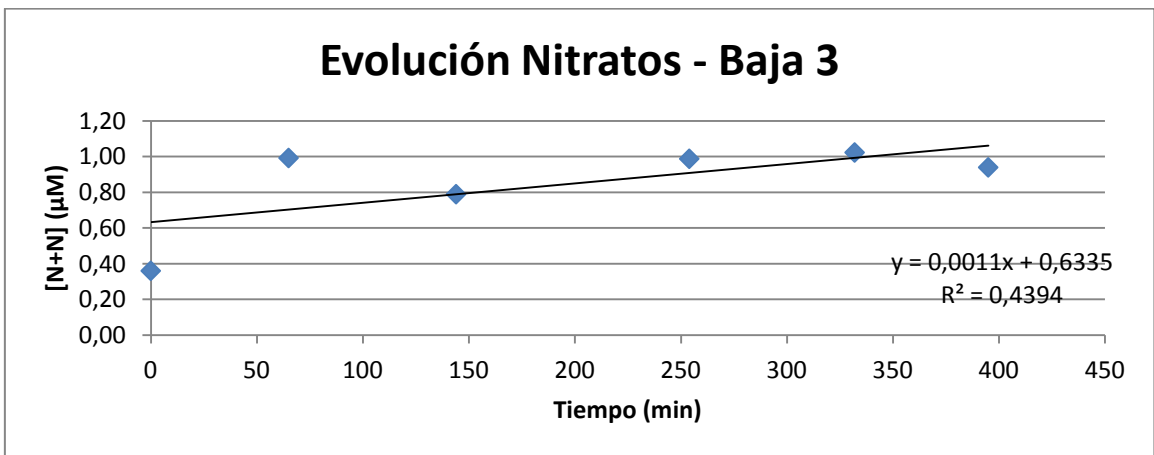
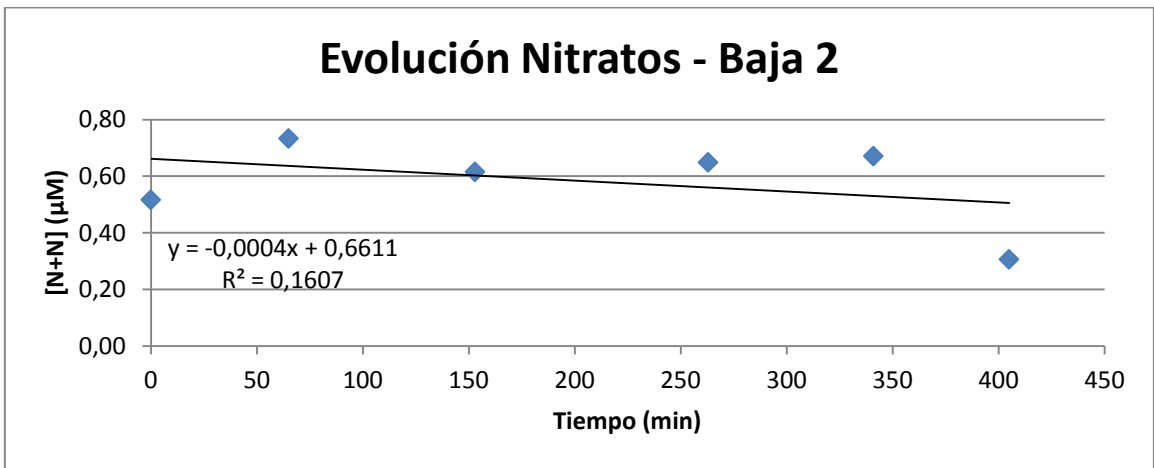
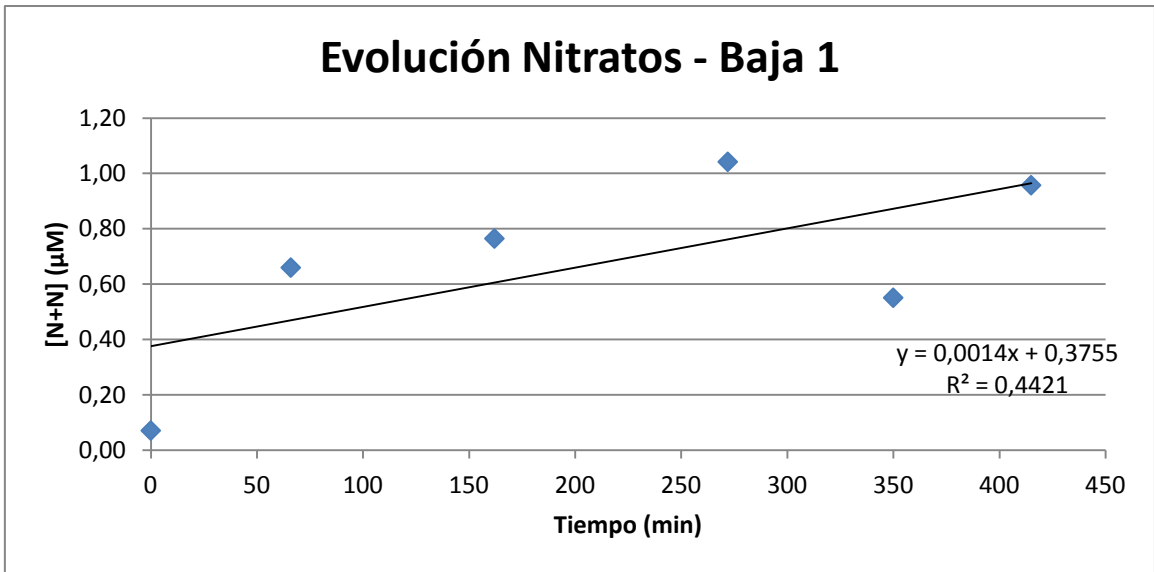


Figura 3.5 Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo de los nitratos en µM en las cámaras Bajas.

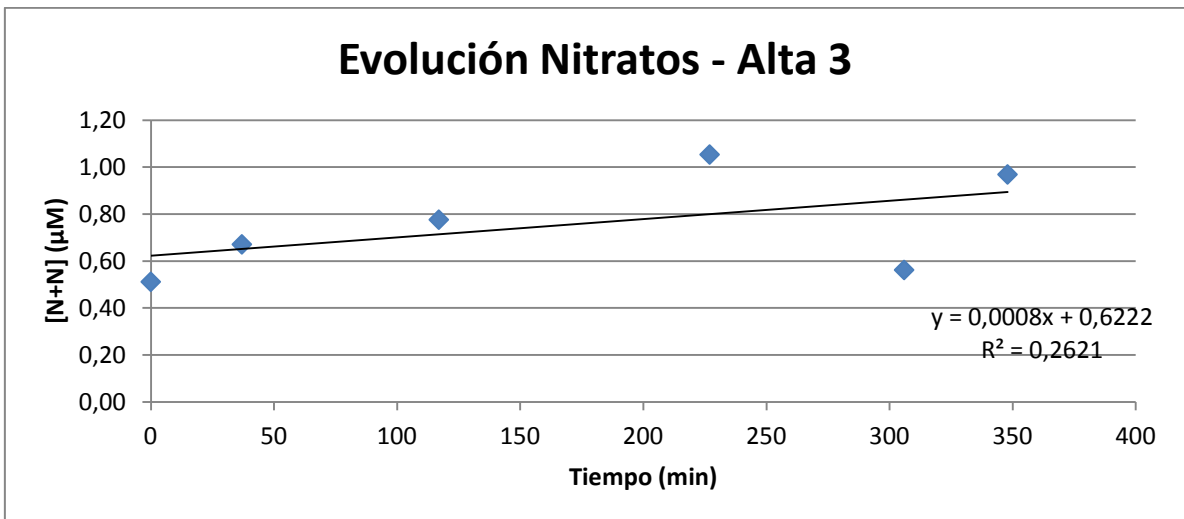
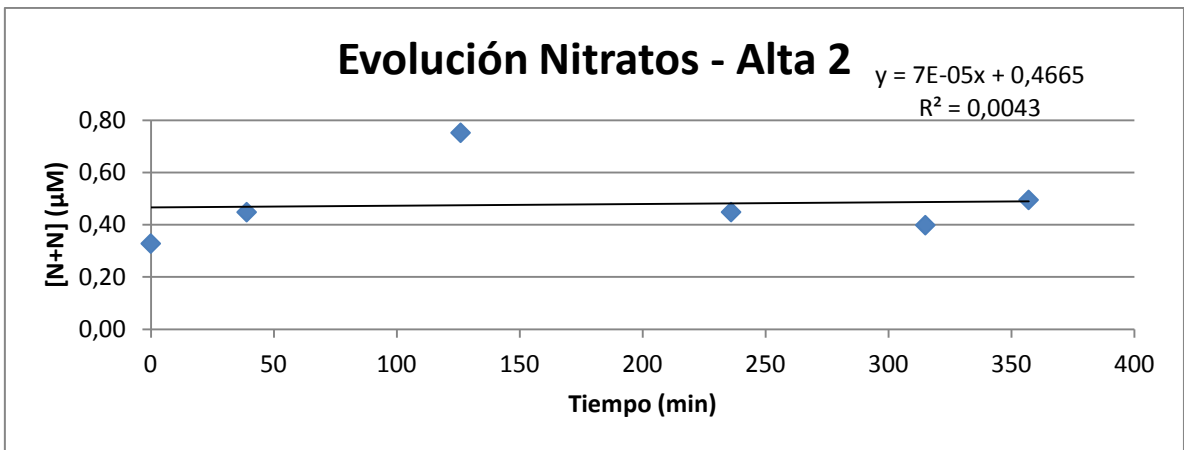
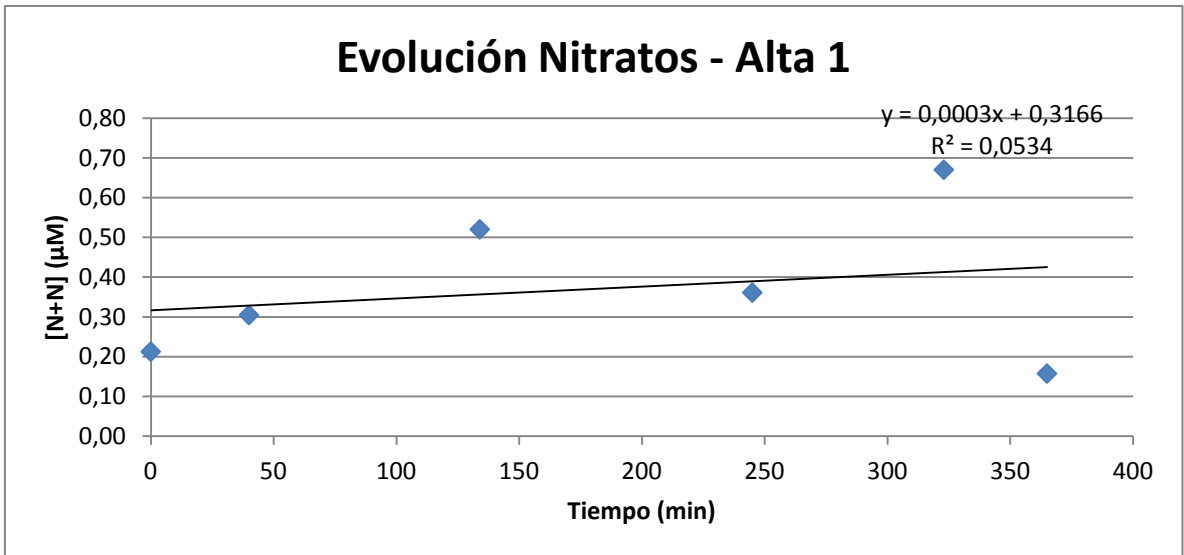


Figura 3.6: Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo de los nitratos en µM en las cámaras Altas.

A partir de las ecuaciones de las rectas obtenidas en las figuras 3.4, 3.5 y 3.6 se estima C_0 y C_t (en μM) que son las concentraciones del nutriente para el tiempo inicial y final de la incubación de cada cámara y se calcula el flujo de Nitratos en $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ para cada cámara (Tabla 3.17) utilizando la Ecuación 4 descrita en el Apartado 2.5 y los datos de la Tabla 3.14.

CÁMARA	CONTROL 1	CONTROL 2	CONTROL 3	ALTA 1	ALTA 2	ALTA 3	BAJA 1	BAJA 2	BAJA 3
Flujo ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$)	-221,18	430,85	776,74	77,76	18,85	214,27	368,93	-106,56	285,12

Tabla 3.17: flujos de nitratos en $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ para cada cámara.

➔ AMONIO

A las concentraciones de amonio obtenidas en las distintas tomas del ensayo (Tabla 3.7), es necesario realizar una corrección para eliminar el efecto de dilución que se produce al introducir agua para reemplazar el volumen extraído en cada toma. Para ello se utiliza la ecuación 3 desarrollada en material y métodos. En la Tabla 3.18 se observan dichos cálculos.

Cámara	Muestra	Intervalo tiempo (min)	Tiempo (min)	$[\text{NH}_4^+]$ (μM)	$[\text{NH}_4^+]$ (μmol)	$[\text{NH}_4^+]$ ($\mu\text{mol} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$)	Volumen muestra (ml)	$[\text{NH}_4^+]$ (μM)	$[\text{NH}_4^+]$ (μmol)	$[\text{NH}_4^+]$ (μmol)	$[\text{NH}_4^+]$ (μmol)	$[\text{NH}_4^+]$ (μM)
CONTROL 1	0		0	13,60	82,04	-19,25	143	2,53	0,36	1,94	82,04	13,60
	1	104	104	10,41	62,79	-5,04	135	3,05	0,41	1,41	64,37	10,67
	2	84	188	9,57	57,75	2,97	136	3,58	0,49	1,30	60,33	10,00
	3	110	298	10,07	60,73	8,92	135	4,10	0,55	1,36	64,12	10,63
	4	77	375	11,55	69,65	21,09	140	4,63	0,65	1,62	73,84	12,24
	5	172	547	15,04	90,73	0,00	137	4,42	0,61	2,06	95,90	15,90
6	888	1435	15,04	90,73		138	4,40	0,61	2,08	97,35	16,14	
CONTROL 2	0		0	6,65	39,08	12,16	141	2,53	0,36	0,94	39,08	6,65
	1	94	94	8,72	51,24	15,96	135	3,05	0,41	1,18	51,83	8,82
	2	86	180	11,44	67,21	-26,49	137	3,58	0,49	1,57	68,55	11,67
	3	110	290	6,93	40,71	18,96	135	4,10	0,55	0,94	43,14	7,34
	4	77	367	10,16	59,67	25,80	133	4,63	0,62	1,35	62,48	10,63
	5	181	548	14,55	85,47	6,26	136	4,42	0,60	1,98	89,01	15,15
6	887	1435	15,61	91,73		135	4,40	0,59	2,11	96,65	16,45	
CONTROL 3	0		0	10,17	59,43	16,94	135	2,53	0,34	1,37	59,43	10,17
	1	85	85	13,07	76,37	-26,19	136	3,05	0,42	1,78	77,41	13,25
	2	86	171	8,59	50,19	4,74	135	3,58	0,48	1,16	52,58	9,00
	3	110	281	9,40	54,93	-3,96	135	4,10	0,55	1,27	58,00	9,93
	4	77	358	8,72	50,97	30,12	137	4,63	0,63	1,20	54,76	9,37
	5	190	548	13,88	81,09	36,98	136	4,42	0,60	1,89	85,43	14,62
6	887	1435	20,21	118,07		137	4,40	0,60	2,77	123,70	21,17	
ALTA 1	0		0	160,07	905,15	24,18	136	2,53	0,34	21,77	905,15	160,07
	1	40	40	164,34	929,33	180,43	137	3,05	0,42	22,51	950,76	168,13
	2	94	134	196,25	1109,77	-48,36	136	3,58	0,49	26,69	1153,29	203,95
	3	111	245	187,70	1061,40	100,45	136	4,10	0,56	25,53	1131,13	200,03
	4	78	323	205,46	1161,85	-65,91	134	4,63	0,62	27,53	1256,55	222,21
	5	42	365	193,80	1095,94		138	4,42	0,61	26,75	1217,54	215,31
ALTA 2	0		0	163,68	961,61	-150,73	133	2,53	0,34	21,77	961,61	163,68
	1	39	39	138,03	810,87	455,26	137	3,05	0,42	18,91	832,31	141,67
	2	87	126	215,52	1266,13	-455,26	135	3,58	0,48	29,10	1306,06	222,32
	3	110	236	138,03	810,87	21,26	136	4,10	0,56	18,77	879,41	149,69
	4	79	315	141,64	832,13	-3,86	136	4,63	0,63	19,26	918,88	156,41
	5	42	357	140,99	828,27		136	4,42	0,60	19,17	933,65	158,93
ALTA 3	0		0	140,33	819,99	-19,22	134	2,53	0,34	18,80	819,99	140,33
	1	37	37	137,04	800,77	467,08	138	3,05	0,42	18,91	819,24	140,20
	2	80	117	216,97	1267,86	-282,56	136	3,58	0,49	29,51	1304,81	223,30
	3	110	227	168,62	985,30	-53,96	135	4,10	0,55	22,76	1051,28	179,91
	4	79	306	159,38	931,34	-207,45	136	4,63	0,63	21,68	1019,52	174,48
	5	42	348	123,88	723,88		136	4,42	0,60	16,85	833,12	142,58
BAJA 1	0		0	204,30	1174,54	-147,87	137	2,53	0,35	27,99	1174,54	204,30
	1	66	66	178,58	1026,68	-280,43	136	3,05	0,42	24,29	1054,32	183,39
	2	96	162	129,80	746,25	469,01	132	3,58	0,47	17,13	797,76	138,76
	3	110	272	211,38	1215,26	-484,14	135	4,10	0,55	28,54	1283,43	223,24
	4	78	350	127,17	731,12	-35,93	136	4,63	0,63	17,30	827,28	143,90
	5	65	415	120,92	695,19		139	4,42	0,61	16,81	808,01	140,55
BAJA 2	0		0	114,34	664,55	-80,30	139	2,53	0,35	15,89	664,55	114,34
	1	65	65	100,53	584,25	28,68	133	3,05	0,41	13,37	599,80	103,20
	2	88	153	105,46	612,93	-51,62	134	3,58	0,48	14,13	641,44	110,37
	3	110	263	96,58	561,31	-103,24	133	4,10	0,55	12,85	603,47	103,83
	4	78	341	78,82	458,07	-38,24	134	4,63	0,62	10,56	512,53	88,19
	5	64	405	72,24	419,84		136	4,42	0,60	9,82	484,23	83,32
BAJA 3	0		0	103,16	583,34	16,74	135	2,53	0,34	13,93	583,34	103,16
	1	65	65	106,12	600,09	-195,32	137	3,05	0,42	14,54	613,67	108,52
	2	79	144	71,58	404,77	29,76	135	3,58	0,48	9,66	432,47	76,48
	3	110	254	76,84	434,53	-111,61	137	4,10	0,56	10,53	471,42	83,36
	4	78	332	57,11	322,92	70,69	133	4,63	0,62	7,60	369,77	65,39
	5	63	395	69,61	393,61		138	4,42	0,61	9,61	447,44	79,12

Tabla 3.18: Datos necesarios para el cálculo del flujo de amonio en cada Cámara

A partir de los datos de la Tabla 3.18 se obtienen las Gráficas en las que se muestra la evolución del amonio en μM a lo largo del día del ensayo 5 para cada cámara (Figuras 3.7, 3.8 y 3.9):

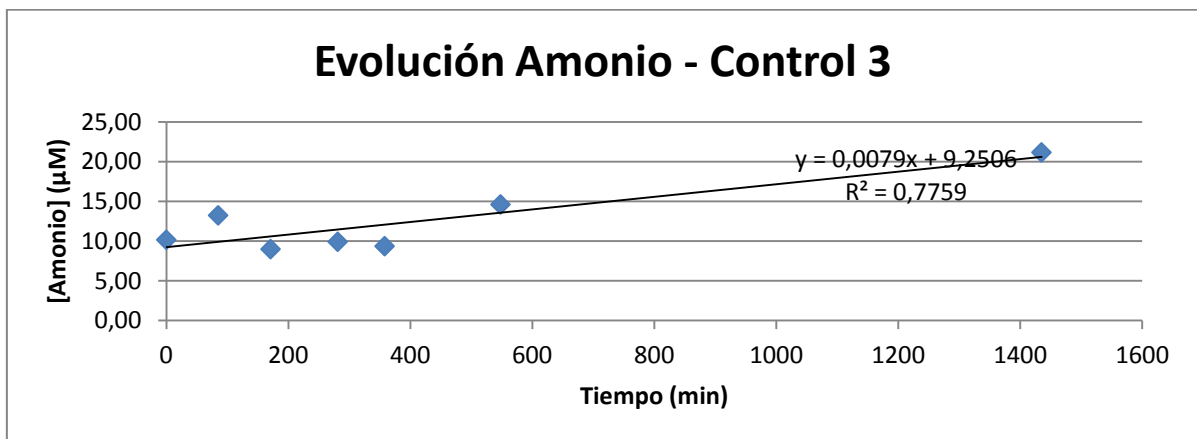
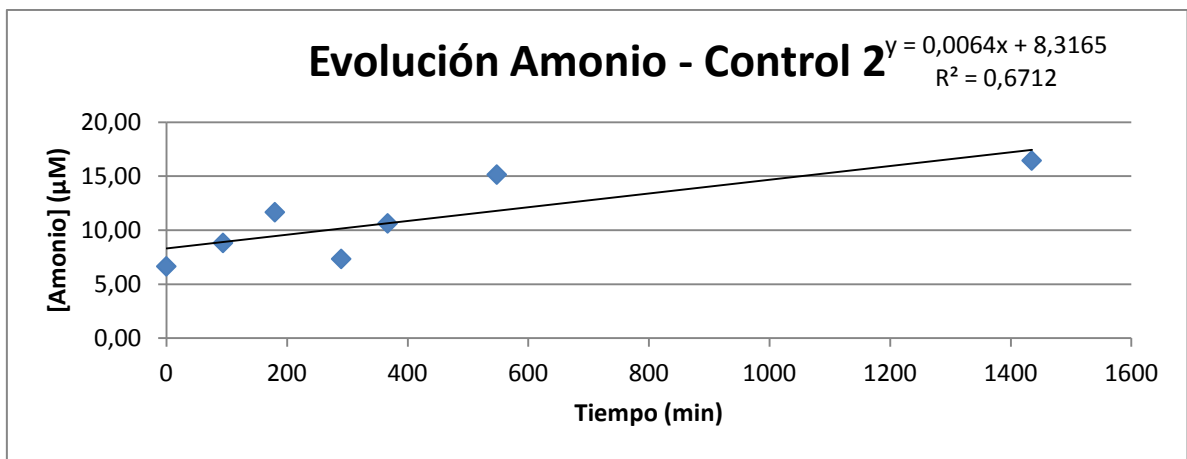
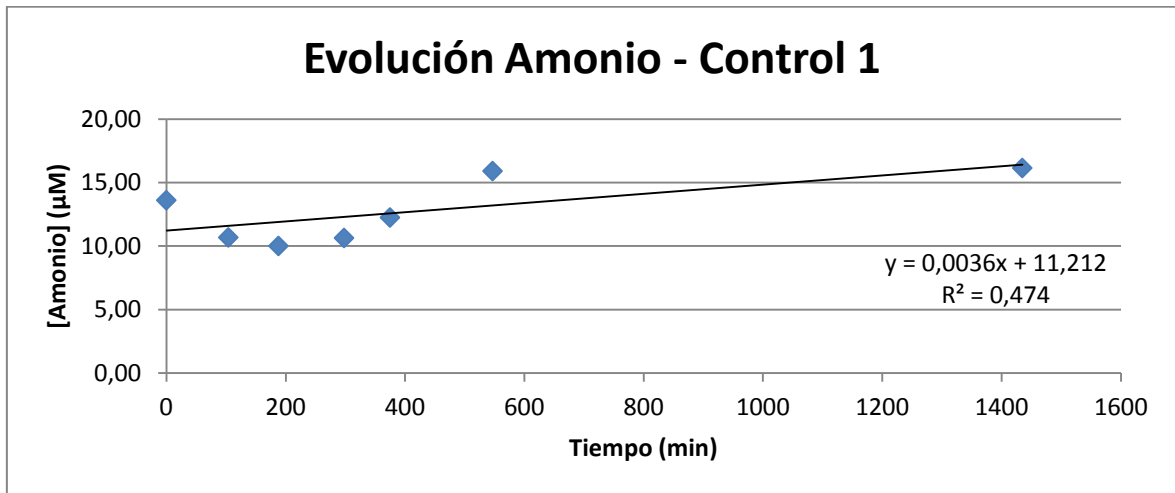


Figura 3.7: Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo del amonio en μM en las cámaras Control.

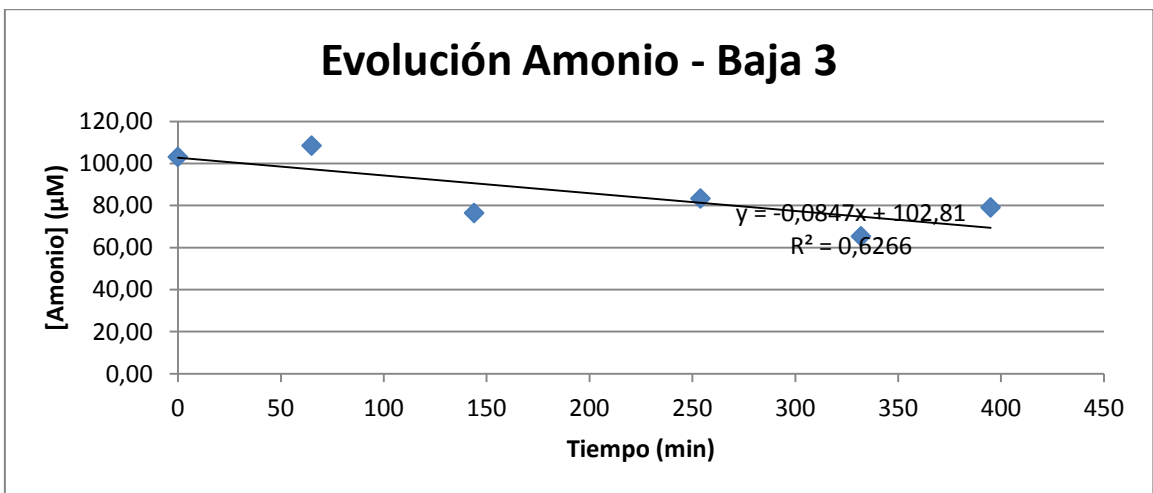
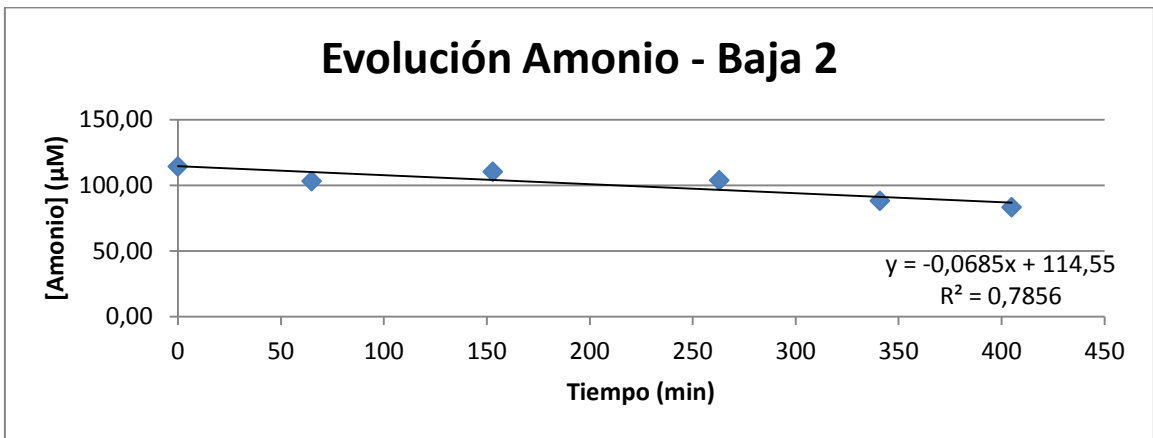
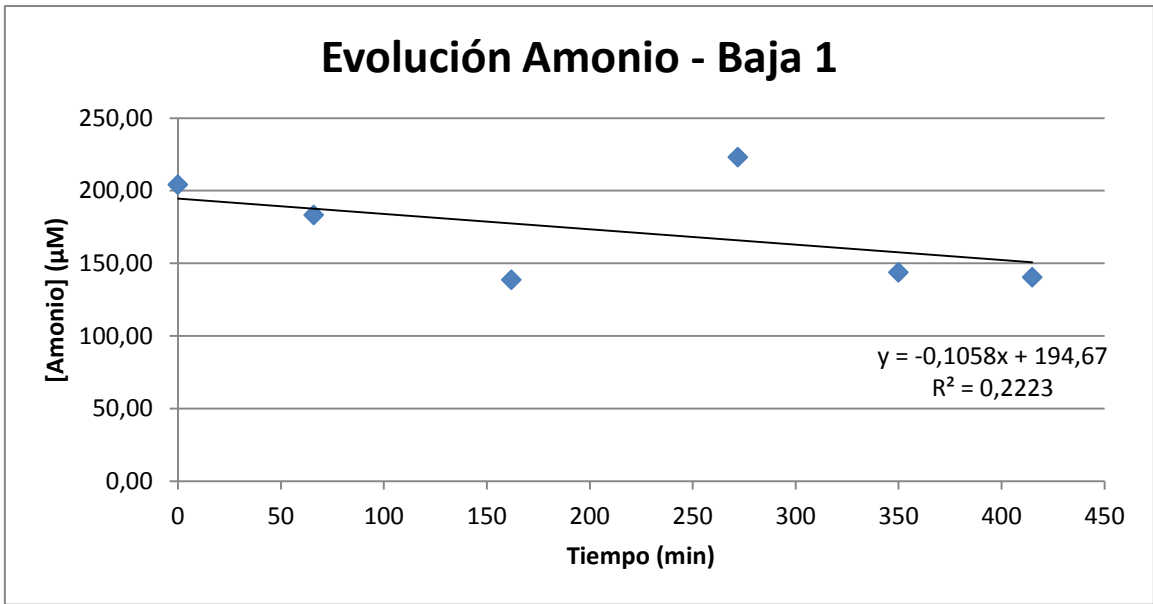


Figura 3.8. Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo del amonio en µM en las cámaras Bajas.

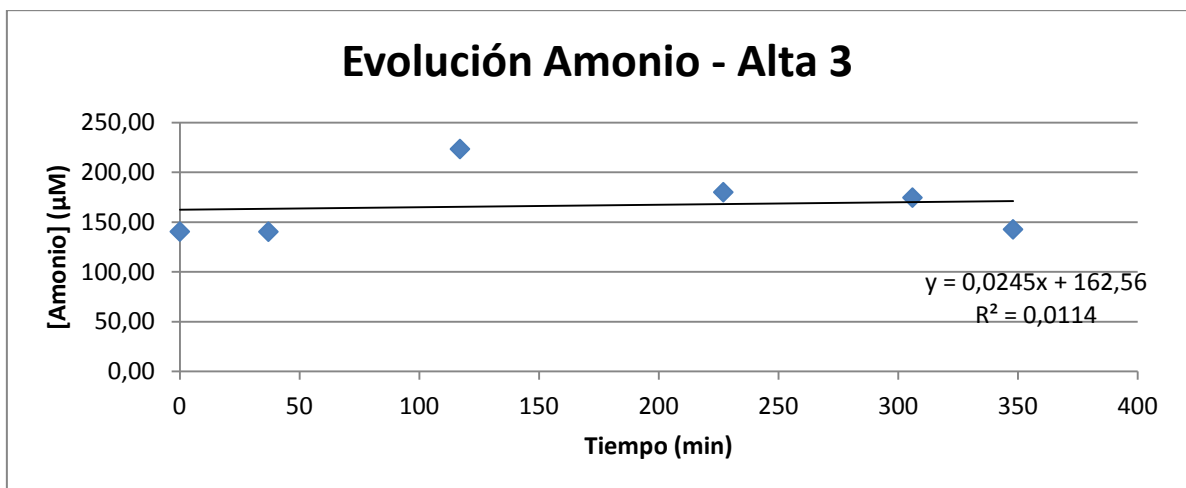
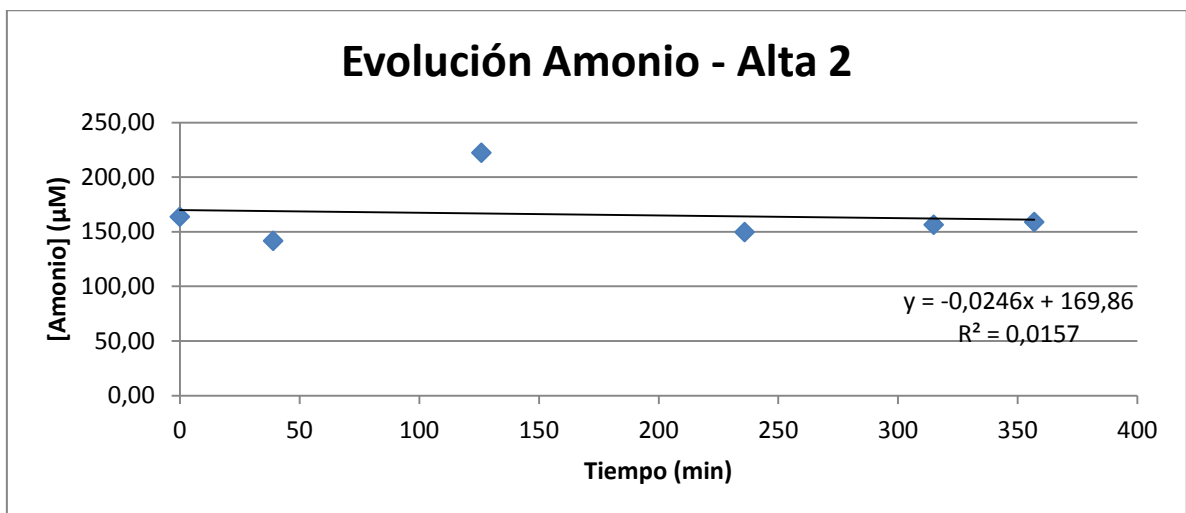
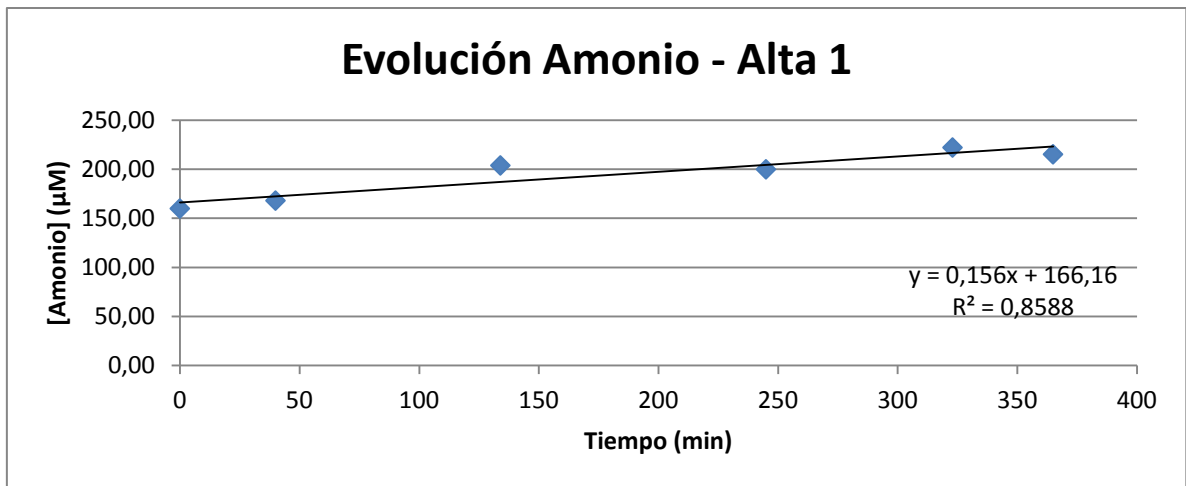


Figura 3.9: Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo del amonio en µM en las cámaras Altas.

A partir de las ecuaciones de las rectas obtenidas en las figuras 3.7, 3.8 y 3.9 se estima C_0 y C_t (en µM) que son las concentraciones del nutriente para el tiempo inicial y final de la incubación de cada cámara y se

calcula el flujo de Amonio en $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ para cada cámara (Tabla 3.19) utilizando la Ecuación 4 descrita en el Apartado 2.5 y los datos de la Tabla 3.14.

CÁMARA	CONTROL 1	CONTROL 2	CONTROL 3	ALTA 1	ALTA 2	ALTA 3	BAJA 1	BAJA 2	BAJA 3
Flujo ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$)	995,33	1723,39	2115,94	40435,20	-6624,29	6562,08	-27880,42	-18248,40	-21954,24

Tabla 3.19: Flujos de amonio en $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ para cada cámara.

➔ **FÓSFORO REACTIVO SOLUBLE (PSR)**

A las concentraciones de PSR obtenidas en las distintas tomas del ensayo (Tabla 3.9), es necesario realizar una corrección para eliminar el efecto de dilución que se produce al introducir agua para reemplazar el volumen extraído en cada toma. Para ello se utiliza la ecuación 3 desarrollada en material y métodos. En la Tabla 3.20 se observan dichos cálculos.

Cámara	Muestra	Intervalo tiempo (min)	Tiempo (min)	[PSR] (μM)	[PSR] (μmol)	[PSR] ($\mu\text{mol}_i - \mu\text{mol}_{i-1}$)	Volumen muestra (ml)	[PSR] _i (μM)	[PSR] _i (μmol)	[PSR] _i (μmol)	[PSR] _i (μmol)	[PSR] (μmol)	[PSR] (μM)
CONTROL 1	0		0	0,053	0,318	-0,203	143	0,123	0,018	0,008	0,318	0,053	
	1	104	104	0,019	0,115	0,097	135	0,193	0,026	0,003	0,105	0,017	
	2	84	188	0,035	0,212	0,059	136	0,264	0,036	0,005	0,178	0,030	
	3	110	298	0,045	0,270	-0,294	135	0,335	0,045	0,006	0,206	0,034	
	4	77	375	-0,004	-0,024	0,118	140	0,405	0,057	-0,001	-0,127	-0,021	
	5	172	547	0,016	0,094	0,000	137	0,094	0,013	0,002	-0,067	-0,011	
6	888	1435	0,016	0,094		138	0,000	0,000	0,002	-0,078	-0,013		
CONTROL 2	0		0	0,075	0,442	-0,330	141	0,123	0,017	0,011	0,442	0,075	
	1	94	94	0,019	0,112	-0,078	135	0,193	0,026	0,003	0,105	0,018	
	2	86	180	0,006	0,034	0,115	137	0,264	0,036	0,001	0,004	0,001	
	3	110	290	0,025	0,149	-0,115	135	0,335	0,045	0,003	0,083	0,014	
	4	77	367	0,006	0,034	0,172	133	0,405	0,054	0,001	-0,073	-0,012	
	5	181	548	0,035	0,206	0,115	136	0,094	0,013	0,005	0,046	0,008	
6	887	1435	0,055	0,321		135	0,000	0,000	0,007	0,152	0,026		
CONTROL 3	0		0	0,030	0,177	0,000	135	0,123	0,017	0,004	0,177	0,030	
	1	85	85	0,030	0,177	0,370	136	0,193	0,026	0,004	0,165	0,028	
	2	86	171	0,094	0,547	-0,570	135	0,264	0,036	0,013	0,512	0,088	
	3	110	281	-0,004	-0,023	0,057	135	0,335	0,045	-0,001	-0,080	-0,014	
	4	77	358	0,006	0,034	0,171	137	0,405	0,056	0,001	-0,069	-0,012	
	5	190	548	0,035	0,205	0,285	136	0,094	0,013	0,005	0,047	0,008	
6	887	1435	0,084	0,490		137	0,000	0,000	0,011	0,324	0,055		
ALTA 1	0		0	0,075	0,425	-0,127	136	0,123	0,017	0,010	0,425	0,075	
	1	40	40	0,053	0,298	0,176	137	0,193	0,027	0,007	0,292	0,052	
	2	94	134	0,084	0,474	0,496	136	0,264	0,036	0,011	0,448	0,079	
	3	111	245	0,172	0,970	-0,496	136	0,335	0,046	0,023	0,920	0,163	
	4	78	323	0,084	0,474	0,441	134	0,405	0,054	0,011	0,402	0,071	
5	42	365	0,162	0,915		138	0,094	0,013	0,022	0,799	0,141		
ALTA 2	0		0	0,019	0,112	0,330	133	0,123	0,016	0,003	0,112	0,019	
	1	39	39	0,075	0,442	-0,064	137	0,193	0,027	0,010	0,428	0,073	
	2	87	126	0,064	0,378	0,115	135	0,264	0,036	0,009	0,348	0,059	
	3	110	236	0,084	0,492	-0,286	136	0,335	0,046	0,011	0,435	0,074	
	4	79	315	0,035	0,206	0,057	136	0,405	0,055	0,005	0,115	0,020	
5	42	357	0,045	0,263		136	0,094	0,013	0,006	0,122	0,021		
ALTA 3	0		0	0,098	0,571	-0,393	134	0,123	0,016	0,013	0,571	0,098	
	1	37	37	0,030	0,177	0,825	138	0,193	0,027	0,004	0,174	0,030	
	2	80	117	0,172	1,002	-0,570	136	0,264	0,036	0,023	0,976	0,167	
	3	110	227	0,074	0,433	-0,171	135	0,335	0,045	0,010	0,394	0,067	
	4	79	306	0,045	0,262	0,057	136	0,405	0,055	0,006	0,188	0,032	
5	42	348	0,055	0,319		136	0,094	0,013	0,007	0,196	0,034		
BAJA 1	0		0	0,098	0,561	-0,387	137	0,123	0,017	0,013	0,561	0,098	
	1	66	66	0,030	0,174	0,252	136	0,193	0,026	0,004	0,171	0,030	
	2	96	162	0,074	0,426	0,224	132	0,264	0,035	0,010	0,400	0,070	
	3	110	272	0,113	0,650	-0,504	135	0,335	0,045	0,015	0,599	0,104	
	4	78	350	0,025	0,146	0,056	136	0,405	0,055	0,003	0,065	0,011	
5	65	415	0,035	0,202		139	0,094	0,013	0,005	0,069	0,012		
BAJA 2	0		0	0,019	0,111	-0,065	139	0,123	0,017	0,003	0,111	0,019	
	1	65	65	0,008	0,046	0,385	133	0,193	0,026	0,001	0,031	0,005	
	2	88	153	0,074	0,431	-0,283	134	0,264	0,035	0,010	0,391	0,067	
	3	110	263	0,025	0,147	0,057	133	0,335	0,045	0,003	0,083	0,014	
	4	78	341	0,035	0,204	0,453	134	0,405	0,054	0,005	0,098	0,017	
5	64	405	0,113	0,657		136	0,094	0,013	0,015	0,502	0,086		
BAJA 3	0		0	0,165	0,933	-0,825	135	0,123	0,017	0,022	0,933	0,165	
	1	65	65	0,019	0,108	0,146	137	0,193	0,027	0,003	0,114	0,020	
	2	79	144	0,045	0,254	0,717	135	0,264	0,036	0,006	0,235	0,042	
	3	110	254	0,172	0,970	-0,551	137	0,335	0,046	0,024	0,922	0,163	
	4	78	332	0,074	0,419	-0,110	133	0,405	0,054	0,010	0,349	0,062	
5	63	395	0,055	0,309		138	0,094	0,013	0,008	0,194	0,034		

Tabla 3.20: Datos necesarios para el cálculo del flujo de PSR en cada Cámara

A partir de los datos de la Tabla 3.20 se obtienen las Gráficas en las que se muestra la evolución del PSR en μM a lo largo del día del ensayo 5 para cada cámara (Figuras 3.10, 3.11 y 3.12):

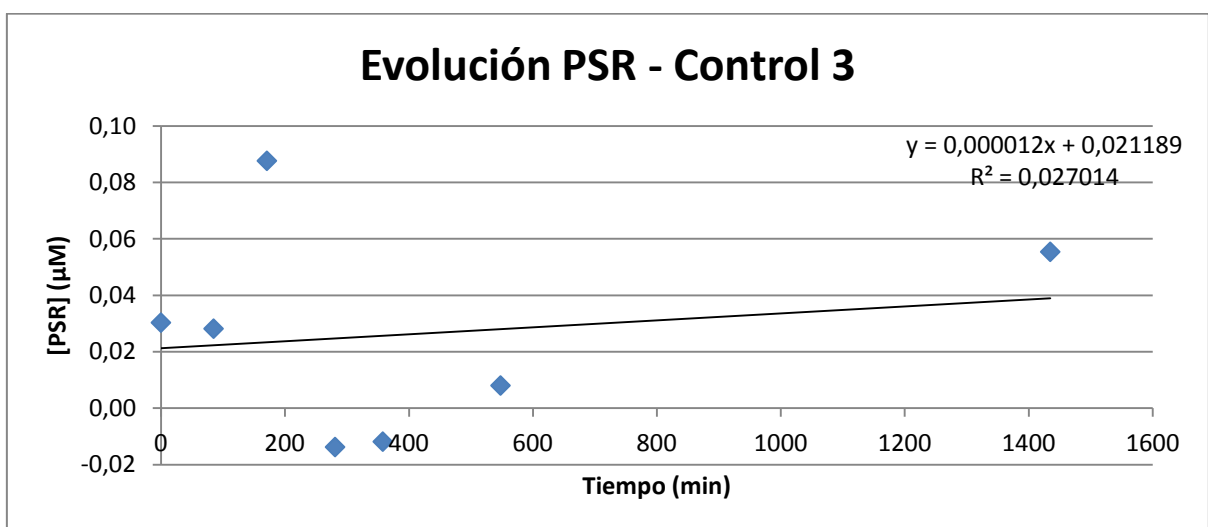
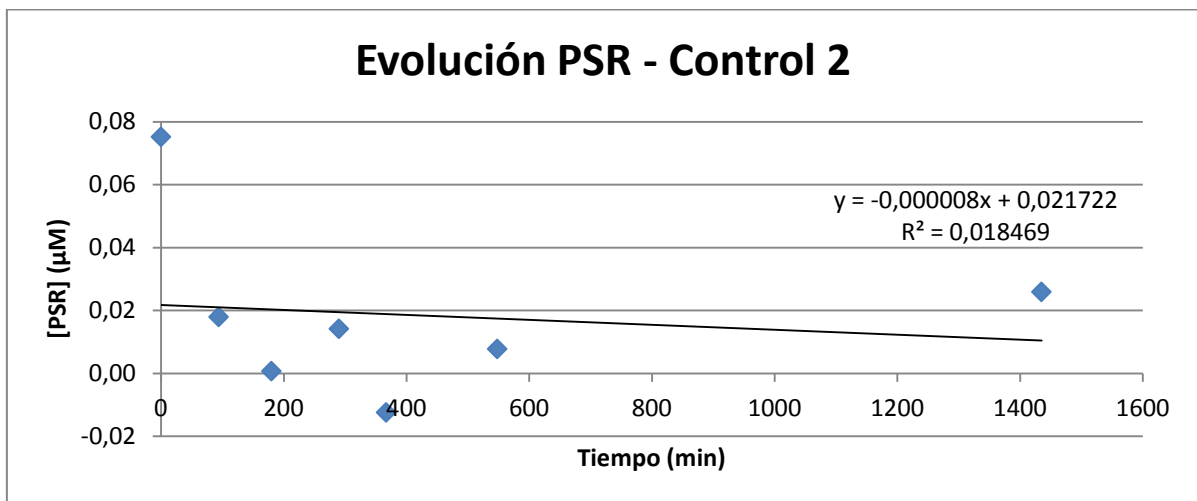
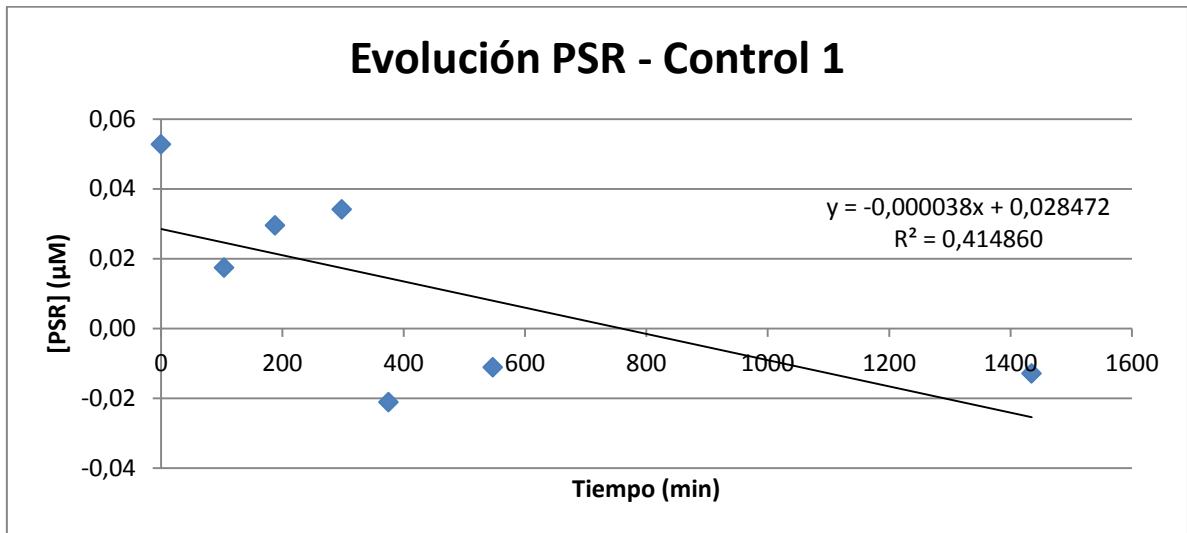


Figura 3.10: Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo del PSR en μM en las cámaras Control.

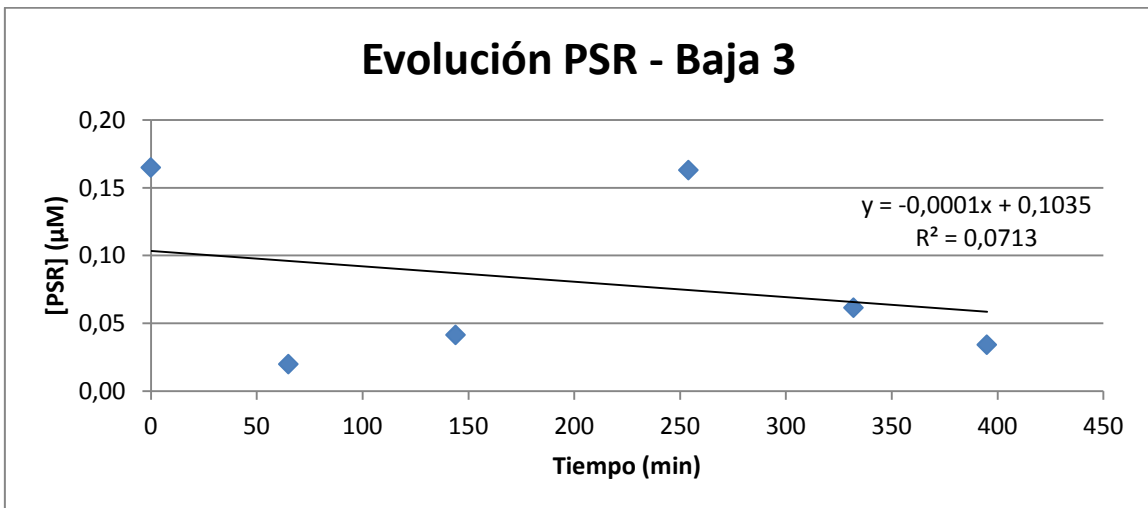
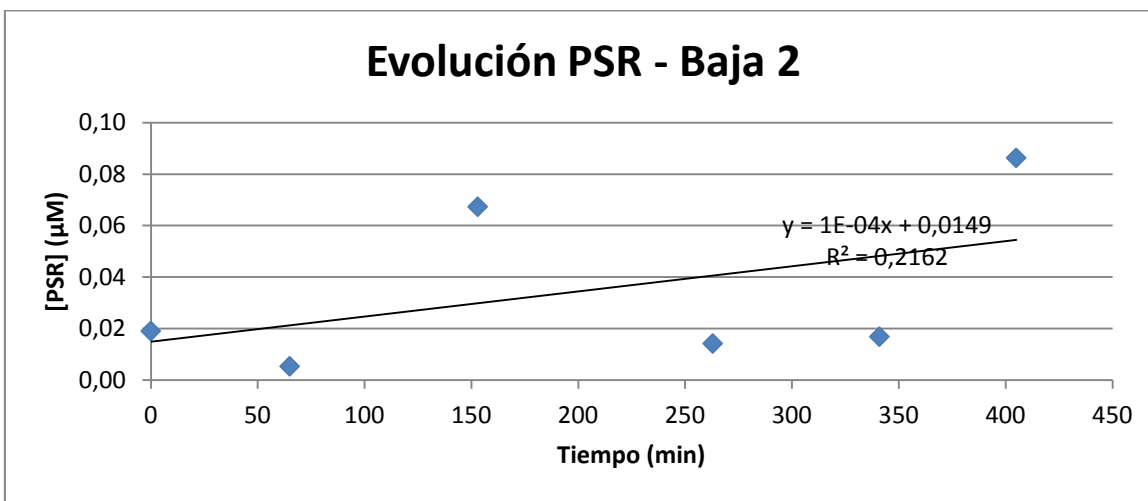
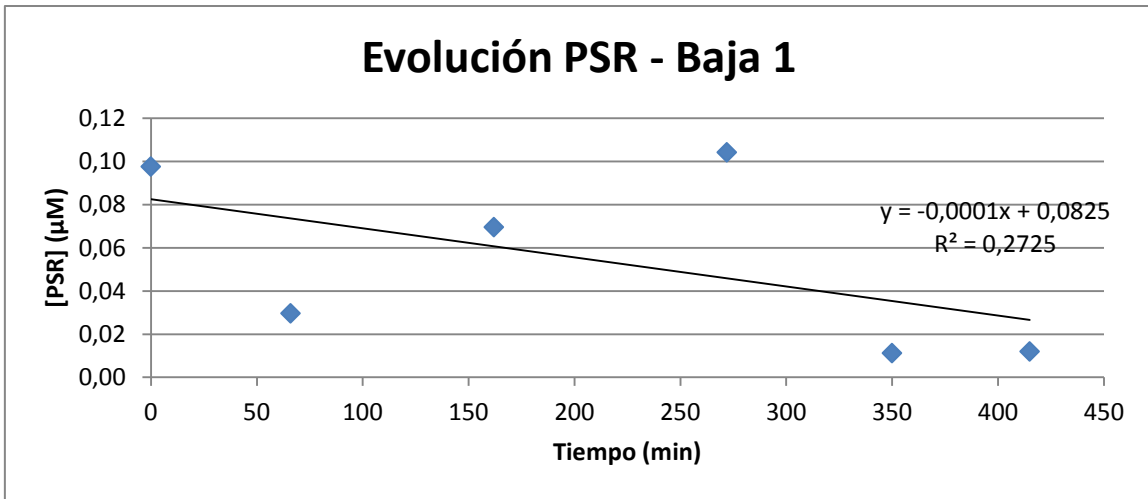


Figura 3.11. Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo del PSR en µM en las cámaras Bajas.

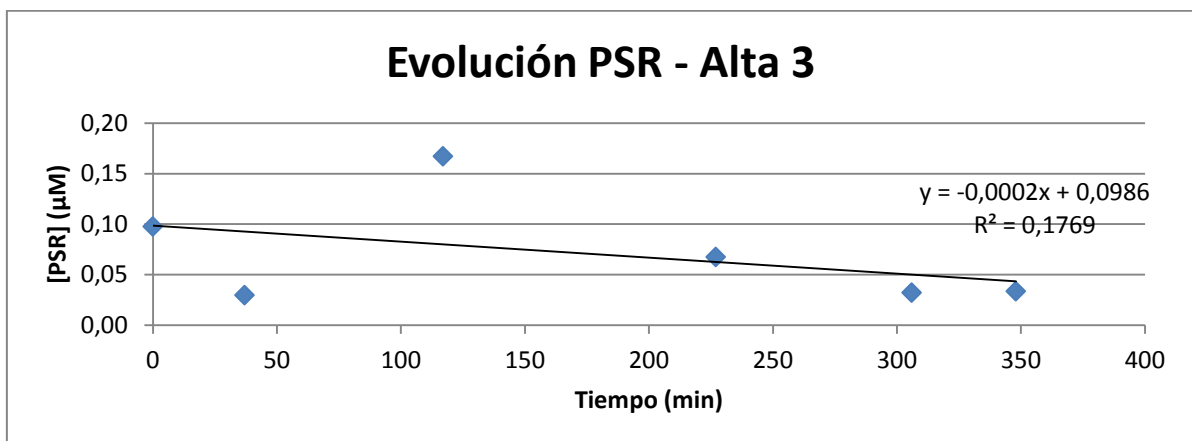
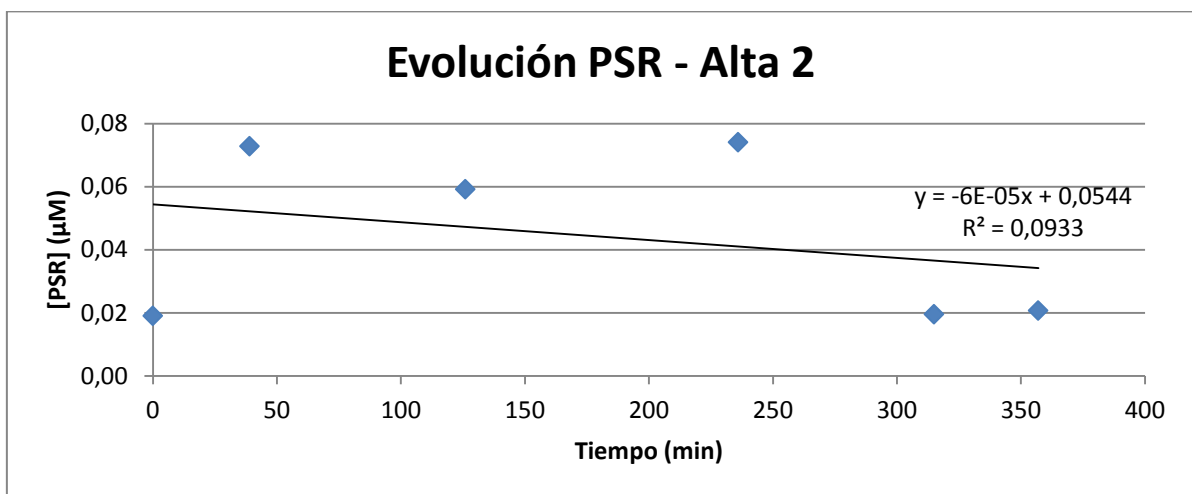
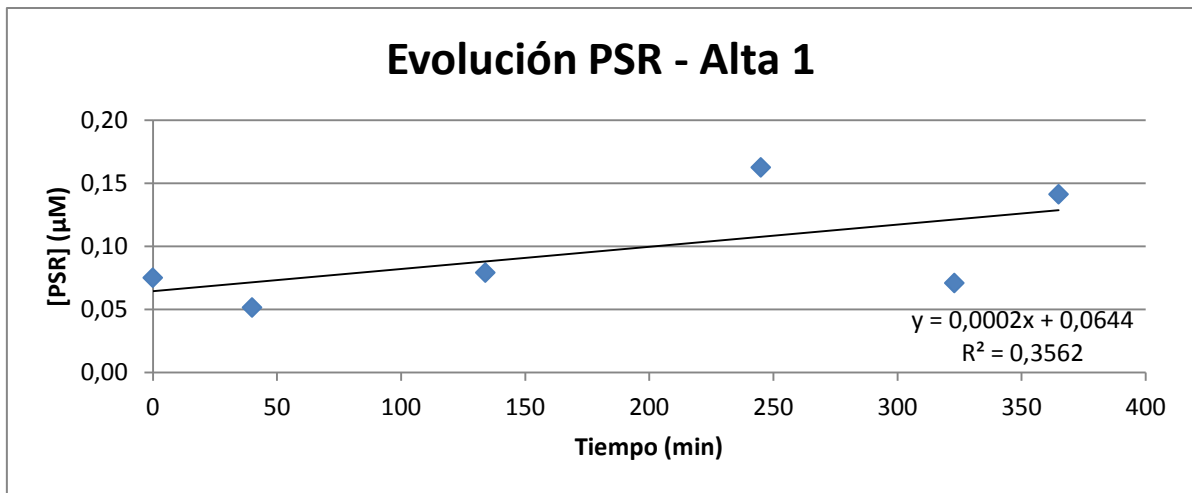


Figura 3.12: Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo del PSR en µM en las cámaras Altas.

A partir de las ecuaciones de las rectas obtenidas en las figuras 3.10, 3.11 y 3.12 se estima C_0 y C_t (en µM) que son las concentraciones del nutriente para el tiempo inicial y final de la incubación de cada cámara y se calcula el flujo del PSR en $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ para cada cámara (Tabla 3.21) utilizando la Ecuación 4 descrita en el Apartado 2.5 y los datos de la Tabla 3.14.

CÁMARA	CONTROL 1	CONTROL 2	CONTROL 3	ALTA 1	ALTA 2	ALTA 3	BAJA 1	BAJA 2	BAJA 3
Flujo ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{día}^{-1}$)	995,33	1723,39	2115,94	40435,20	-6624,29	6562,08	-27880,42	-18248,40	-21954,24

Tabla 3.21: Flujos de PSR en $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ para cada cámara.

→ **SÍLICE**

A las concentraciones de sílice obtenidas en las distintas tomas del ensayo (Tabla 3.11), es necesario realizar una corrección para eliminar el efecto de dilución que se produce al introducir agua para reemplazar el volumen extraído en cada toma. Para ello se utiliza la ecuación 3 desarrollada en material y métodos. En la Tabla 3.22 se observan dichos cálculos.

Cámara	Muestra	Tiempo (min)	[Si] (μM)	[Si] (μmol)	[Si] ($\mu\text{mol}_i - \mu\text{mol}_{i-1}$)	Volumen muestra (ml)	[Si] _i (μmol)	[Si] _i (μmol)	[Si] (μmol)	[Si] (μM)
CONTROL 1	0	0	1,54	5,85	3,40	143	0,92	0,21	5,85	1,54
	1	100	2,44	9,25	16,20	135	0,92	0,33	8,55	2,25
	2	210	6,70	25,46	-18,00	136	0,92	0,90	24,16	6,36
	3	312	1,96	7,46	9,18	135	0,92	0,27	6,15	1,62
	4	410	4,38	16,64	-10,27	140	0,92	0,59	14,68	3,86
	5	510	1,68	6,38		137	0,92	0,23	4,09	1,08
CONTROL 2	0	0	2,06	7,83	3,46	141	1,08	0,28	7,83	2,06
	1	100	2,97	11,29	-0,12	135	1,08	0,40	10,50	2,76
	2	210	2,94	11,17	0,71	137	1,08	0,40	9,70	2,55
	3	312	3,13	11,88	-3,00	135	1,08	0,42	9,73	2,56
	4	410	2,34	8,88	-3,03	133	1,08	0,32	6,08	1,60
	5	510	1,54	5,85		136	1,08	0,21	2,29	0,60
CONTROL 3	0	0	1,62	6,16	7,02	135	1,08	0,22	6,16	1,62
	1	100	3,47	13,18	-1,79	136	1,08	0,47	12,32	3,24
	2	210	3,00	11,39	-1,47	135	1,08	0,40	9,92	2,61
	3	312	2,61	9,92	-1,37	135	1,08	0,35	7,78	2,05
	4	410	2,25	8,54	0,25	137	1,08	0,30	5,69	1,50
	5	510	2,31	8,79	-8,79	136	1,08	0,31	5,16	1,36
ALTA 1	0	0	2,59	9,84	57,82	136	1,08	0,35	9,84	2,59
	1	100	17,81	67,66	-42,91	137	1,08	2,40	66,93	17,61
	2	210	6,51	24,74	13,70	136	1,08	0,88	25,35	6,67
	3	312	10,12	38,44	-25,38	136	1,08	1,37	38,85	10,22
	4	410	3,44	13,06	22,79	134	1,08	0,46	13,75	3,62
	5	510	9,43	35,84		138	1,08	1,27	35,93	9,46
ALTA 2	0	0	2,45	9,32	17,19	133	1,08	0,33	9,32	2,45
	1	100	6,98	26,51	-11,84	137	1,08	0,94	25,76	6,78
	2	210	3,86	14,67	-1,27	135	1,08	0,52	13,79	3,63
	3	312	3,53	13,40	0,68	136	1,08	0,48	11,97	3,15
	4	410	3,70	14,08	-4,58	136	1,08	0,50	12,05	3,17
	5	510	2,50	9,50		136	1,08	0,34	6,90	1,81
ALTA 3	0	0	2,59	9,84	-3,68	134	1,08	0,35	9,84	2,59
	1	100	1,62	6,16	1,17	138	1,08	0,22	5,44	1,43
	2	210	1,93	7,34	4,24	136	1,08	0,26	5,76	1,51
	3	312	3,05	11,57	-0,22	135	1,08	0,41	9,18	2,41
	4	410	2,99	11,36	0,99	136	1,08	0,40	8,30	2,18
	5	510	3,25	12,35		136	1,08	0,44	8,61	2,27
BAJA 1	0	0	3,05	11,60	0,15	137	1,08	0,41	11,60	3,05
	1	100	3,09	11,76	-0,43	136	1,08	0,42	11,10	2,92
	2	210	2,98	11,33	1,27	132	1,08	0,40	10,01	2,63
	3	312	3,31	12,59	-2,47	135	1,08	0,45	10,60	2,79
	4	410	2,66	10,12	2,88	136	1,08	0,36	7,50	1,97
	5	510	3,42	13,00		139	1,08	0,46	9,66	2,54
BAJA 2	0	0	2,22	8,45	-0,12	139	1,08	0,30	8,45	2,22
	1	100	2,19	8,33	4,27	133	1,08	0,30	7,55	1,99
	2	210	3,31	12,59	3,68	134	1,08	0,45	11,04	2,91
	3	312	4,28	16,27	0,96	133	1,08	0,58	14,09	3,71
	4	410	4,53	17,23	-9,74	134	1,08	0,61	14,55	3,83
	5	510	1,97	7,49		136	1,08	0,27	4,35	1,14
BAJA 3	0	0	3,53	13,43	-2,07	135	0,43	0,48	13,43	3,53
	1	100	2,99	11,36	-2,04	137	0,43	0,40	11,40	3,00
	2	210	2,45	9,32	-0,83	135	0,43	0,33	9,33	2,46
	3	312	2,23	8,48	6,40	137	0,43	0,30	8,39	2,21
	4	410	3,92	14,88	-5,01	133	0,43	0,53	14,66	3,86
	5	510	2,60	9,87		138	0,43	0,35	9,75	2,57

Tabla 3.22: Datos necesarios para el cálculo del flujo del silicio en cada Cámara

A partir de los datos de la Tabla 3.22 se obtienen las Gráficas en las que se muestra la evolución del Sílice en μM a lo largo del día del ensayo 5 para cada cámara (Figuras 3.13, 3.14 y 3.15):

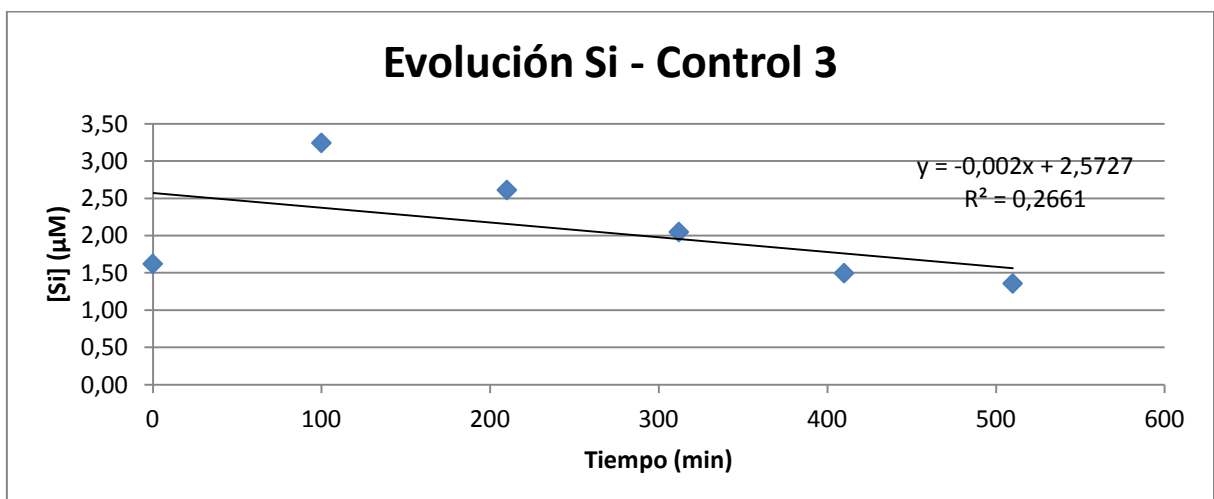
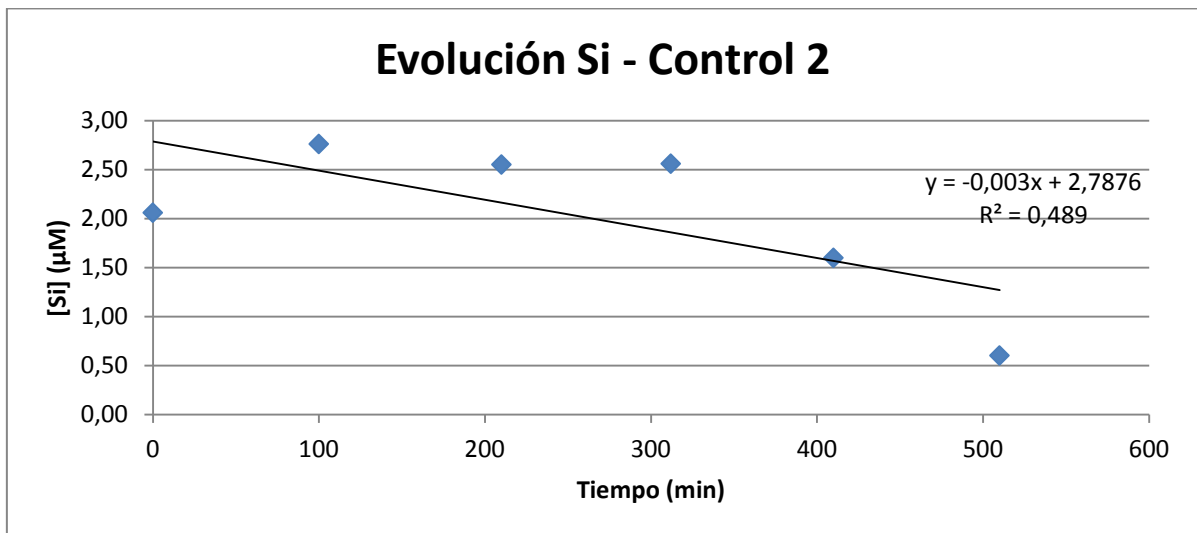
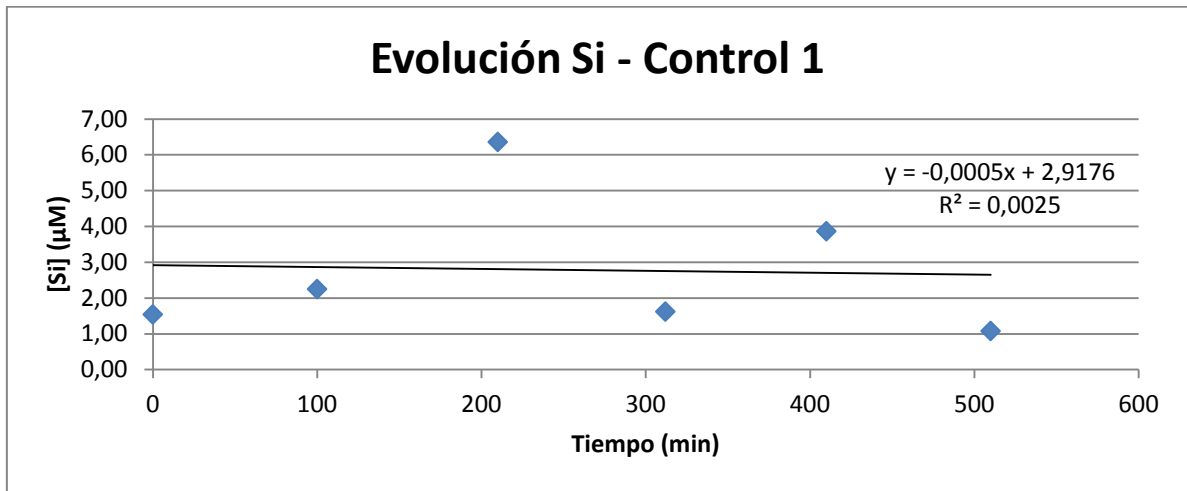


Figura 3.13: Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo del sílice en μM en las cámaras Control.

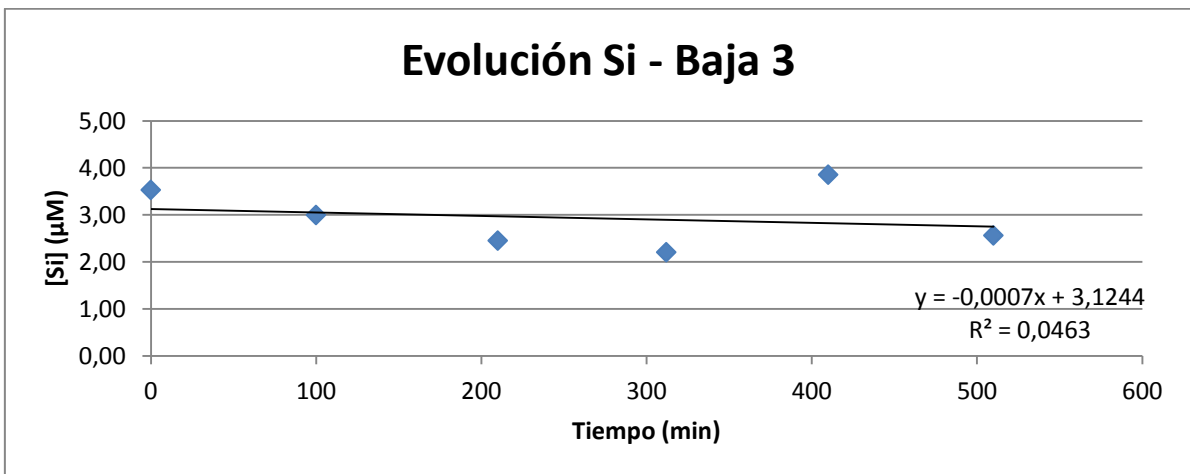
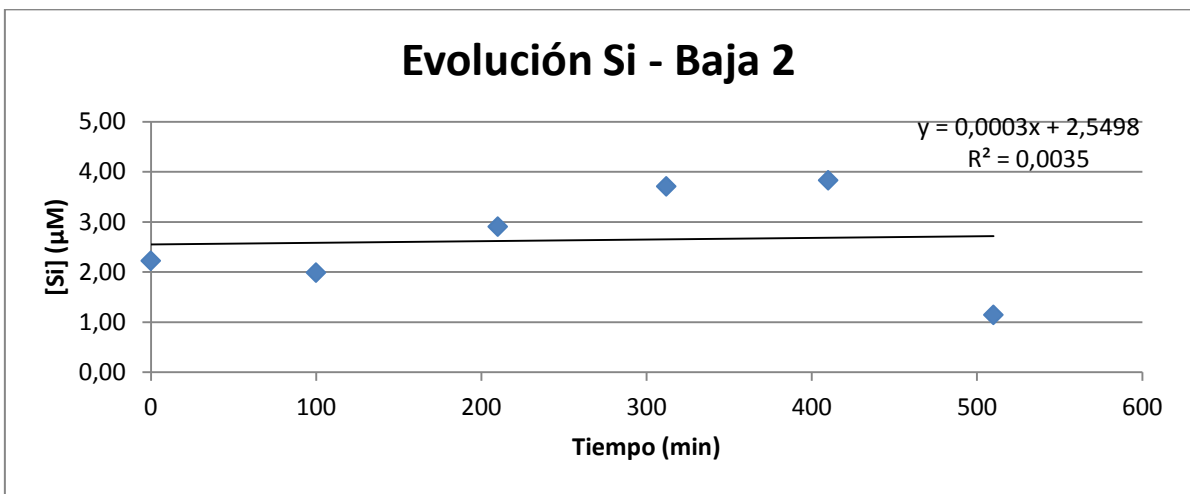
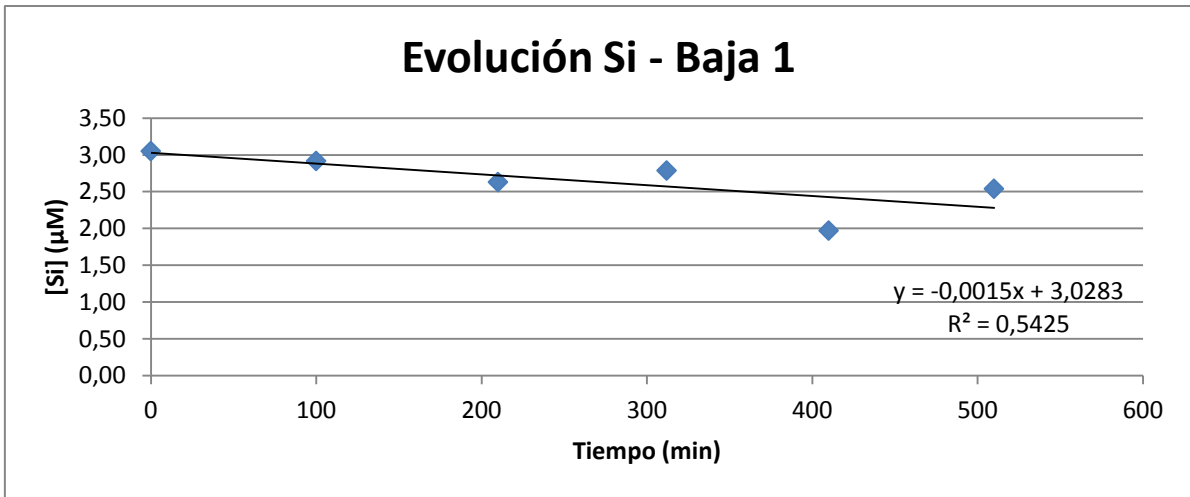


Figura 3.14. Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo del sílice en µM en las cámaras Bajas.

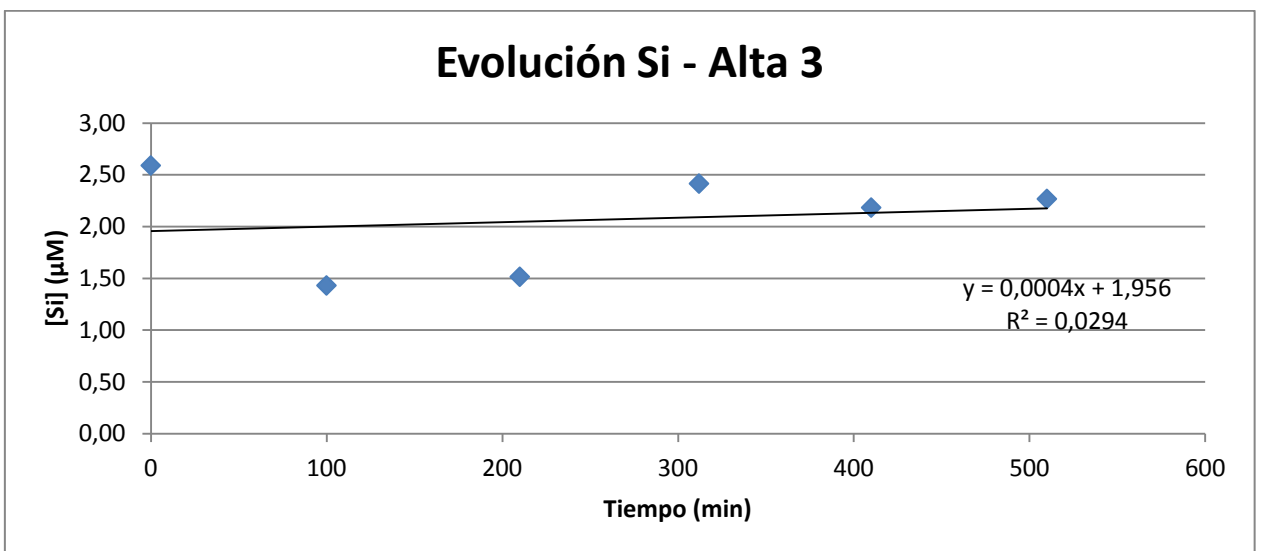
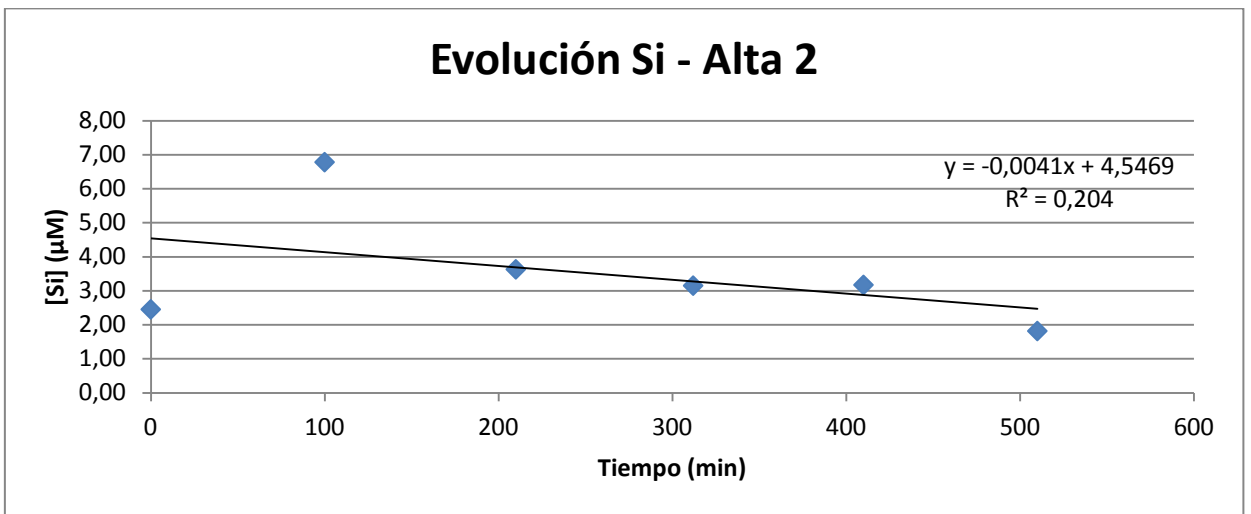
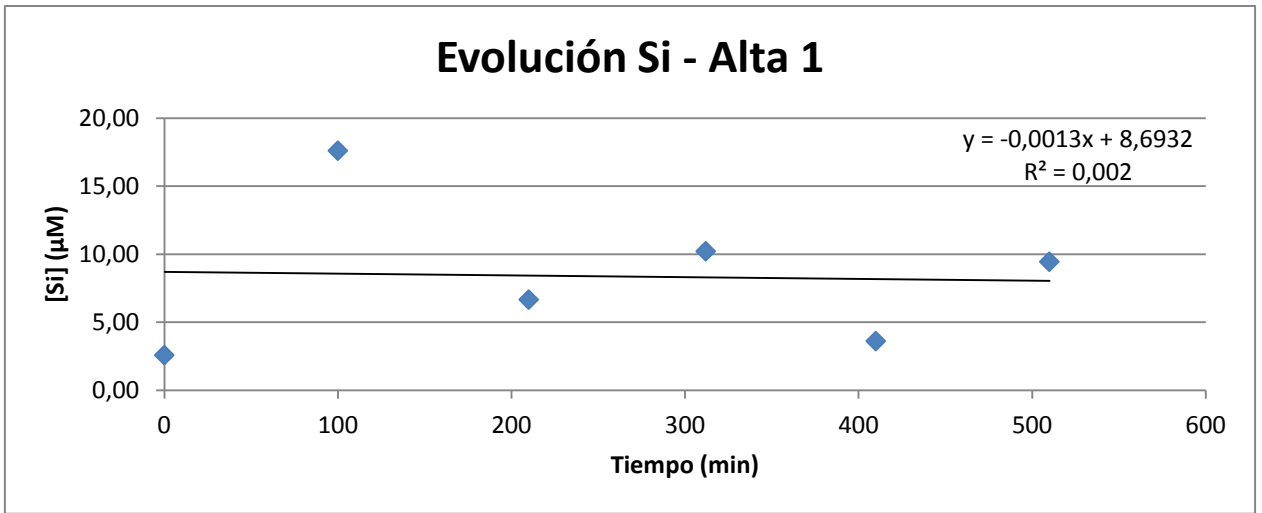


Figura 3.15: Representaciones gráficas de la evolución en el tiempo del sílice en μM en las cámaras Altas.

A partir de las ecuaciones de las rectas obtenidas en las figuras 3.13, 3.14 y 3.15 se estima C_0 y C_t (en μM) que son las concentraciones del nutriente para el tiempo inicial y final de la incubación de cada cámara y se calcula el flujo del sílice en $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ para cada cámara (Tabla 3.23) utilizando la Ecuación 4 descrita en el Apartado 2.5 y los datos de la Tabla 3.14.

CÁMARA	CONTROL 1	CONTROL 2	CONTROL 3	ALTA 1	ALTA 2	ALTA 3	BAJA 1	BAJA 2	BAJA 3
Flujo ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$)	-87,09	-522,54	-348,36	-226,43	-714,13	69,67	-261,27	-52,25	-121,93

Tabla 3.23: Flujos de silicio en $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ para cada cámara.

SÍNTESIS

En la tabla 3.24 se muestra un resumen de los flujos de nutrientes en la interfase sedimento-columna de agua, calculados para cada tratamiento.

FLUJO	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$	OXÍGENO DISUELTO (OD)	NITRATOS (NO_3^-)	AMONIO (NH_4^+)	FÓSFORO REACTIVO SOLUBLE (PSR)	SÍLICE (Si)
Control	Media	-4244	328,80	1611,55	-33,41	-319,33
	sd	1491	506,73	568,61	62,05	219,17
Baja	Media	-18791	182,50	-22694,35	-8,54	-145,15
	sd	26885	253,81	4858,47	30,47	106,43
Alta	Media	-100859	103,63	13457,66	-5,96	-290,30
	sd	27511	100,25	24275,72	53,44	395,79

Tabla 3.24: Resumen flujos de nutrientes en $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$

Tratamiento	INICIO			FINAL		
	Control	Baja	Alta	Control	Baja	Alta
MO (%) (promedio)	0,74	2,06	2,47	0,48	1,60	2,16

Tabla 3.25: Resumen de los % de MO en el sedimento obtenidos al inicio y al final del ensayo.

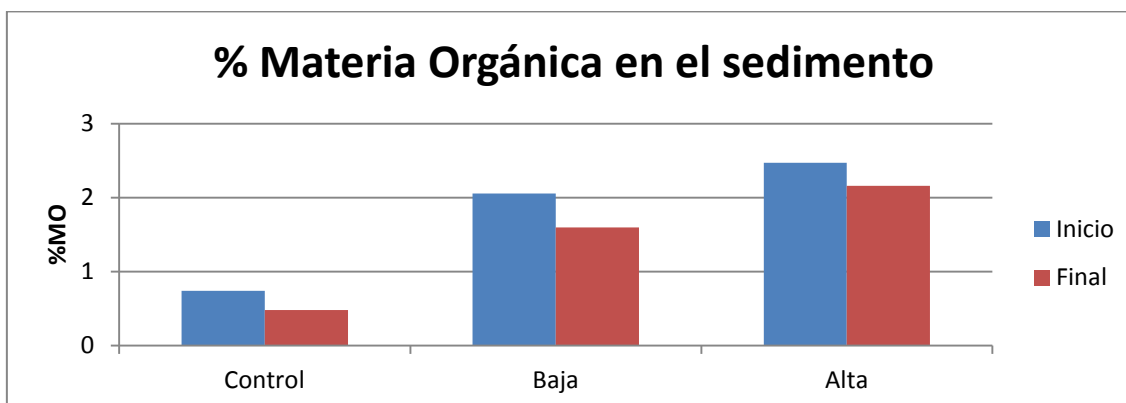


Figura : Valores iniciales y finales medios de la materia orgánica en el sedimento al inicio del ensayo y al final del mismo.

Los principales procesos reguladores de los ciclos de nutrientes tienen lugar en los sedimentos superficiales (Forja y Gómez-Parra, 1998; Engelsen et al., 2008; Spears et al., 2008; Pratihary et al., 2009) los cuales pueden llegar a ser la fuente más importante de materiales para la columna de agua (Hall et al., 1996), así como también pueden actuar a modo de sumidero para determinados nutrientes. En las zonas costeras someras, la radiación solar puede alcanzar la superficie de los sedimentos por lo que favorece el desarrollo de productores primarios como es el microfitobentos que requieren de la fijación de nutrientes y de carbono y producen una liberación de oxígeno en la fotosíntesis. Por esta razón el ensayo se realizó en condiciones de oscuridad, para evitar el efecto que la luz produce sobre los organismos autótrofos.

La deposición del material orgánico sobre la superficie de los sedimentos es degradado por la acción de bacterias heterótrofas hasta formas inorgánicas como lo son los nutrientes. La respiración aerobia llevada a cabo por los organismos vivos presentes en los sedimentos y en la columna de agua actúan como un sumidero de oxígeno y una fuente de dióxido de carbono.

El oxígeno disuelto expresa el balance neto entre la respiración y la fotosíntesis de los organismos planctónicos y del neuston y la reaireación. En nuestro caso al realizar el ensayo en oscuridad se elimina el efecto que la fotosíntesis podría producir sobre los flujos de oxígeno. Se observaron que los flujos de Oxígeno disuelto fueron negativos, lo que indica que si que se produjo consumo de oxígeno por parte del sedimento a partir de la columna de agua. La causa es que la materia orgánica que se encuentra en los sedimentos durante su descomposición, consume oxígeno.

Las cámaras denominadas CONTROL mostraron menores flujos que las cámaras denominadas como BAJAS, y éstas a su vez, presentaron flujos menores que las cámaras denominadas ALTAS. Esto sugiere que a mayor concentración de materia orgánica en el sedimento, se produce también un mayor consumo de oxígeno por parte de éste para su descomposición.

Cuando los flujos son positivos indican que existe una liberación desde el sedimento a la columna de agua de dicho parámetro y éstos cuando son negativos se produce lo contrario, una utilización del nutriente en el sedimento. En el caso del oxígeno, al ser flujos negativos, se produjo dentro de la pauta lógica, así mismo también se produjeron flujos positivos para los nitratos y el amonio.

En el caso de los flujos de nitratos éstos fueron positivos, por lo tanto liberación desde el sedimento a la columna de agua. Además el flujo obtenido en las cámaras denominadas CONTROL fueron los mayores mientras que los obtenidos en las ALTAS los menores. En este caso se podría decir que cuando la MO se descompone, se libera amonio que es el primer producto de mineralización del nitrógeno, pero éste es oxidado a nitrato cuando hay oxígeno suficiente y escasa radiación solar. Como en el caso de las cámaras CONTROL el contenido en oxígeno fue bastante más elevado que las cámaras Bajas y Altas (tabla 3.3) una mayor proporción del amonio mineralizado fue nitrificado dando nitratos.

Para el amonio también se observaron flujos positivos en las cámaras denominadas CONTROL y ALTAS, mientras que en las cámaras denominadas BAJAS se observaron flujos negativos. Los flujos positivos nos indican liberación del nutriente desde el sedimento pero los negativos indican consumo del nutriente por parte del sedimento. En el caso de los positivos se obtiene unos resultados lógicos, es decir, mayores flujos positivos de amonio en las cámaras ALTAS que en las cámaras CONTROL. Para el caso de la cámaras BAJAS los resultados son difíciles de interpretar y habría que evaluarlos escrupulosamente para interpretarlos o incluso descartarlos ya que no son resultados representativos.

En los flujos del Fósforo reactivo soluble (PSR) al ser flujos negativos indican que se consume fósforo por el sedimento. Se observan mayores flujos en las cámaras CONTROL que en las cámaras ALTAS. De todas

formas estos flujos fueron muy bajos, probablemente debido a la baja concentración de fósforo que aportaba el pienso al sedimento. Los flujos negativos sugieren que el fósforo liberado en la mineralización de la materia orgánica pueden acomplejarse con el hierro, manganeso o el calcio principalmente, formando flóculos y precipitando en el sedimento en presencia de oxígeno (Benítez-Nelson, 2000).

En los flujos del silicio, se observaron que todos fueron negativos, lo que indican un consumo de este nutriente por parte del sedimento, pero no siguen una pauta clara y representativa. La materia orgánica que se añadió al sedimento, es decir, el pienso, no tenía sílice, por lo que no tiene sentido en este caso interpretar dichos resultados.

4. CONCLUSIONES

Del estudio se pueden extraer las siguientes conclusiones:

Se observó a lo largo de la realización de todos los ensayos que el ensayo que mejores resultados ofreció, fue el Ensayo 5. Este Ensayo es el último que se realizó en la escala temporal y procede de la evolución de todos los ensayos realizados anteriormente, en los cuales, los resultados obtenidos, tanto visuales, como es el caso de los ensayos 1 y 2, como analíticos, ensayos 3, 4 y 5 indicaron que se puede mejorar aún más la puesta a punto para la realización de un sexto ensayo.

Se logró determinar flujos de oxígeno y nutrientes en la interfase sedimento-agua mediante ensayos *ex situ* con cámaras de incubación bajo condiciones controladas variando la cantidad de materia orgánica en el sedimento. Para ello se añadió distintas concentraciones de materia orgánica directamente en los 4 cm superficiales del sedimento a tres tratamientos distintos (CONTROL, ALTAS y BAJAS). La materia orgánica que mejor resultados ofreció fue pienso para alevines de doradas (ensayo 5).

La materia orgánica utilizada en el Ensayo 5, produjo resultados analíticos más representativos sobre los flujos de nutrientes en la interfase sedimento-columna de agua. Los flujos de oxígeno disuelto fueron negativos, debido a que se produjo un consumo de oxígeno por parte del sedimento a partir de la columna de agua. Estos flujos fueron más negativos a medida que mayor cantidad de materia orgánica contenían los sedimentos consecuencia de su mayor utilización en la descomposición de la misma por parte de las bacterias aerobias. Los flujos de nitratos fueron positivos, lo que indica que se produjo una liberación de los mismos desde el sedimento a la columna de agua y estos fueron mayores en aquellas cámaras con concentraciones de oxígeno más altas que fueron las cámaras control (en las que la concentración de materia orgánica fue menor) debido a la nitrificación del amonio. Ocurrió en general lo mismo con el amonio, es decir flujos positivos y mayores en las cámaras altas, que además presentó flujos más altos, por ser el primer producto de descomposición del nitrógeno orgánico. Este tipo de materia orgánica produjo flujos negativos y bajos de fósforo y sílice, lo que sugiere el bajo contenido de los mismos en la composición del pienso para alevines utilizado en el Ensayo 5.

Se propone la realización de un sexto ensayo, en el que se modifique el tipo de materia orgánica adicionada al sedimento base con el fin de obtener mejores resultados para los flujos de fósforo y sílice. La materia orgánica que se sugiere es una mezcla de mejillones secos y fitoplancton mezclado directamente en la capa más superficial del sedimento. Las condiciones de partida para realizar el procedimiento del Ensayo 6 serían las mismas que han sido descritas en el apartado de Material y Métodos del Ensayo 5.

5. BIBLIOGRAFÍA

- BARIC, A., KUSPILIC, G. y MATIJEVIC, S. 2002. Nutrient (N, P, Si) fluxes between marine sediments and water column in coastal and open Adriatic. *Hydrobiologia*. 475/476. [151-159].
- BAUMGARTEN, M.G.; ROCHA, J.M.; NIENCHESKI, L.F. 1996. Manual de análises em oceanografia química. Rio Grande, Ed. da FURG, Brasil, 132 p.
- BENÍTEZ-NELSON, C. R. 2000. The biogeochemical cycling of phosphorus in marine systems. *Earth-Science Reviews*. 51. [109-135].
- BERTUZZI, A., FAGANELLI, J., WELKER, C. Y BRAMATI, A. 1997. Benthic fluxes of dissolved inorganic carbon, nutrients and oxygen in the gulf of Trieste (Northern Adriatic). *Water, Air and Soil Pollution*. 99. [1641-1654].
- BETHOUX, J. P., MORIN, P., MADEC, C. Y GENTILI, B. 1992. Phosphorus and nitrogen behavior in the Mediterranean sea. *Deep-Sea Res.* 39. [1641-1654].
- BILES, C. L., PATERSON, D. M., FORD, R. B., SOLAN, M. Y RAFFAELLI, D. G. 2002. Bioturbation, ecosystem functioning and community structure. *Hydrology and Earth System Sciences*. 6(6). [999-1005].
- BROEKER, W.S y T.H. PENG, 1982. *Tracers in the Sea*. Eldigio Press.
- CIBIC, T., BLASUTTO, O. Y BETTOSO, N. 2009. Microalgal-meiofaunal interactions in a sublittoral site of the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea, Italy: A three-year study. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 370. [144-154].
- DE FREITAS, U. NIENCHESKI, L. F. H., ZARZUR, S., MANZOLLI, R. P., VIEIRA, J. P. P. Y ROSA, L. C. 2008. Influência de um cultivo de camarão sobre o metabolismo béntico e a qualidade da água. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. 12(3). [293-301].
- DELL'ANNO, A., MEI, M. L., PUSCEDDU, A. Y DANOVARO, R. 2002. Assessing the trophic state and eutrophication of coastal marine systems: a new approach based on the biochemical composition of sediment organic matter. *Marine Pollution Bulletin*. 44. [611-622].
- ENGELSEN, A., HULTH, S., PIHL, L. Y SUNDBÄCK, K. 2008. Benthic trophic status and nutrient fluxes in shallow-water sediments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 78. [783-795].
- FERRÓN, S., ORTEGA, T. Y FORJA, J. M. 2009. Benthic fluxes in a tidal salt marsh creek affected by fish farm activities: Río San Pedro (Bay of Cádiz, SW Spain). *Marine Chemistry*. 113. [50-62].
- FORJA, J. M. Y GÓMEZ-PARRA, A. 1998. Measuring nutrient fluxes across the sediment-water interface using benthic chambers. *Marine Ecology Progress Series*. 164. [95-105].
- HALL, P.O.J., HULTH, S., HULTH, G., LANDEN, A. Y TENGBERG, A. 1996. Benthic nutrient fluxes on a basin-wide scale in the Skagerrak (North-Eastern North Sea). *Journal of Sea Research*. 35 (1-3). [123-137].
- HARGRAVE, B.T. and CONNOLLY, G.F. 1978. A device to collect supernatant water for measurement of the flux of dissolved compounds across sediment surfaces. *Limnol. Oceanogr.* 23 [1005-1010].
- HENSEN, C., ZABEL, M. Y SCHULZ, H. N. 2006. Benthic cycling of oxygen, nitrogen and phosphorus. In: SCHULZ, H., N. Y ZABEL, M. (Editores). *Marine geochemistry*. [207-240].
- HERBERT, R. A. 1999. Nitrogen cycling in coastal marine ecosystems. *Microbiology Reviews*. 23. [563-590].

- JAHNKE, R.A., NELSON, J.R., RICHARDS, M.E., ROBERTSON, C.Y., RAO, A.M.E. Y JAHNKE, D. 2008. Benthic primary production on the Georgia mid-continental shelf: Benthic flux in situ PAR records. *Journal of Geophysical Research-Oceans*. 113.
- JEFFREY, S. W. Y HUMPREY, G. F., 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, and cin higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol, Pflanzen* 167. [191-194].
- KROM, M. D., HERUT, B. Y MANTOURA, R. F. C. 2004. Nutrient budget for the Eastern Mediterranean: Implications for phosphorus limitation. *Limnol. Oceanogr.* 49. [1582-1592].
- LEPOINT, G., GOBERT, S., DAUBY, P y BOUQUEGNEAU, J.-M. 2003. Contribution of benthic and planktonic primary producers to nitrate and ammonium uptake fluxes in a nutrient-poor shallow coastal area (Corsica, NW Mediterranean). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 302 [107-122].
- MELZER, R. R. Y HERZER, K. 2004. El litoral. In: Hofrichter, R. (Editor) *El Mar Mediterráneo. Parte I*.
- MERMILLOD-BLONDIN, F. Y ROSENBERG, R. 2006. Ecosystem engineering: the impact of bioturbation on biogeochemical processes in marine and freshwater benthic habitats. *Aquatic Science*. 68. [434-442].
- MURPHY, J. Y RILEY, J.P. 1962. A Modified Single Solution Method for Determination of Phosphate in Natural Water. *Anal. Chem. Acta* 27: [31-36].
- MURRAY, L. G., MUDGE, S. D., NEWTON, A. Y ICELY, J. D. 2006. The effect of benthic sediment on dissolved nutrient concentration and fluxes. *Biogeochemistry*. 81. [159-178].
- ORTEGA, T., PONCE, R., FORJA, J. Y GÓMEZ-PARRA, A. 2005. Fluxes of dissolved inorganic carbon in three estuarine systems of the Cantabrian Sea (north of Spain). *Journal of Marine Systems*. 53. [125-142].
- ORTEGA, T., PONCE, R., FORJA, J. Y GÓMEZ-PARRA, A. 2008. Benthic fluxes of dissolved inorganic carbon in the Tinto-Odiel system (SW of Spain). *Continental Shelf Research*. 28. [458-469].
- PRATIHARY, A.K., NAQVI, S.W.A., NAIK, H., THORAT, B.R., NARVENKAR, G., MANJUNATHA, B.R. Y RAO, V.P. 2009. Benthic fluxes in a tropical Estuary and their role in the ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 85. [387-398].
- RILEY, J. P. Y CHESTER, R. 1971. *Introduction to marine chemistry*. Academic Press.
- SALA, M. M., PETERS, F., GASOL, J. M., PEDRÓS-ALIÓ, C. MARRASÉ, C. Y VAQUÉ, D. 2002. Seasonal and spatial variations in the nutrient limitation of bacterioplankton growth in the northwestern Mediterranean. *Aquatic Microbial Ecology*. 27. [47-56].
- SOSPEDRA, J. Tesina Final Máster. Escuela Politécnica Superior de Gandía, Universidad Politécnica de Valencia.
- SPEARS, B.M., CARVALHO, L., PERKINS, R. y PATERSON, D.M. 2008. Effects of light on sediment nutrient flux and water column nutrient stoichiometry in a shallow lake. *Water Research*. 42. [977-986].
- STRICKLAND, J.D.H Y PARSONS, T.R. 1972. *A Practical handbook of Seawater Analysis*. Bull. Fish. Res. Bd. Canada. 167.
- VIOLLER, E., RABOULLE, C., APITZ, S.E., BREUER, E. CHAILLOU, G., DEDIEU, K., FURUKAWA, Y., GRENZ, C., HALL, P., JANSSEN, F., MORFORD, J.L., POGGIALE, J.-C., ROBERTS, S., SCHIMMIEDL, T. TAILLEFERT, M., TENBERG, A., WENZHÖFER, F. and WITTE, U. 2003. Benthic geochemistry: state of the art technologies and guidelines for the future of in situ survey. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 285-286 [5-31].
- WEBB, K. L. 1981. Conceptual models and processes of nutrient cycling in estuaries. In: NEILSON, B. J. Y

CRONIN, L., E. (Editores). Estuarines and nutrients. Humana Press Inc. pp- 25-46.

WENZHÖFER, F. Y GLUD, R. N. 2004. Small-scale spatial and temporal variability in coastal benthic O₂ dynamics: effects of fauna activity. *Limnology and Oceanography*. 49 (5). [1471-1481].

ZARZUR, Z. 2001. Consumo de oxigênio pelo sedimento e fluxos de regeneração bêntica de nutrientes nas áreas rasas do estuário da Lagoa dos Patos, RS. Tese de Mestrado. Fundação Universidade Federal do Rio Grande.