

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA Unidad Iztapalapa División de Ciencias Biológicas y de la Salud Maestría en Biología

ACTIVIDAD METANOGÉNICA Y EMISIONES DE METANO EN LA LAGUNA COSTERA DE LA MANCHA, VERACRUZ

TESIS

Que para obtener el grado de Maestra en Biología

PRESENTA ALMA VIANI GARCÍA PÉREZ

Matricula: 2183801749

Directora: Dra. María del Rocío Torres Alvarado

Jurado:

Dra. Mónica del Pilar Bonilla Salinas Dr. Frederic Thalasso Siret Dra. Florina Ramírez Vives Dr. Francisco José Fernández Perrino

Ciudad de México, Iztapalapa, 26 de junio de 2022

La Maestría en Biología de la
Universidad Autónoma Metropolitana
pertenece al Padrón de
Posgrados de Calidad del CONACyT

Declaración de originalidad

La que suscribe Alma Viani García Pérez, alumna del posgrado Maestría en Biología, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y autora de la tesis o idónea comunicación de resultados titulada: "Actividad metanogénica y emisiones de metano en la laguna costera de La Mancha, Veracruz",

Declaro que:

- 1. La tesis o idónea comunicación de resultados que presento ante el H. Jurado para lo obtención del grado de Maestra en Biología es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo de investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales del material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
- En la tesis o idónea comunicación de resultados no he reproducido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autoral y fuente correspondiente.
- 3. En consecuencia, relevo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis o idónea comunicación de resultados, respondiendo por la autoría y originalidad de la misma, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese de mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el 26 de mayo del 2022.

Atentamente

Alma Viani García Pérez

El Jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó:

Alma Viani García Pérez El día 26 de mayo del año 2022

Comité Tutoral y Jurado

Directora: Dra. María del Rocío Torres Alvarado

Asesora: Dra. Mónica del Pilar Bonilla Salinas

Asesor: Dr. Frederic Thalasso Siret

Sinodal: Dra. Florina Ramírez Vives

Sinodal: Dr. Francisco José Fernández Perrino

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por permitir el desarrollo de esta tesis con la beca de apoyo del Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC).

A la Maestría en Biología, a sus autoridades y profesores por las enseñanzas y servicios en mi formación académica, así como en el seguimiento del desarrollo del presente estudio.

A mi Comité Tutoral, por su tiempo y apoyo, por brindarme los conocimientos necesarios para llevar a cabo este trabajo de investigación y concluir con la tesis. A mi directora, Dra. Rocío Torres Alvarado por su paciencia, conocimientos y guía, por aceptarme en su laboratorio y permitirme expandir mis conocimientos en el campo de la ecología microbiana. A mis asesores, Dra. Mónica Bonilla Salinas y Dr. Frederic Thalasso Siret, por sus asesorías, conocimientos y atenciones.

A mis sinodales, Dra. Florina Ramírez Vives y Dr. Francisco José Fernández Perrino por sus comentarios y observaciones en el escrito de la tesis y por su tiempo invertido en la revisión de esta.

A la Dra. Gloria Trejo Aguilar y Dra. Alejandra Serrato Díaz (q.e.p.d.) por permitirme hacer uso de sus instalaciones de laboratorio, así como su asesoría en el uso de estos.

A la Dra. Teresa Aguirresabala Cámpano por su apoyo, conocimiento y asesoría en campo y en el procesamiento de los datos.

A la Lic. Betsabet Neivy Maldonado por su apoyo y asesoría en laboratorio.

A mis amigos de la UAM-I, Andrea Hernández Pliego, Roberto Báez Parada y Alma Toledo Guzmán, por su apoyo incondicional, compañía y ánimo. Por su amistad, gracias.

Agradezco y dedico este trabajo a mi familia, en especial a mi madre Alma Pérez Díaz por siempre apoyar mis proyectos y decisiones, por sus ánimos y esperanzas en mi persona, porque cada logro mío es gracias a su apoyo. A mi padre Fernando García Servín, aunque ya no estás con nosotros, siempre nos acompañarás.

CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
1 INTRODUCCIÓN	5
2 MARCO TEÓRICO	7
2.1 Gases de efecto invernadero	7
2.2 Metano (CH ₄)	7
2.3 Arqueas metanógenas	8
2.4 Metanogénesis	9
2.5 Emisiones de metano (CH ₄)	12
2.6 Ambientes costeros tropicales	12
3 ANTECEDENTES	14
4 JUSTIFICACIÓN	19
5 PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	19
6 HIPÓTESIS	20
7 OBJETIVOS	20
7.1 General	20
7.2 Particulares	20

8 MÉTODOS	21
8.1 Área de estudio	21
8.2 Trabajo en campo	23
8.2.1 Emisiones	24
8.3 Trabajo de laboratorio	24
8.3.1 Análisis fisicoquímico	24
8.3.2 Análisis microbiológico	25
8.4 Análisis estadístico	27
9 RESULTADOS	28
9.1 Caracterización ambiental	28
9.1.1 Columna de agua	28
9.1.2 Nutrientes	44
9.1.3 Sedimento	46
9.2 Producción de metano (CH ₄)	53
9.3 Emisiones de gases a la atmósfera	59
9.3.1 Emisiones de metano (CH ₄)	60
9.3.2 Emisiones de dióxido de carbono (CO ₂)	61
9.4 Análisis estadístico	63
10 DISCUSIÓN	68
10.1 Caracterización ambiental	68
10.2 Dinámica metanogénica	73

11 CONCLUSIONES	78
12 PERSPECTIVAS FUTURAS	80
13 BIBLIOGRAFÍA	81

RESUMEN

El metano, un gas de efecto invernadero, es producido a partir de la actividad de las arqueas metanógenas en condiciones anaerobias. La actividad metanogénica es dominante en los sedimentos dulceacuícolas; sin embargo, en los sedimentos estuarinos y humedales salobres también se ha determinado la producción y emisión de metano. Los estudios sobre las emisiones de metano en ambientes salobres tropicales se han efectuado principalmente en la India y Brasil. En México, caracterizado por la presencia de lagunas costeras y manglares, este tipo de estudio son escasos. El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad de la comunidad de arqueas metanógenas y su contribución a la producción y emisión de metano en el sedimento de la laguna costera de La Mancha, localizada en el estado de Veracruz. Se realizó un muestreo durante cada época, lluvias (conexión con el mar abierta), nortes y secas (conexión con el mar cerrada). En la columna de agua se cuantificó la temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto y potencial de óxidoreducción. Las emisiones de metano se midieron in situ con la técnica de cámaras cerradas. Se colectaron muestras de agua y sedimento para determinar el contenido de nutrientes con técnicas estandarizadas, así como el contenido de carbohidratos, sólidos y tamaño de grano del sedimento. En los sedimentos se realizaron los análisis microbiológicos para determinar la producción de metano a partir de pruebas cinéticas utilizando el medio básico de Balch et al. (1979) en seis tratamientos tanto en presencia como en ausencia de sulfatos (control, acetato, metanol, control + SO_4^{2-} , acetato + SO_4^{2-} y metanol + SO_4^{2-}). La producción de metano se evaluó por cromatografía de gases durante 30 días. Se observaron diferencias significativas a través de análisis de varianza entre las variables ambientales de las épocas climáticas estudiadas, así como en la producción y emisión de metano. En la época de lluvias, caracterizada por altas temperaturas, presencia de un gradiente de salinidad (oligohalino-euhalino) y condiciones neutras y alcalinas, se registraron las mayores emisiones de metano (24 mg CH₄/m²/d) en las estaciones cercanas a la desembocadura del río y con presencia de manglares; las emisiones disminuyeron conforme se incrementó la salinidad hacía la boca de la comunicación con el mar. Los tratamientos sin sulfatos registraron la mayor

producción de metano, siendo el metanol el sustrato preferente, tanto en lluvias (0.34-0.41 $\mu mol\ CH_4/ml_{sed})$ como en secas (0.16-0.19 $\mu mol\ CH_4/ml_{sed})$. La variabilidad ambiental, determinada por la apertura y cierre de la boca de la laguna, así como los aportes fluviales y las características climáticas de la región, influyeron en la actividad de la comunidad de arqueas metanógenas, estableciéndose que la laguna de La Mancha es un emisor de metano a la atmósfera principalmente en época de lluvias.

ABSTRACT

Methane, a greenhouse gas, is produced from the activity of methanogenic archaea under anaerobic conditions. Methanogenic activity is dominant in freshwater sediments; however, in estuarine sediments and brackish wetlands, the production and emission of methane has also been determined. Studies on methane emissions in tropical brackish environments have been carried out mainly in India and Brazil. In Mexico, characterized by the presence of coastal lagoons and mangroves, this type of study is scarce. The objective of this study was to evaluate the activity of the methanogenic archaea community and its contribution to the production and emission of methane in the sediment of the coastal lagoon of La Mancha, located in the state of Veracruz. A sample was made during each season, rainy (connection to the open sea), north and dry (connection to the closed sea). In the water column, the temperature, salinity, pH, dissolved oxygen and oxidation-reduction potential were quantified. Methane emissions were measured in situ using the closed chamber technique. Samples of water and sediment were collected to determine the content of nutrients with standardized techniques, as well as the content of carbohydrates, solids, and grain size of the sediment. Microbiological analyzes were performed on the sediments to determine methane production from kinetic tests using the basic medium of Balch et al. (1979) in six treatments both in the presence and absence of sulfates (control, acetate, methanol, control + SO₄²-, acetate + SO₄²and methanol + SO_4^{2-}). Methane production was evaluated by gas chromatography for 30 days. Significant differences were observed through analysis of variance between the environmental variables of the climatic seasons studied, as well as in the production and emission of methane. In the rainy season, characterized by high temperatures, the presence of a salinity gradient (oligonaline-euhaline) and neutral and alkaline conditions, the highest methane emissions (24 mg CH₄/m²/d) were recorded in the stations close to the river mouth and with the presence of mangroves; emissions decreased as salinity increased at the mouth of the communication with the sea. The treatments without sulfates registered the highest methane production, with methanol being the preferred substrate, both in rain (0.34-0.41 µmol CH₄/ml_{sed}) and in dry (0.16-0.19 µmol CH₄/ml_{sed}). The environmental variability, determined by the opening and closing of the mouth of the lagoon, as well as the fluvial contributions and the climatic characteristics of the region, influenced the activity of the community of methanogenic archaea, establishing that the La Mancha lagoon is a methane emitter into the atmosphere mainly in the rainy season.

1. Introducción

El metano (CH₄) es uno de los gases de efecto invernadero más importantes debido a sus concentraciones, que han ido en aumento en los últimos años, y a su capacidad para absorber la radiación infrarroja; se estima que tiene un potencial en ese sentido 25 veces mayor que el del dióxido de carbono (CO₂) (Borrel *et al.*, 2011; Palma-Silva *et al.*, 2013; Araujo *et al.*, 2018). El CH₄ contribuye con el 15% del calentamiento global actual y tiene una tasa de aumento del 0.5% anual (Chen y Prinn, 2006; Biswas *et al.*, 2007).

Alrededor del 16% del CH₄ atmosférico se forma en ambientes dulceacuícolas como lagos, humedales, pantanos y arrozales (Whitman *et al.*, 2006; Hernández, 2010; Palma-Silva *et al.*, 2013). El metano se forma a partir de la descomposición de la materia orgánica bajo condiciones anóxicas, a través del proceso conocido como metanogénesis, en el que participan las arqueas metanógenas (Penning *et al.*, 2006).

Las arqueas metanógenas son un grupo muy diverso de microorganismos, que presentan diferencias morfológicas y metabólicas (García et al., 2000; Torres et al., 2002; Bapteste et al., 2005; Costa y Leigh, 2014), pero que comparten tres características en común: 1) el principal producto de su metabolismo energético es el CH₄, 2) son anaerobios estrictos, 3) son miembros del dominio Archaea. La energía para su crecimiento la obtienen a partir de la conversión de un número limitado de sustratos, entre éstos destacan hidrógeno + dióxido de carbono, acetato, formiato y en menor proporción metanol, metanotiol, trimetilaminas o sulfuro de dimetilo (Whitman et al., 2006; Van Leerdam et al., 2008b; Penger et al., 2012). Dependiendo de los sustratos que pueden utilizar y las vías por las que producen CH₄, las arqueas metanógenas se pueden dividir en cuatro grupos fisiológicos: dentro del primer grupo, el género Methanosaeta se caracteriza por utilizar exclusivamente acetato como sustrato, el segundo grupo incluye géneros como Methanobacterium, Methanobrevibacter y Methanogenium, que se caracterizan por producir CH₄ a partir de hidrógeno y dióxido de carbono, el tercer grupo comprende los géneros Methanolobus y Methanococcus, que emplean compuestos metilados

como metanol y metilaminas y el cuarto grupo incluye al género *Methanosarcina*, el cual es capaz de producir CH₄ a partir de acetato, hidrógeno y compuestos metilados (Hernández, 2010).

La metanogénesis se ha estudiado en ambientes anóxicos principalmente de agua dulce como estanques, pantanos y lagos. Estos sistemas son importantes generadores de CH₄, su contribución es del 6-16% del total del metano emitido a la atmósfera (Schubert *et al.*, 2011). En los ambientes marinos como los océanos, se ha determinado que la generación de CH₄ es menor con respecto a los ecosistemas de agua dulce, debido a que la presencia de sulfatos favorece el proceso de la sulfato reducción sobre la metanogénesis (Orphan *et al.*, 2002; Kellermann *et al.*, 2012).

Entre los ecosistemas marinos, mención especial merecen los estuarios y lagunas costeras que, debido a la influencia de agua dulce y salada, son ambientes salobres con un gradiente salino que disminuye de la comunicación con el mar hacia las desembocaduras internas de los ríos. Esta conexión de agua dulce y marina se traduce en una alta variabilidad ambiental. Se tiene conocimiento de que los ambientes salobres juegan un papel importante como fuentes de emisión de metano ya que en ellos se encuentra una gran cantidad de materia orgánica y condiciones anóxicas en el sedimento, (Chauhan *et al.*, 2015; Rao y Sarma, 2016). En dichos ambientes se han realizado estudios sobre la cuantificación de las emisiones de gases de efecto invernadero (principalmente metano) y la comunidad de arqueas metanógenas presente, aunque estos estudios se han enfocado principalmente en sistemas como lagos, estuarios y manglares en la India y Brasil.

Las investigaciones acerca de la actividad metanogénica y las emisiones de metano producidas en sistemas costeros de la zona tropical en México son escasos, algunos estudios se han centrado en evaluar la dinámica de la comunidad de arqueas metanógenas, mientras que otros se han enfocado en los flujos de gases de efecto invernadero. Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad de la comunidad de arqueas metanógenas y su contribución a la

producción y emisión de metano en el sedimento de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

2. Marco teórico

2.1 Gases de efecto invernadero

Los principales gases de efecto invernadero son el dióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄) y el óxido nitroso (N₂O), los cuales se producen y emiten en ecosistemas acuáticos (lagos, ríos, estuarios, humedales), terrestres (bosques, suelos), o pueden ser fruto de actividades antropogénicas. Dichos gases contribuyen al calentamiento global y participan en reacciones químicas atmosféricas, como es la formación de ozono troposférico para el caso particular del metano (Tremblay *et al.*, 2005). Entre ellos, el dióxido de carbono y el metano contribuyen en un 63% y 18%, respectivamente, al calentamiento global. En la actualidad las concentraciones de CO₂ y CH₄ han aumentado de 2 a 2.5 veces en comparación con los niveles preindustriales registrados previamente (Zhu *et al.*, 2018).

Schmid *et al.* (2017) estiman que entre 1999 y 2006 las concentraciones de metano se mantuvieron constantes, sin embargo, a partir de 2006 las concentraciones han aumentado y todavía no se tiene conocimiento preciso de la dinámica de este gas, además señalan que se tiene incertidumbre acerca de la cuantificación de las fuentes y sumideros de CH₄.

2.2 Metano (CH₄)

El metano (CH₄) es un hidrocarburo gaseoso, es un gas de efecto invernadero importante cuyas fuentes y química atmosférica son de gran interés. Se ha reportado que su concentración atmosférica ha incrementado en una tasa al rededor del 0.5% anual, estimándose que un intervalo de 400-640 ×10¹² g de CH₄ se liberan a la atmósfera anualmente. Comparado con el dióxido de carbono (CO₂), la concentración de CH₄ es menor, sin embargo, su impacto por unidad de masa como gas de efecto invernadero es mayor debido a sus concentraciones crecientes y su

alta capacidad para absorber la radiación infrarroja, aproximadamente 25 veces más que la del CO₂ (Whitman *et al.*, 2006; Borrel *et al.*, 2011; Schubert *et al.*, 2011; Palma-Silva *et al.*, 2013; Araujo *et al.*, 2018). Se ha evaluado que el CH₄ contribuye aproximadamente entre el 15% y 20% del calentamiento global y se estima que en un futuro podría ser el gas dominante en este proceso (Pavel *et al.*, 2009; Hernández, 2010).

En ecosistemas acuáticos, el CH₄ puede producirse tanto en la columna de agua como en los sedimentos por la descomposición de materia orgánica, y es emitido a la atmósfera por tres principales vías: 1) difusión, 2) ebullición y 3) transporte a través de las plantas. En los últimos años se han incrementado los estudios relacionados con la cuantificación de CH₄ en sistemas acuáticos, debido a su impacto como gas de efecto invernadero y a su aumento en mayor proporción con respecto al CO₂, al igual tiene un papel importante en el ciclo del carbono y por tanto en el balance general de carbono (Tremblay *et al.*, 2005).

2.3 Arqueas metanógenas

El metano es producido por microorganismos pertenecientes al dominio Archaea y conocidos como arqueas metanógenas las cuales son un grupo filogenético diverso que se caracteriza por ser estrictamente anaerobios con un metabolismo restringido a la formación de CH₄ a partir de sustratos como CO₂, H₂, formiato, metanol, metilamidas, metildisulfuros y acetato. Pueden encontrarse en ambientes anóxicos como los sedimentos de cuerpos de agua, áreas de tundra, pantanos, campos de cultivo de arroz, digestores de aguas residuales, plantas de biogás, en el tracto intestinal de rumiantes y termitas. Estos microorganismos son de gran importancia en el ciclo del carbono ya que marcan el fin de la cadena respiratoria anaerobia para el reciclado de componentes de carbono de la materia orgánica (Thauer *et al.*, 2008; Welte y Deppenmeier, 2014).

La primera clasificación de arqueas metanógenas se basó en su metabolismo, Whitman *et al.* (2006) mencionan que este grupo se organizó en tres órdenes (Metanobacteriales, Metanococcales y Metanomicrobiales), seis familias y 19 géneros. Actualmente se han validado siete órdenes: Methanobacteriales, Methanococcales, Methanocellales, Methanomicrobiales, Methanopyrales, Methanosarcinales y Methanomassiliicoccales, los cuales han sido clasificados en 15 familias, 35 géneros y más de 150 especies (Deng *et al.*, 2020; An *et al.*, 2022).

Las arqueas metanógenas se encuentran en relación sintrófica con diversos grupos como las bacterias anaerobias, protozoos, hongos anaerobios, bacterias sintróficas y bacterias acetogénicas, lo cual les permite obtener los sustratos necesarios para llevar a cabo la metanogénesis (Thauer *et al.*, 2008).

2.4 Metanogénesis

En cuerpos de agua la descomposición de la materia orgánica se lleva a cabo por una serie de reacciones de transporte de electrones. Este proceso está controlado por microorganismos mediante la respiración anaerobia. Los principales procesos por los que la materia orgánica se mineraliza son: desnitrificación, reducción de magnesio y hierro, sulfato reducción y metanogénesis (Reeburgh, 2007).

La metanogénesis es el proceso por el cual las arqueas metanógenas degradan materia orgánica en condiciones anaerobias por la reducción de sustratos obtenidos previamente por la hidrólisis de la materia orgánica dando como resultado la producción de metano. Es considerado el último paso en la descomposición de la materia orgánica (Furlanetto *et al.*, 2012; Nazaries *et al.*, 2013). Se estima que la metanogénesis realiza de un 10% a 50% de la mineralización anaeróbica en aguas y sedimento (Bastviken *et al.*, 2008).

Las arqueas metanógenas no pueden utilizar compuestos complejos como sustrato, por ello necesitan de la actividad de otros microorganismos en el ambiente como son las bacterias anaerobias, protozoos y hongos que hidrolizan polímeros a monómeros y lípidos a ácidos grasos, los cuales son moléculas simples que pueden

ser utilizados por los metanógenos como sustrato, entre ellos se encuentra el acetato, formiato, hidrógeno (H₂) y CO₂ (Thauer *et al.*, 2008; Nazaries *et al.*, 2013).

De acuerdo con Borrel *et al.* (2011) existen tres vías principales para la producción de CH₄, estas vías se caracterizan por el sustrato que utilizan (Welte y Deppenmeier, 2014; Vavilin *et al.*, 2017):

 Metanogénesis hidrogenotrófica: consiste en la reducción de CO₂ a CH₄ utilizando H₂ como donador de electrones, es una vía común y contribuye en gran parte a la producción de CH₄ en muchos ambientes.

$$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$$
 (1)

2) Metanogénesis acetoclástica: el acetato es catabolizado por escisión, resultando en un grupo carboxilo oxidado a CO₂ y un grupo metilo reducido a CH₄, esta vía es utilizada frecuentemente en ambientes fríos y lagos templados.

$$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$$
 (2)

3) Metanogénesis metilotrofa: el grupo metilo es reducido en metil-coenzima M y luego es reducido a CH₄, los electrones en esta reducción provienen de la oxidación de un grupo metilo adicional a CO₂, con esta vía los metanógenos no compiten con las bacterias sulfato reductoras (sustrato no competitivo). Este proceso se encuentra generalmente en ambientes con agua salada.

$$4CH_3OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$$
 (3)

En ambientes de agua dulce se asume que los principales sustratos para la metanogénesis son H₂ que se oxida y CO₂ como aceptor de electrones (metanogénesis hidrogenotrófica), al igual que el acetato, el cual se divide para formar CO₂ y CH₄ (metanogénesis acetoclástica). Por otro lado, en ambientes marinos la metanogénesis hidrogenotrófica es menor debido a que en este tipo de sistemas predomina la sulfato reducción que también utiliza H₂ y acetato como sustratos y se lleva a cabo por bacterias sulfato reductoras, sin embargo estos

microorganismos no pueden utilizar compuestos metilados o tienen poca afinidad por ellos, por lo tanto en sistemas con agua salada el principal sustrato para las metanógenas son compuestos metilados, denominándose esta vía como metanogénesis metilotrofa (Reeburgh. 2007; Bridgham *et al.*, 2013).

Este proceso se ve regulado por factores bióticos y abióticos. Dentro de los factores abióticos se encuentran la temperatura, salinidad y pH, como principales factores que afectan y regulan la metanogénesis en ambientes acuáticos.

La temperatura afecta la producción y emisión de CH₄ debido a que la metanogénesis es un proceso mesófilo, teniendo como rango de valores óptimos entre 35°C y 42°C, se ha registrado que en ambientes tropicales las tasas de producción de CH₄ son mayores (St. Louis *et al.*, 2000; González-Valencia *et al.*, 2014). El intervalo óptimo de pH para el crecimiento de la mayoría de los metanógenos va de 6 a 8, aunque se han registrado valores de producción de metano que van de 5.6 a 10, sin embargo, a valores más ácidos disminuyen los flujos o bien no se lleva a cabo la producción de CH₄ (García *et al.*, 2000; Thauer *et al.*, 2008; Van Leerdam *et al.*, 2008a; Nazaries *et al.*, 2013).

Como se mencionó con anterioridad cuanta mayor es la salinidad las arqueas metanógenas compiten por sustratos con las bacterias sulfato reductoras, siendo favorecido la sulfato reducción en ambientes salinos. De esta forma la salinidad afecta a las comunidades de arqueas presentes en estos ambientes favoreciendo a especies halófilas que usan compuestos metilados como sustratos (Waldron *et al.*, 2007); estudios realizados en sistemas costeros han reportado la producción y emisión de CH₄ desde condiciones oligohalinas (0.5-5 ups) hasta polihalinas (18-30 ups) obteniendo una mayor variación de emisiones de CH₄ a menor salinidad; al igual, se observa que las tasas de mineralización son mayores en sistemas oligohalinos (Chambers *et al.*, 2011 y 2013; Poffenbarger *et al.*, 2011).

2.5 Emisiones de metano (CH₄)

Las emisiones de CH₄ de los ambientes acuáticos a la atmósfera se ven mediados por dos procesos, la metanogénesis y la oxidación del CH₄ aeróbica o anaeróbicamente ya sea por microorganismos en el sedimento o en la columna de agua (Schmid *et al.*, 2017). El CH₄ puede liberarse a la atmosfera por tres vías; 1) difusión, 2) ebullición y 3) transporte mediado por plantas, siendo los dos primeros los procesos más importantes en la emisión de CH₄ (Bridgham *et al.*, 2013). Mediante la difusión el CH₄ ingresa a la columna de agua, una parte de éste se oxida por bacterias metanotrofas y la parte de CH₄ que no es oxidada se emite a la atmósfera, este proceso depende de la diferencia de concentración de CH₄ en la columna de agua y la atmósfera; la ebullición del CH₄ se produce como un flujo directo del sedimento a la atmosfera, teniendo un impacto limitado por la oxidación de CH₄ en la columna de agua, este proceso está relacionado con la tasa neta de producción del CH₄ en los sedimentos y la presión hidrostática (Bastviken *et al.*, 2004).

Se ha reportado que las emisiones provenientes de lagos representan del 6 al 16% de las emisiones no antropogénicas de CH₄, mientras que los ecosistemas marinos contribuyen con el 5% de dichas emisiones; sin embargo, las emisiones de CH₄ en ambientes marinos se centran en zonas costeras y plataformas continentales, contribuyendo con el 75% del total de las emisiones oceánicas (Bastviken *et al.*, 2008; Deborde *et al.*, 2010).

2.6 Ambientes costeros tropicales

Los suelos y humedales tropicales son de gran importancia en los ciclos biogeoquímicos globales de carbono y nitrógeno, considerándolos como fuentes naturales significativas de N₂O, y CH₄. Al igual estos ambientes pueden ser considerados como sumideros importantes de gases de efecto invernadero debido a sus condiciones redox en el sedimento y la columna de agua, sin embargo, las investigaciones en estos ambientes son pocos, ocasionando una falta de

información en la dinámica de producción y emisión de estos gases (Purvaja y Ramesh, 2001; Deborde *et al.*, 2010).

En los ambientes costeros tropicales la producción de CH₄ se ve favorecida debido a las altas temperaturas y al gran aporte de materia orgánica; estos ambientes también presentan fluctuaciones en las emisiones de CH₄ debido a la sucesión de estaciones húmedas y secas, lo cual se traduce en cambios de salinidad, acidez y potencial redox (Abril *et al.*, 2005; Chauhan *et al.*, 2015).

Los ambientes marinos costeros se caracterizan por la gran cantidad de materia orgánica que contienen, que es mineralizada principalmente por procesos anaerobios en el sedimento, principalmente la sulfato reducción y en menor medida la producción de CH₄, la principal razón deriva en que estos ambientes cuentan con grandes cantidades de iones de sulfato (SO₄²⁻), lo cual favorece la sulfato reducción (Torres-Alvarado *et al.*, 2013). Al igual estos ambientes presentan variaciones temporales y espaciales, relacionados con su ubicación geográfica, factores ambientales y mareas; estos ambientes son sensibles a los cambios climáticos globales y a las actividades humanas (Sun *et al.*, 2013).

Aunque en las últimas décadas los estudios relacionados con las emisiones de gases de efecto invernadero en ecosistemas costeros han aumentado, dichos estudios se han centrado principalmente en estuarios y manglares, existiendo una falta de información en ecosistemas como las lagunas costeras (Deborde *et al.*, 2010; Sun *et al.*, 2013).

Las lagunas costeras son ecosistemas de gran importancia ecológica con una alta productividad biológica y gran biodiversidad, siendo importantes nichos ecológicos. Se caracterizan por ser depresiones en la zona costera con un eje longitudinal paralelo a la costa y una conexión permanente o efímera con el mar, del que están protegidas por algún tipo de barrera. Su conformación estructural resulta de la interrelación de varios ecosistemas como el manglar, el río, el mar, los manantiales y la vegetación acuática sumergida, entre otros (Torres *et al.*, 2002; Herrera y Morales, 2010; Torres-Alvarado *et al.*, 2013).

Debido a la influencia de agua dulce y salada, son generalmente ambientes salobres, con un gradiente salino que disminuye de la comunicación con el mar hacia las desembocaduras internas de los ríos, esta conexión natural de sus fuentes de agua dulce y marina les confiere una alta variabilidad ambiental que a su vez se traduce en una alta productividad biológica, variedad de escenarios ambientales y alta biodiversidad (Herrera y Morales, 2010).

3. Antecedentes

En general los estudios sobre emisión de CH₄ se han realizado en ambientes de latitudes templadas y frías del hemisferio norte (Canadá, Estados Unidos, Finlandia y China), los cuales han incluido sistemas como lagos, ríos, estuarios, humedales y océano. La mayor parte de dichos trabajos se han llevado a cabo en lagos dulceacuícolas.

Ortíz-Llorente y Alvarez-Cobelas (2012) recopilaron información acerca de las emisiones de CH₄ por fuentes naturales, en específico ambientes acuáticos tanto dulceacuícolas como marinos (Tabla 1). A partir de la información presentada, se determinó que los mayores promedios de emisiones de CH₄ se encuentran en los lagos, seguidos por los humedales salobres; en dichos sistemas también se han realizado un mayor número de estudios en comparación con los estuarios, ríos y océano. Por otro lado, los menores promedios de emisiones de CH₄ se han reportado en los océanos.

Tabla 1. Emisiones de CH₄ en diferentes tipos de ecosistemas a nivel mundial (Ortíz-Llorente y Alvarez-Cobelas, 2012).

Emisiones de CH ₄ (mg CH ₄ /m ² /h)					
	Estuarios	Lagos	Océanos	Ríos	Humedales
Promedio	3.29	18.137	1.45	10.511	13.648
DS	11.04	35.913	9.14	19.704	26.614
CV	259	198	630	187	195
Media	0.116	5.5	0.001	3.125	5
Max	45.97	300	64.87	83.333	288
Min	0.002	0.009	1.49E-05	0.008	0.001
n	18	143	51	22	317
	Emisione	s anuales	de CH₄ (g	CH ₄ /m²/a	ño)
	Estuarios	Lagos		Ríos	Humedales
Promedio	539.327	64.296		465.266	470.072
DS	602.657	345.378		668.648	2300.428
CV	112	537		144	489
Media	370.395	1.56		162.43	18.2
Max	1620.337	2576.9		2266.37	19,044,000.00
Min	1.7	0.117		62.05	0.068
n	6	55		12	126

El área costera es una de las más productivas a pesar de que sólo cubre el 16% del océano, abarca alrededor del 75% de las emisiones oceánicas del metano (Biswas et al., 2007). En particular las zonas costeras tropicales presentan una menor cantidad de estudios enfocados a las emisiones de metano en comparación con zonas templadas y frías, dichos estudios se han desarrollado principalmente en India y Brasil, en sistemas como lagos, estuarios y manglares (Tabla 2).

Tabla 2. Estudios realizados en sistemas costeros tropicales.

Autor	País	Sitio	Flujo
Welti et al. (2017)	Australia	Estuario	CH ₄ , N ₂ O
Batsviken et al. (2010)	Brasil	Lagos	CH ₄
Furlanetto et al. (2012)	Brasil	Lago	CH ₄
Palma-Silva et al. (2013)	Brasil	Lagos	CH ₄
Vieira et al. (2007)	Brasil	Estuario	Comunidad
Furtado et al. (2002)	Brasil	Laguna costera	CH ₄
Koné <i>et al.</i> (2010)	Costa de Marfil	Rios y lagos	CH ₄
Araujo <i>et al.</i> (2018)	India	Río	CH ₄
Biswas et al. (2007)	India	Manglar	CH ₄
Chauhan et al. (2015)	India	Manglar	CH ₄ , N ₂ O
Purvaja y Ramesh (2011)	India	Ecosistemas costeros	CH ₄
Rao y Sarma (2016)	India	Estuarios	CH ₄
Verma et al. (2002)	India	Lago	CH ₄

Dentro de los estudios anteriormente mencionados, Chauhan *et al.* (2015) determinaron intervalos de 0.08 a 2.30 mg/m²/h para manglares en la India. Asimismo, reportan una correlación negativa entre la emisión de metano y la salinidad, así como la concentración de sulfatos.

Para estudios realizados en la India, Rao y Sarma (2016) midieron los flujos de metano en estuarios a lo largo de la costa, reportando una mayor emisión de metano en las costas del oeste durante las temporadas de secas y lluvias; los flujos de metano fueron de 0.01 a 298 μ mol/m²/d. Verma *et al.* (2002) midieron emisiones de metano en la laguna Vembanad en la costa de la India obteniendo intervalos de 193.2 \pm 24.5 mg/m²/h.

Para lagunas costeras en zonas templadas, Hirota *et al.* (2007) registraron flujos de metano en Japón con intervalos de 0.01 a 0.34 mg/m²/h, señalando una gran influencia de los factores temporales en los flujos, como la temperatura, profundidad y salinidad, lo cual provoca variaciones en la dinámica del metano.

Debido a las tasas de materia orgánica y nutrientes presentes en los sistemas costeros, así como las interacciones de agua marina y continental, estos presentan diversas características biogeoquímicas permitiendo llevarse a cabo una importante actividad anaerobia en los sedimentos como la metanogénesis, lo que deriva en una importante producción y emisión de CH4. Sin embargo, en México, país caracterizado por presentar lagunas costeras y manglares en sus costas, hay escasos estudios sobre la metanogénesis en zonas costeras. Dentro de los estudios realizados en México se puede mencionar el trabajo realizado por Torres-Alvarado et al. (2013, 2016) quienes evaluaron la dinámica de la comunidad de arqueas metanógenas en sedimentos de una laguna costera del Golfo de México y un estuario en la costa del Pacífico. Otros estudios se han enfocado en los flujos de gases de efecto invernadero en humedales y lagunas costeras del Golfo de México (Mendoza-Mojica et al., 2013; Marín-Muñiz et al., 2015; Chuang et al., 2017) (Tabla 3).

Tabla 3. Estudios de actividad metanogénica realizados en México.

Autor	Sitio	Estudio	-
Torres-Alvarado et al. (2013)	Lagunas costeras	Dinámica en sedimento	CH ₄
Chuang et al. (2017)	Laguna costera	Flujos	CH ₄
Mendoza-Mojica et al. (2013)	Laguna costera	Flujos	CH ₄ , CO ₂
Torres-Alvarado et al. (2016)	Laguna costera	Dinámica en sedimento	CH ₄
Marín-Muñiz et al. (2015)	Humedal	Flujos	CH ₄ , N ₂ O, CO ₂

Chuang *et al.* (2017) midieron los flujos de metano en tres lagunas costeras de la península de Yucatán encontrando intervalos de 0.0023 a 15 mM CH₄/m²/d. Por otro lado, Marín-Muñiz *et al.* (2015) compararon emisiones de CH₄, CO₂ y N₂O en marismas y pantanos durante diferentes épocas climáticas en la llanura costera de Veracruz, encontrando emisiones de 20 a 200 mg/m²/d. Mendoza-Mojica *et al.* (2013) midieron flujos de CH₄ y CO₂ en dos lagunas costeras del estado de Guerrero, Pacífico tropical, estimando flujos de 15.4 mg/m²/d y 1483.3 mg/m²/d y encontrando en una de las lagunas un equilibrio entre la captura y las emisiones de metano.

Para la laguna costera de La Mancha, Veracruz, Torres-Alvarado *et al.* (2016) analizaron los cambios temporales y espaciales de la microbiota anaerobia en el sedimento durante las épocas de lluvias y secas encontrando una mayor abundancia de bacterias sulfato reductoras en la temporada de secas, que utilizan como principales sustratos lactato y propionato, mientras que en la temporada de lluvias la abundancia metanogénica fue mayor a partir del uso de metanol.

4. Justificación

Los estuarios y lagunas costeras se caracterizan por la gran cantidad de materia orgánica que contienen, la cual es mineralizada principalmente por procesos anaerobios en el sedimento. Se pueden encontrar seis vías de descomposición de la materia orgánica, siendo la principal la sulfato reducción y en menor medida la metanogénesis. En estos ecosistemas el gradiente de salinidad origina también un gradiente de concentración de sulfatos, el cual influye en la zonación de los procesos de mineralización anaerobia mencionados anteriormente y, por lo tanto, en la dinámica de las arqueas metanógenas (Torres-Alvarado *et al.*, 2013).

En México, particularmente en la laguna costera de La Mancha se ha cuantificado la abundancia metanógena a partir de diferentes sustratos, obteniendo cambios temporales principalmente en lluvias y secas y observándose una mayor actividad hidrogenotrófica y acetoclástica en lluvias y metilotrofa en secas. Asimismo, se determinó una competencia por el acetato con bacterias sulfato reductoras, sin embargo, no se cuenta con investigaciones centradas en la cuantificación de metano producido y emitido en este sistema.

5. Preguntas de investigación

¿Cuánto metano es emitido en la laguna costera de La Mancha, Veracruz?

¿Cuánto metano es producido a partir de diferentes sustratos a partir de los sedimentos de la laguna costera de La Mancha, Veracruz?

¿Cómo se relaciona la producción y emisión de metano con las variables ambientales en la laguna de La Mancha, Veracruz?

6. Hipótesis

Las variaciones de metano producido y emitido estarán estrechamente ligadas con la dinámica de la comunidad metanógena, la cual dependerá de las características ambientales de la columna de agua y el sedimento y están reguladas por los cambios estacionales en el aporte fluvial, así como por la apertura y cierre de la boca; entonces, cuando se presente una disminución de la salinidad e incremento de la materia orgánica, con la presencia de lluvias, la producción y emisión de metano se incrementará en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

7. Objetivos

7.1 General

Evaluar la actividad metanogénica en sedimentos y cuantificar las emisiones de metano en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

7.2 Particulares

- 1. Realizar la caracterización ambiental del sistema a través de las variables fisicoquímicas en la columna de agua y sedimento de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.
- 2. Analizar la producción de metano en diferentes meses en el sedimento de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.
- 3. Analizar la emisión de metano en diferentes meses en el sedimento de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.
- 4. Relacionar la dinámica de producción y emisión de metano con las variables ambientales.

8. Métodos

8.1 Área de estudio

La laguna costera de La Mancha se ubica en la costa central del estado de Veracruz, municipio de Actopan, en la región del Golfo de México, a los 19°35´16.42´´ N y 96°23´10.88´´ O (Fig. 1). Mide aproximadamente 3 km de largo y cuenta con una superficie de 135 ha (Ruíz y López-Portillo, 2014). Presenta una morfología alargada con un estrechamiento central que divide a la laguna en dos subcuencas norte y sur (Varona-Cordero *et al.*, 2014; Arellano-Torres *et al.*, 2019).

El clima que predomina en la región es cálido subhúmedo con una temperatura promedio anual de 24.8 °C, precipitación promedio de 1700 mm/año y una tasa de evaporación de 1500 mm/año. Se caracteriza por tres épocas climáticas a lo largo del año: nortes (octubre-marzo) caracterizada por la presencia de frentes fríos, fuertes vientos, bajas temperaturas y boca cerrada; secas (marzo-junio) con mayores temperaturas, alta tasa de evaporación y boca cerrada; lluvias (junio-septiembre) con presencia de precipitaciones, aportes fluviales y escorrentía del río, altas temperaturas y boca abierta (Chávez et al., 2017; Torres-Alvarado et al., 2019). En el año predominan los vientos del este provenientes del Atlántico norte, aunque la mayor fuerza se presenta con la entrada de los frentes fríos en la época invernal.

Los principales aportes de agua al sistema son del arroyo Caño Gallegos y la marea del Golfo de México (López-Portillo *et al.*, 2009). Las mareas son mixtas, con predominancia diurna, con una amplitud de 30 a 80 cm (Contreras-Espinosa *et al.*, 2005).

Es una laguna somera y salobre, con profundidad media de 1,1 m excepto en los canales principales donde la profundidad es >2 m, su variación hidrológica depende de la apertura y cierre estacional de la boca, ubicada en la zona norte de la laguna, por la acción de las mareas, vientos y el aporte fluvial, así como por la acción de pescadores locales. Las condiciones de salinidad oscilan entre oligohalinas y polihalinas (Varona-Cordero *et al.*, 2014; Chávez *et al.*, 2017).

La vegetación característica de la región está representada por el manglar, selva baja caducifolia, vegetación de dunas costeras y pastos marinos (*Rupia marítima*) (López-Portillo *et al.*, 2009).

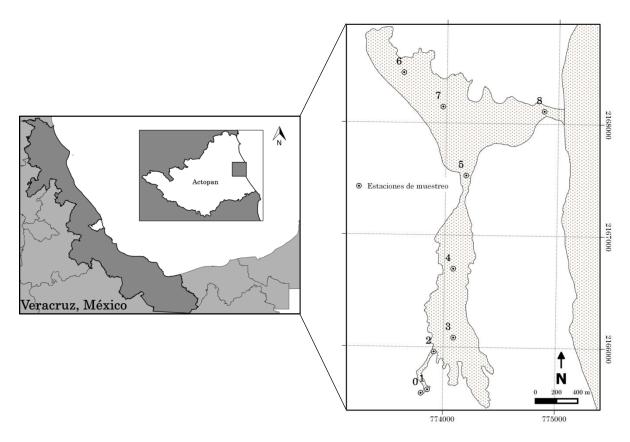


Figura 1. Localización de la laguna costera de La Mancha, Veracruz y estaciones de muestreo.

8.2 Trabajo de campo

Se establecieron ocho puntos de muestreo en la laguna costera de La Mancha, determinados por el gradiente de salinidad que se tiene en la laguna a lo largo del eje longitudinal de ésta. El muestreo se realizó en tres meses, septiembre del 2018 (lluvias, boca abierta) marzo (nortes, con el frente frío No 41, boca abierta) y junio (secas, boca cerrada) del 2019; la apertura y cierre de la boca se realiza de manera natural por las condiciones climáticas, sin embargo, en ocasiones los pescadores abren manualmente la boca de la laguna para mantener los cultivos de ostión que se tienen en ella, en el presente estudio durante el muestreo de nortes la boca se encontraba abierta por dicha actividad.

En cada estación de muestreo se midieron *in situ* las variables ambientales de temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto y potencial de óxido-reducción con una sonda multiparamétrica HI9828 Hanna Instruments México. Las mediciones fueron realizadas en superficie y fondo de la columna de agua, al igual, se midió la profundidad y transparencia con un disco de Secchi.

Se colectaron muestras de agua con una botella Van Dorn a media profundidad de la columna de agua para el análisis de nutrientes, las cuales se mantuvieron a baja temperatura (≈ 4°C) hasta su análisis en laboratorio.

Asimismo, se colectaron muestras de sedimento con una draga y se guardaron en bolsas de plástico Ziploc a baja temperatura (4°C). hasta su procesamiento en el laboratorio.

8.2.1 Emisiones

La medición de las emisiones de metano se realizó *in situ* con base en la técnica de cámaras cerradas de Rolston (1986) con modificaciones de acuerdo con González-Valencia *et al.* (2014). La técnica consiste en colocar una cámara cerrada sobre la superficie de agua durante 5 min utilizando el equipo Los Gatos Research (LGR), el cual es un analizador portátil de gases de efecto invernadero (CH₄, CO₂, H₂O) y vapor de agua. La concentración de metano dentro de la cámara se mide en función del tiempo utilizando la fórmula:

$$f = \left(\frac{V}{A}\right) \left(\frac{\Delta c}{\Delta t}\right)$$

Donde, f es la emisión de CH₄ expresada por área de superficie (mg/m²/d), V es el volumen de aire dentro de la cámara, A es el área de la superficie bajo la cámara y $\left(\frac{\Delta c}{\Delta t}\right)$ es la tasa de tiempo de cambio de la concentración de gas en el aire dentro de la cámara (Rolston, 1986).

8.3 Trabajo de laboratorio

8.3.1 Análisis fisicoquímico

Nutrientes

En las muestras de agua se analizó el contenido de nutrientes con las técnicas estandarizadas de Strickland y Parsons (1968). El amonio (NH₄+) se cuantificó por la técnica de Solórzano (1969), que se basa en la reacción con hipoclorito de sodio en presencia de fenol, formando monocloramina y un compuesto azul de indofenol, a un pH alto. Los nitritos (NO₂-) se cuantificaron por la técnica de Shinn (1941) modificado para agua de mar por Bendschneider y Robinson (1952), donde los nitritos son diazotizados por medio de sulfanilamida y el colorante azoico producido por la unión con N-1-naftil-etilen-diamina. En el caso de los nitratos (NO₃-) éstos son previamente reducidos en un 90-95% a nitritos por medio de columnas de vidrio conteniendo cadmio previamente amalgamado con cobre coloidal. El análisis de

ortofosfatos (PO₄³⁻) se basa en la reacción de los fosfatos reactivos con el molibdato de amonio en medio ácido, continuando con una reducción del ácido fosfomolíbdico a un complejo azul, mientras que el fósforo orgánico se evaluó por la técnica de Inland Waters Directore (1974), donde se lleva a cabo una hidrólisis de fosfatos condensados y la oxidación de los fosfatos orgánicos con persulfato de potasio.

Sedimentos

Se tomaron 40 ml de las muestras de sedimento y se centrifugaron a 3500 rpm durante 20 min para separar el agua intersticial del sedimento. En el agua intersticial previamente filtrada a través de membranas Millipore de 0.45 µm, se analizó el contenido de carbohidratos con el método de Dubois (1956). En el sedimento húmedo se realizó la evaluación de sólidos volátiles (SV) y sólidos fijos (SF) de acuerdo con APHA (1995). El análisis granulométrico (arenas, limos y arcillas) se llevó a cabo con el método de Folk (1974).

8.3.2 Análisis microbiológico

Experimentos de metanogénesis

Se realizaron cinéticas de crecimiento de las arqueas metanógenas para determinar la producción de metano a partir de diferentes sustratos. Las cinéticas se realizaron exclusivamente con las muestras de las estaciones 1, 5 y 7; las cuales fueron seleccionadas con base en el gradiente de salinidad medido en campo en el fondo de la columna de agua y a la textura del sedimento.

Para las cinéticas se utilizó el medio básico de Balch *et al.* (1979), el cual fue reducido mediante ebullición bajo una atmósfera de N₂, y se vaciaron 46 ml del medio en botellas serológicas, las cuales fueron posteriormente sometidas a un cambio de atmósfera durante 1 min con una mezcla de N₂/CO₂, 80% y 20% respectivamente para crear una atmósfera anaerobia; las botellas se esterilizaron en autoclave a 120°C durante 15 min.

Adicionalmente se prepararon soluciones madre de cada sustrato (acetato y metanol) y del NaSO₄ a una concentración de 1 M, la preparación de las soluciones se realizó en condiciones anaerobias, reduciéndose por ebullición bajo una atmósfera de N₂.

Para las cinéticas se realizaron seis experimentos: 1) Control, 2) Control + NaSO₄, 3) Acetato, 4) Acetato + NaSO₄, 5) Metanol y 6) Metanol + NaSO₄. Se adicionó 1 ml de cada sustrato, para obtener una concentración final de 20 mM; una vez preparadas las botellas, se inocularon con 4 ml de la muestra de sedimento y se incubaron a 30°C.

Las cinéticas de crecimiento se realizaron durante un mes, cuantificándose las concentraciones de metano en un cromatógrafo de gases GOW_MAC, con un detector de conductividad térmica (TCD), utilizando Helio como gas acarreador en las condiciones mostradas en la Tabla 4. Las mediciones fueron realizadas dos días por semana, para ello se inyectó al cromatógrafo 0.1 ml del headspace de cada botella por duplicado.

Tabla 4. Condiciones de operación del cromatógrafo de gases GOW MAC.

Analito	Gas acarreador	Columna (°C)	Detector (°C)	Inyector (°C)	Corriente (mA)	Tiempo de retención (min)
N_2						0.483
CH ₄	Helio	40 ± 2	90 ± 2	90 ± 2	120	0.753
CO ₂						1.421

8.4 Análisis estadístico

La variabilidad temporal de los parámetros ambientales y las emisiones de metano fue analizada a través de un Análisis de Varianza (ANOVA) para conocer la presencia de diferencias significativas entre las épocas climáticas. La diferencia entre grupos se observó a través un Análisis de Comparación Múltiple (ACM) utilizando la prueba de Tukey-Kramer para datos normales y Kruskal-Wallis para datos no normales; para ambos análisis, ANOVA y ACM, se estableció un nivel de significancia de p<0.05. La normalidad de los datos se determinó a partir de una prueba de Omnibus, los parámetros que no cumplían con el supuesto de normalidad fueron transformados mediante logx+1; sin embargo, algunos parámetros no cumplieron con el supuesto de normalidad posterior a la transformación y fueron tratados como datos no normales.

Se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) con los valores estandarizados de los parámetros ambientales correspondientes al fondo de la columna de agua del sistema de cada muestreo. Dicho análisis fue aplicado para conocer el aporte de cada parámetro a la variabilidad de los datos de las emisiones de metano. El ACP se realizó con una estimación robusta, matriz de correlaciones, un máximo de seis iteraciones sin estimaciones de valores perdidos y el método de Eigenvalores con un 80% de explicación de los datos.

La variabilidad espacio-temporal de los tratamientos para la actividad metanogénica fue analizada mediante un ANOVA factorial, los factores a considerar fueron: época climática, estaciones de muestreo, tratamientos y días de medición, teniendo como variable de respuesta la producción de metano; los factores fueron fijos sin comparación y con un nivel de significancia de p<0.05.

Las bases de datos fueron creadas en el programa Excel (Office 365) y los análisis se realizaron en el programa estadístico NCSS 2020, v20.0.1.

9. Resultados

9.1 Caracterización ambiental

9.1.1 Columna de agua

La laguna costera de La Mancha presentó una profundidad promedio de 1.23 m en las épocas de nortes y secas y de 0.93 m durante lluvias, en las tres épocas climáticas las mayores profundidades se registraron en las estaciones cercanas al río. La transparencia promedio de la columna de agua osciló entre los 0.56-0.73 m en lluvias y nortes, respectivamente. En las estaciones cercanas al río se registró una menor transparencia en la columna de agua.

Los valores promedio de las variables ambientales determinadas en superficie y fondo de la columna de agua para las tres épocas climáticas se presentan en la Tabla 5. Los valores de las pruebas de ANOVA así como el análisis de comparación múltiple para las variables ambientales se presentan en la Tabla 6.

Tabla 5. Características fisicoquímicas en superficie y fondo en la columna de agua de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

Variables	Lluvias	Nortes	Secas
Superficie			
Temperatura (°C)	30.26 ± 2.36	23.51 ± 1.27	31.43 ± 1.60
Salinidad (ups)	14.93 ± 11.08	15.84 ± 6.08	19 ± 7.11
рН	7.79 ± 0.43	7.37 ± 0.11	7.94 ± 0.21
Oxígeno disuelto (mg/l)	3.40 ± 1.53	6.54 ± 2.63	4.87 ± 2.30
ORP (mV)	12.74 ± 40.99	101.34 ± 47.47	98.46 ± 49.65
Fondo			
Temperatura (°C)	33.15 ± 0.94	24.07 ± 1.16	31.69 ± 0.59
Salinidad (ups)	29.91 ± 5.05	18.82 ± 2.27	21.36 ± 1.64
рН	7.56 ± 0.40	7.51 ± 0.50	7.91 ± 0.23
Oxígeno disuelto (mg/l)	2.42 ± 2.14	5.34 ± 2.71	3.58 ± 2.48
ORP (mV)	102.59 ± 136.64	42.01 ± 134.66	46.19 ± 99.66

Tabla 6. Resultados de ANOVA (F/H) y análisis de comparación múltiple (ACM) de las variables ambientales.

Variables	F/H	р	ACM
Profundidad (m)	1.1986	0.32143	
Trasparencia (m)	1.5432*	0.46228	
T Ambiente (°C)	16.9046*	0.00021	N-LI,S
Superficie			
Temperatura (°C)	15.8600*	0.00036	N <li,s< td=""></li,s<>
Salinidad (ups)	0.5203	0.60178	
рН	8.7458	0.00173	N <li,s< td=""></li,s<>
Oxígeno disuelto (mg/l)	5.9550*	0.05092	
ORP (mV)	11.8400*	0.00269	LI <n,s< td=""></n,s<>
Fondo			
Temperatura (°C)	221.5565	0	N <s<li< td=""></s<li<>
Salinidad (ups)	16.4481*	0.00027	N,S <li< td=""></li<>
рН	6.7125*	0.03487	N <s< td=""></s<>
Oxígeno disuelto (mg/l)	2.8557	0.07998	
ORP (mV)	9.9737*	0.00683	N,S <li< td=""></li<>

LI=Iluvias, N=nortes, S=secas

La temperatura tanto superficial como de fondo, fue mayor en secas y lluvias mientras que en nortes se registraron los menores valores (Fig. 2), los cambios observados fueron estadísticamente significativos tanto en la superficie (H=15.86, p=0.00036) como en el fondo (F=221.56, p=0.000) de la columna de agua. Este comportamiento estuvo relacionado con la variación de la temperatura atmosférica, la cual fue de 31.94°C y 30.11°C para secas y lluvias, respectivamente, mientras que en nortes la temperatura ambiental registró un menor promedio (22.92°C).

Espacialmente, la temperatura superficial en la columna de agua fue incrementándose para las estaciones más cercanas a la boca de comunicación con el océano. Por el contrario, la temperatura del fondo se mantuvo más homogénea a nivel espacial en las tres épocas climáticas (Fig. 3).

^{*}No normales, prueba de Kruskal-Wallis (H)

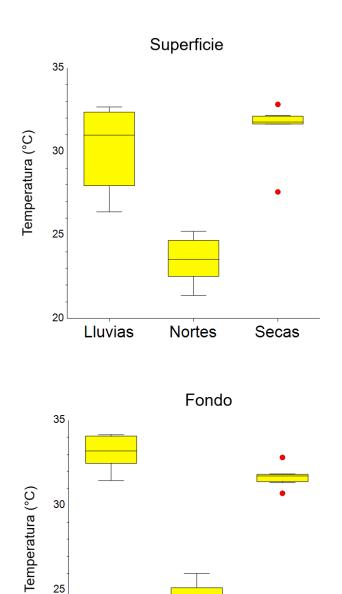


Figura 2. Variación temporal de la temperatura en superficie y fondo de la columna de agua en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

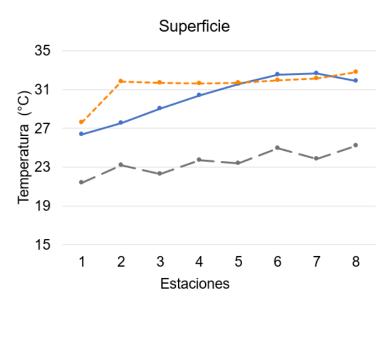
Nortes

Secas

25

20

Lluvias



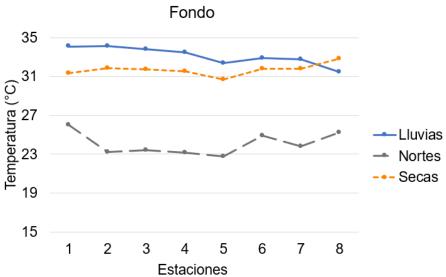


Figura 3. Variación espacial de la temperatura en superficie y fondo de la columna de agua en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

La laguna de La Mancha presentó condiciones de salinidad polihalinas (18-30 ups) en superficie durante los muestreos de nortes y secas, con intervalos de 18.57-19.99 ups y 19.55-23.23 ups respectivamente (Fig. 4). En lluvias los valores de salinidad tuvieron mayor variabilidad, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los meses de muestreo (p=0.60). Por el contrario, en el fondo de la columna de agua se determinaron diferencias significativas temporales (H=16.45, p=0.00027) con un incremento en la salinidad en lluvias, registrándose condiciones polihalinas a euhalinas (30-40 ups) con intervalos de 27.8-38.96 ups. Durante nortes y secas se presentaron condiciones polihalinas con intervalos de 19.27-19.99 y 19.59-23 ups respectivamente.

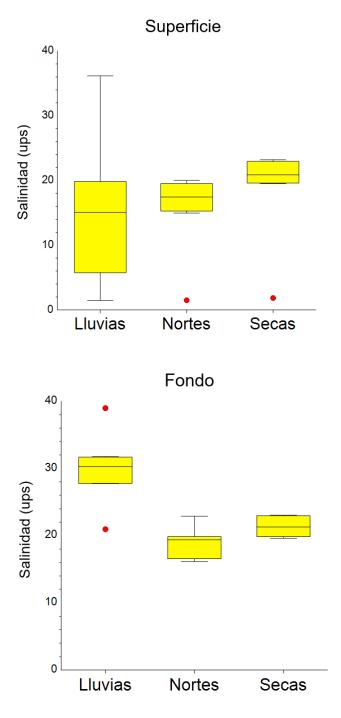


Figura 4. Variación temporal de salinidad en superficie y fondo de la columna de agua en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

Espacialmente, en lluvias se presentó un gradiente de salinidad en la superficie desde condiciones oligohalinas (0.5-5 ups) en las estaciones cercanas al río a euhalinas en las estaciones cercanas a la boca con intervalos de 1.44-36.18 ups (cabe destacar que durante esta época la boca de la laguna se mantuvo abierta). Como puede observarse a partir de la Figura 5, los valores de salinidad registrados en el fondo de la columna de agua fueron superiores a los determinados en superficie, lo cual indica que la entrada de agua marina, más densa, se desplaza por el fondo.

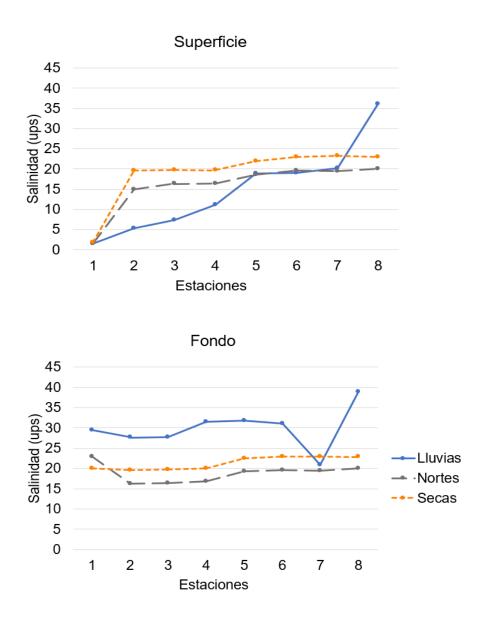


Figura 5. Variación espacial de salinidad en superficie y fondo de la columna de agua en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

El pH presentó un comportamiento similar tanto en superficie como en fondo, durante nortes se registraron condiciones cercanas a la neutralidad con promedios de 7.37 en superficie y 7.57 en fondo. Para los muestreos de lluvias y secas las condiciones de pH fueron neutras y básicas durante secas (los promedios obtenidos fueron 7.94 en superficie y 7.91 en fondo), mientras que en lluvias los promedios fueron 7.79 en superficie y 7.56 en fondo (Fig. 6). Estadísticamente se observaron diferencias significativas con los menores valores de pH en nortes en comparación con lluvias y secas, tanto en superficie (F=8.75, p=0.0017) como en fondo (H=6.71, p=0.034).

A nivel espacial, en la zona de influencia fluvial se registraron condiciones neutras de pH, las cuales cambian a básicas (mayor a pH 7) en la zona de influencia marina cerca de la boca de comunicación (Fig. 7).

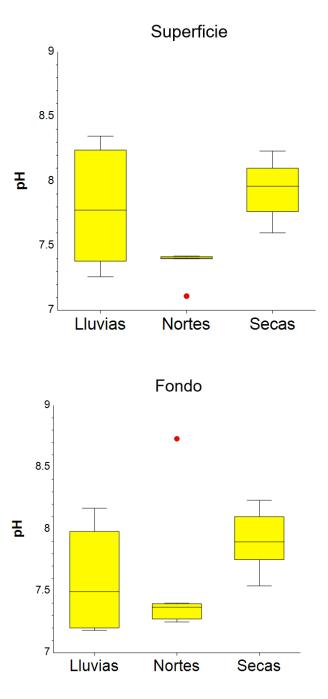
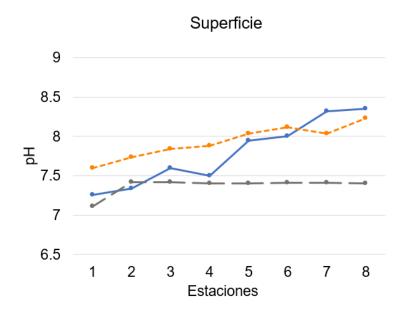


Figura 6. Variación temporal de pH en superficie y fondo de la columna de agua en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.



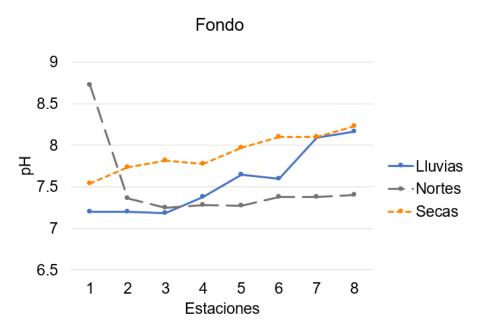
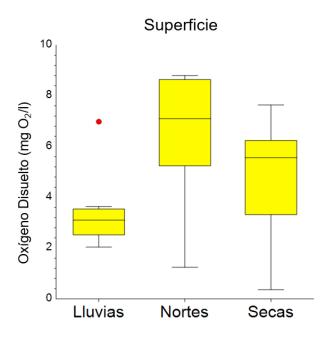


Figura 7. Variación espacial de pH en superficie y fondo de la columna de agua en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

El oxígeno disuelto en el sistema presentó un comportamiento semejante tanto en la superficie como en el fondo de la columna de agua (Fig. 8). Temporalmente, en la época de lluvias se obtuvieron las menores concentraciones, con un intervalo de 2.05-6.98 mg O₂/I. En las épocas de nortes y secas se presentó una mayor variabilidad del oxígeno disuelto, con un intervalo de 1.25-8.81 mg O₂/I en la época de nortes y de 0.37-7.65 mg O₂/I para secas. Aunque los valores registrados durante lluvias fueron menores en comparación con nortes y secas, no se encontraron diferencias significativas entre las épocas climáticas.

Espacialmente, en las tres épocas se registró un gradiente de oxígeno, que fue desde condiciones hipóxicas (superficie) y anóxicas (fondo) en las estaciones cercanas a la desembocadura del Río Caño Grande, hasta condiciones óxicas (>4 mg O₂/l) en la zona cercana a la boca de la comunicación marina (Fig. 9).



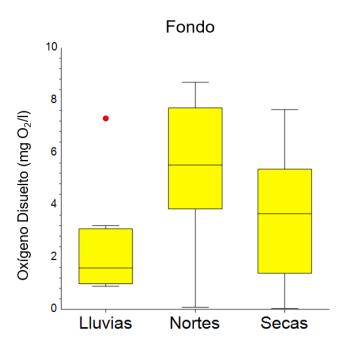
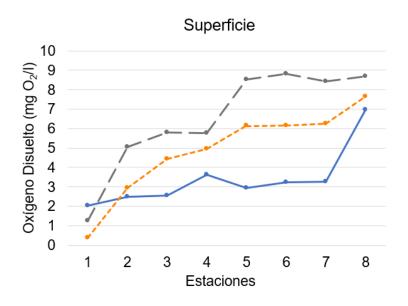


Figura 8. Variación temporal del oxígeno disuelto en superficie y fondo de la columna de agua en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.



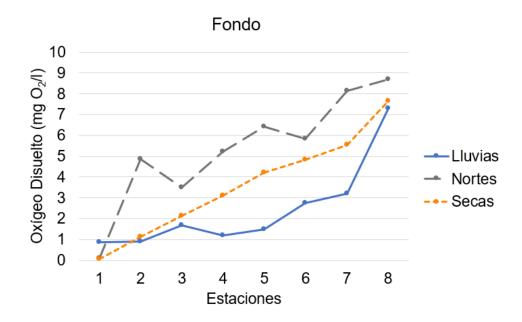
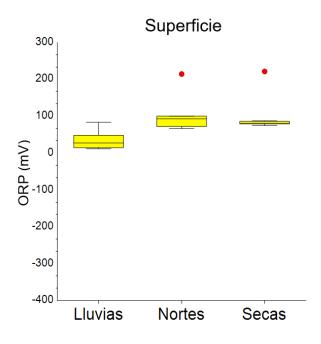


Figura 9. Variación espacial del oxígeno disuelto en superficie y fondo de la columna de agua en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

El potencial redox (ORP) tuvo un comportamiento similar en superficie y fondo de la columna de agua durante las épocas de nortes y secas con características oxidantes. Por el contrario, en lluvias se registraron condiciones reductoras en el fondo de la columna de agua (Fig. 10). Asimismo, se observaron diferencias significativas en lluvias con respecto a nortes y secas, tanto en superficie como en fondo con valores de H=11.84, p=0.0027 y H=9.97, p=0.006, respectivamente.

Espacialmente, los valores de potencial redox fueron más homogéneos en las tres épocas en la superficie en comparación con el fondo (con valores que presentaron tendencia a condiciones oxidantes), mientras que en el fondo se observa un gradiente químico de características reductoras en la zona de influencia fluvial que se modifica a características ligeramente oxidantes en la zona de influencia marina (Fig. 11).



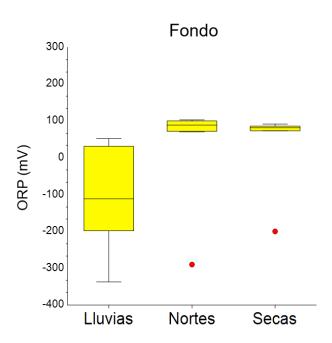
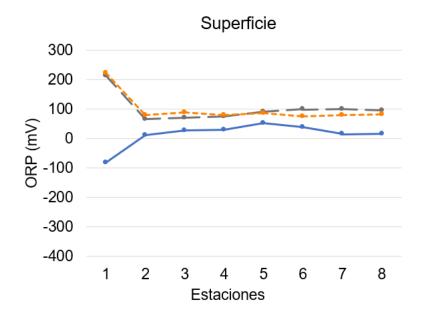


Figura 10. Variación temporal del ORP en superficie y fondo de la columna de agua en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.



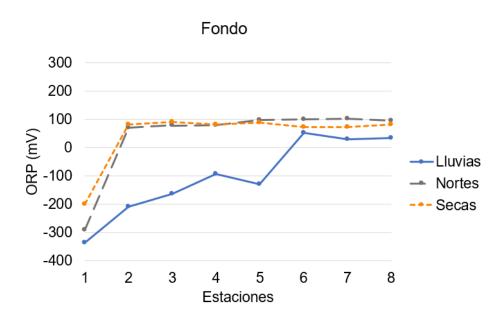


Figura 11. Variación espacial del ORP en superficie y fondo de la columna de agua en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

9.1.2 Nutrientes

Las concentraciones promedio de los diferentes nutrientes analizados se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Concentración promedio de nutrientes en las tres épocas climáticas en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

Nutrientes	Lluvias	Nortes	Secas
NH ₄ ⁺ (mg/l)	0.130 ± 0.105	0.067 ± 0.046	0.082 ± 0.054
NO_2^- (mg/l)	0.019 ± 0.016	0.024 ± 0.039	0.020 ± 0.012
$NO_2^-+NO_3^-$ (mg/l)	0.023 ± 0.024	0.056 ± 0.061	0.029 ± 0.013
PO ₄ ³⁻ (mg/l)	0.124 ± 0.1	0.171 ± 0.053	0.171 ± 0.026
P org (mg/l)	0.314 ± 0.215	0.122 ± 0.042	0.237 ± 0.064

Las mayores concentraciones de amonio (NH_4^+) se registraron en lluvias (0.13 mg/l); siendo menores durante nortes (0.067 mg/l) y secas (0.082 mg/l). Espacialmente, la estación donde desemboca el río Caño Grande presentó los valores más bajos en las tres épocas (0.03 mg/l).

Los valores de nitritos (NO_2^-) en los tres muestreos fueron similares, con un intervalo de promedios de 0.019-0.024 mg/l. Para el caso de los nitritos + nitratos (NO_2^- + NO_3^-), las mayores concentraciones se registraron en nortes con un promedio de 0.056 mg/l.

En cuanto a los ortofosfatos, las mayores concentraciones se reportaron en nortes y secas con un promedio de 0.171 mg/l en ambas estaciones. Para el fósforo orgánico los mayores valores se registraron durante lluvias con un promedio de 0.14 mg/l, mientras que en nortes se registraron las menores concentraciones promedio (0.122 mg/l) (Fig. 12).

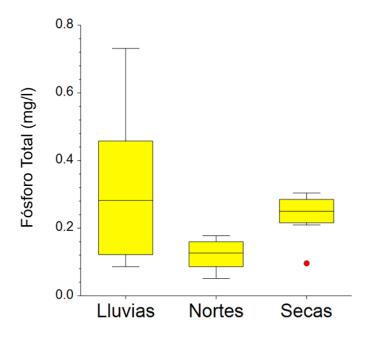


Figura 12. Variación temporal de fósforo total en la columna de agua en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

A partir de los resultados de las pruebas de ANOVA, así como del ACM (Tabla 8), no se encontraron diferencias significativas temporales entre las concentraciones de los nutrientes, con excepción del fósforo orgánico (H=7.6550, p=0.02176).

Tabla 8. Resultados de ANOVA (F/H) y análisis de comparación múltiple (ACM) para los nutrientes analizados.

Nutriente	F/H	р	ACM
NH ₄ (mg/l)	1.5743	0.2306	
NO_2^- (mg/l)	1.4381*	0.48721	
$NO_2^-+NO_3^-$ (mg/l)	2.8387*	0.24187	
PO ₄ ³⁻ (mg/l)	3.4778*	0.17572	
P org. (mg/l)	7.6550*	0.02176	N <li,s< td=""></li,s<>

LI=Iluvias, N=nortes, S=secas

^{*}No normales, prueba de Kruskal-Wallis (H)

9.1.3 Sedimento

En la Tabla 9 se muestran los valores promedio de las variables fisicoquímicas del sedimento, así como el análisis granulométrico de la laguna en las tres épocas climáticas. Los valores de las pruebas estadísticas para dichas variables se observan en la Tabla 10.

Tabla 9. Variables ambientales del sedimento de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

Variables	Lluvias	Nortes	Secas
Sólidos volátiles (g/l)	49.89 ± 19.37	11.03 ± 6.08	9.16 ± 3.06
Sólidos fijos (g/l)	50.1 ± 19.36	88.96 ± 6.08	90.83 ± 3.06
Carbohidratos (mg/l)	6.27 ± 3.44	5.05 ± 2.33	4.73 ± 2.09
Arena (%)	20.61 ± 32.85	20.78 ± 33.64	19.85 ± 33.54
Limo (%)	30.25 ± 18.37	22.56 ± 16.99	25.99 ± 19.16
Arcilla (%)	53.66 ± 24.76	56.65 ± 26.63	54.16 ± 25.95

Tabla 10. Resultados del ANOVA (F/H) y análisis de comparación múltiple (ACM) para los sedimentos de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

Variables	F/H	р	ACM
Sólidos volátiles (g/l)	11.35*	0.0034	LI>N,S
Sólidos fijos (g/l)	11.34*	0.0034	LI <n,s< td=""></n,s<>
Carbohidratos (mg/l)	2.07	0.1548	
Arena (%)	0.16*	0.9253	
Limo (%)	0.3582	0.7031	
Arcilla (%)	0.24*	0.8867	

LI=Iluvias, N=nortes, S=secas

Temporalmente se registró una mayor concentración de sólidos volátiles durante lluvias (promedio de 49.8 g/l), en comparación con nortes y secas donde el contenido disminuyó. Las diferencias entre los meses de muestreo fueron significativas (H=11.35, p=0.0034). Por otro lado, para los sólidos fijos, los valores fueron inversos a los sólidos volátiles, es decir, las mayores concentraciones se cuantificaron en secas y nortes, con 90.83 g/l y 88.96 g/l respectivamente (Fig. 13).

^{*}No normales, prueba de Kruskal-Wallis (H)

Estas diferencias fueron también estadísticamente significativas (H=11.34, p=0.0034).

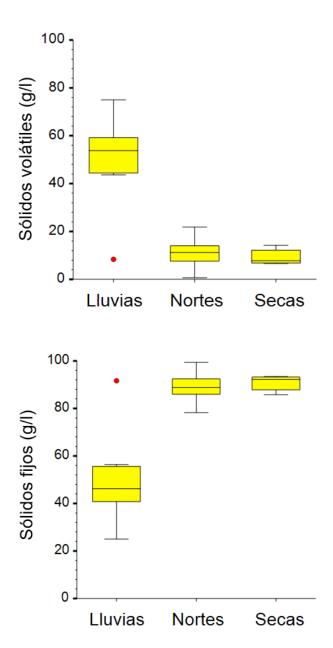


Figura 13. Variación temporal de sólidos volátiles y fijos en el sedimento de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

Espacialmente, en la época de lluvias, la concentración de sólidos volátiles disminuyó a lo largo del eje de la laguna, encontrándose los mayores valores en las estaciones cercanas al río y disminuyendo hacia la conexión con el mar. Mientras, la concentración de los sólidos fijos presentó un comportamiento inverso al de los sólidos volátiles, aumentando en estaciones cercanas a la boca de la laguna (Fig. 14). Durante nortes y secas las concentraciones de sólidos fijos y volátiles fueron más constantes, sin embargo, se observó la misma tendencia que en la época de lluvias.

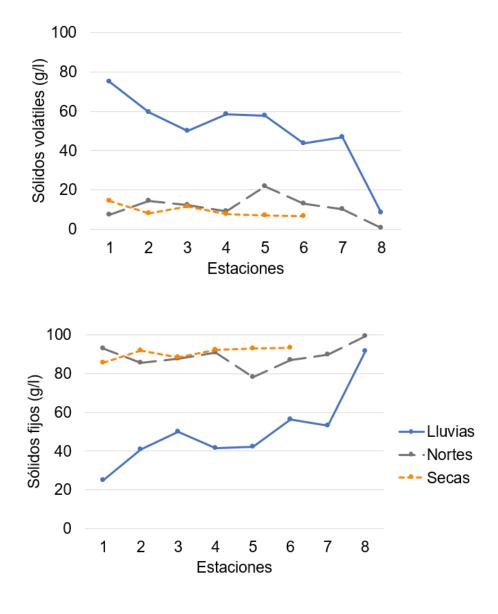


Figura 14. Variación espacial del porcentaje de sólidos volátiles y fijos en el sedimento de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

En cuanto a la concentración de carbohidratos, en la época de lluvias se obtuvo un mayor promedio (6.27 mg/l), disminuyendo en nortes y presentando los menores valores en secas (Fig. 15); no se observaron diferencias significativas para esta variable.

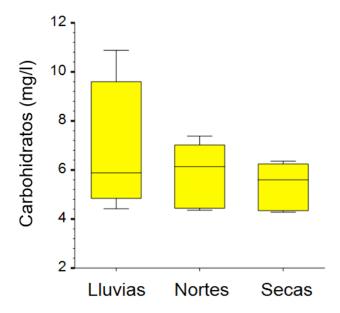


Figura. 15. Variación temporal de la concentración de carbohidratos en el sedimento de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

El comportamiento espacial de la concentración de carbohidratos se observa en la Figura 16. Durante lluvias, las mayores concentraciones se registraron en las estaciones cercanas al río (10.89 mg/l) y disminuyeron hacia la zona marina de la laguna (4.42 mg/l); en nortes las concentraciones de carbohidratos oscilaron en un intervalo de 4.37 a 7.38 mg/l, aumentando hacia la boca de la laguna; en secas las mayores concentraciones se reportaron en las estaciones al sur de la laguna y en el estrechamiento de ésta. Para las tres épocas climáticas, las concentraciones de carbohidratos fueron nulas en la estación donde la laguna se comunica con el mar.

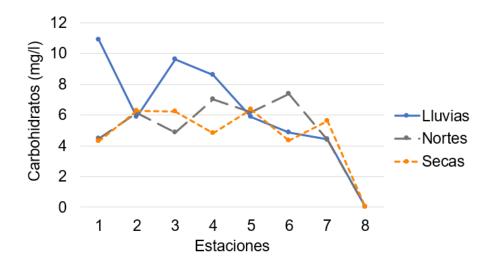
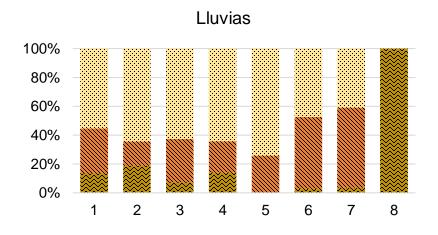
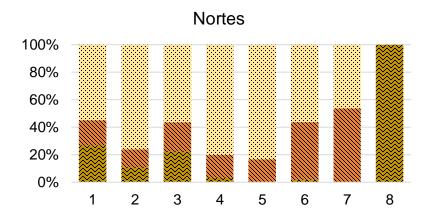


Figura 16. Variación espacial de la concentración de carbohidratos en el sedimento de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

El análisis granulométrico de los sedimentos indicó que el principal tipo de grano presente en la laguna durante las tres épocas climáticas fueron las arcillas, con una presencia mayor al 50%; en un menor porcentaje estuvieron los limos (22-30%) y las arenas (20%). Temporalmente, en nortes se registró el mayor porcentaje de arcillas (56.65%) seguido por secas y lluvias con 54.15% y 53.66% respectivamente. La presencia de limos fue mayor en lluvias (30%), mientras que en nortes y secas se obtuvieron promedios de 22.56% y 26%, respectivamente. El porcentaje de arenas fue similar en las tres épocas muestreadas, con promedios del 20% (Fig. 17). Sin embargo, estadísticamente no se obtuvieron diferencias significativas del tipo de sedimento entre los meses muestreados.





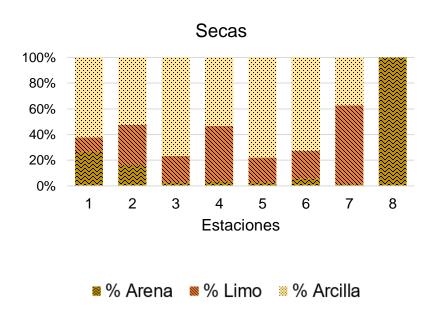


Figura 17. Análisis granulométrico del sedimento de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

Espacialmente, las arcillas y los limos se registraron en todas las estaciones de muestreo, excepto en la boca de comunicación de la laguna con el mar, donde predominaron las arenas, con un 100% en comparación con el resto de las estaciones, donde su presencia fue menor al 30%.

9.2 Producción de metano (CH₄)

Se observó la producción de metano en todos los tratamientos aplicados a las cinéticas para evaluar la mineralización de acetato y metanol en los sedimentos de la laguna costera de La Mancha para las épocas de lluvias y secas. En la Tabla 11 se presentan los valores máximos y promedios de la producción de metano para cada tratamiento en las épocas de lluvias (boca abierta) y secas (boca cerrada) en las estaciones de muestreo 1, 5 y 7, así como las pendientes de la fase de crecimiento de dichas cinéticas, mientras que en la Tabla 12 se muestran los resultados del análisis de varianza factorial entre épocas, tratamientos, estaciones y días de medición de la producción de CH₄.

Tabla 11. Valores máximos de producción de metano y valores de pendiente de la fase de crecimiento para cada tratamiento con los sedimentos de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

Época	Estación	Producción de CH ₄			Tra	atamiento		
Ероса	EStacion	(µmol CH₄/ml _{sed})	Control	Control+SO ₄ ²⁻	Acetato	Acetato+SO ₄ ²⁻	Metanol	Metanol+SO ₄ ²⁻
		Promedio	0.20	0.07	0.18	0.12	0.19	0.15
	1	Valor máx.	0.29	0.11	0.31	0.23	0.35	0.2
		Pendiente	0.01	0.01	0.01	0.01	0.03	0.03
		Promedio	0.17	0.15	0.19	0.13	0.21	0.15
Lluvias	5	Valor máx.	0.27	0.23	0.29	0.22	0.34	0.19
		Pendiente	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.03
		Promedio	0.15	0.08	0.18	0.11	0.23	0.18
	7	Valor máx.	0.3	0.15	0.34	0.2	0.41	0.27
		Pendiente	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02
	_	Promedio	0.10	0.08	0.12	0.09	0.11	0.10
	1	Valor máx.	0.15	0.13	0.17	0.14	0.16	0.14
		Pendiente	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
		Promedio	0.10	0.08	0.10	0.06	0.12	0.08
Secas	5	Valor máx.	0.16	0.12	0.16	0.11	0.17	0.12
		Pendiente	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
		Promedio	0.10	0.09	0.09	0.09	0.12	0.07
	7	Valor máx.	0.15	0.14	0.16	0.13	0.19	0.12
		Pendiente	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

Tabla 12. Análisis de Varianza factorial para las cinéticas de producción de CH₄.

Factor Término	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F	р
A: Época	0.33	0.33	525.67	0.000000*
B: Estación	0.00	0.00	0.22	0.805020
AB: Época/Estación	0.01	0.01	7.43	0.000753*
C: Tratamiento	0.19	0.04	63.62	0.000000*
AC: Época/Tratamiento	0.05	0.01	16.81	0.000000*
BC: Estación/Tratamiento	0.43	0.00	4.35	0.000014*
D: Días	0.02	0.14	220.46	0.000000*
AD: Época/Días	1.09	0.01	20.46	0.000000*
BD: Estación/Días	0.10	0.00	1.29	0.206545
CD: Tratamiento/Días	0.01	0.00	4.49	0.000000*

^{*}Término significativo en alfa = 0.05

Con base en los resultados obtenidos, se cuantificó una mayor producción de metano en los sedimentos en la temporada de lluvias (promedio $0.16~\mu mol~CH_4/ml_{sed}$) en comparación con secas ($0.09~\mu mol~CH_4/ml_{sed}$) (Fig. 18); a partir del análisis de varianza factorial se encontraron diferencias significativas en la producción de metano entre las dos épocas (F=525.67, p=0.0000).

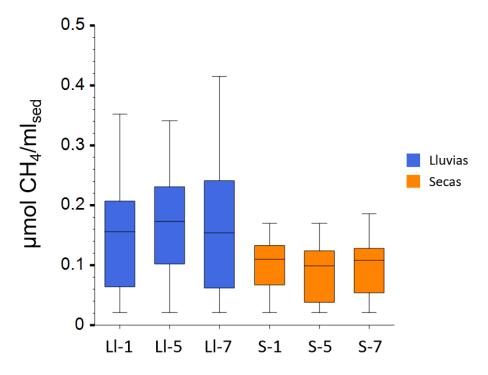


Figura 18. Variación temporal de producción de CH₄ en la laguna costera de La Mancha, Veracruz. LI= Iluvias; S= secas. Estaciones 1, 5 y 7.

Si bien el término época-estación presentó diferencias significativas (F=7.43, p=0.0007), espacialmente, las estaciones dentro de cada época no mostraron diferencias significativas (F=0.22, p=0.80).

En cuanto a los tratamientos, se observó que en todos éstos la producción de metano se incrementó en el tiempo, y en los tratamientos donde no se adicionó SO₄²⁻ la producción de CH₄ se incrementó en comparación con los tratamientos donde se agregó SO₄²⁻ (Fig. 19). Las diferencias entre los tratamientos en presencia o ausencia de SO₄²⁻ fueron significativas (F=63.62, p=0.0000). Aunado a lo anterior, cuando se utilizó metanol como sustrato, la producción de CH₄ aumentó, mientras que en el control+SO₄²⁻ se registraron las menores producciones de CH₄.

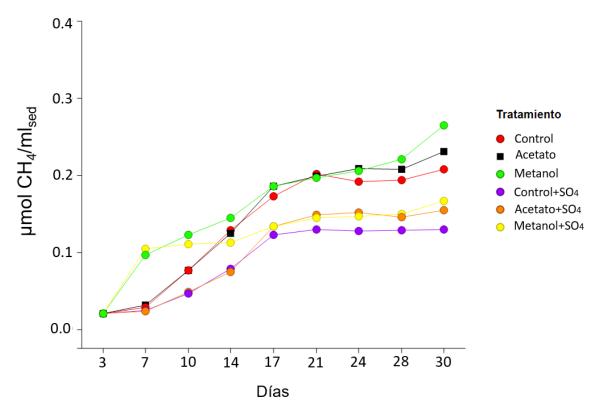


Figura 19. Actividad cinética a partir de los tratamientos empleados en los sedimentos de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

Con respecto a los cambios estacionales en la utilización de sustratos, con el factor de época-tratamiento, se encontraron diferencias significativas en la actividad cinética (F=16.81, p=0.0000).

En la época de lluvias, la mayor producción de metano se cuantificó a partir del metanol, con un promedio de $0.21~\mu$ mol CH₄/ml_{sed} y un valor máximo de $0.41~\mu$ mol CH₄/ml_{sed}, este último registrado en la estación 7 (próxima a la boca de comunicación de la laguna con el mar). El tratamiento con acetato y su control respectivo, presentaron valores de producción similares y la menor producción para esta época se evaluó en el control con SO₄²⁻, con un promedio de $0.10~\mu$ mol CH₄/ml_{sed} (Fig. 20).

En la época de secas la producción de CH₄ fue similar en los seis tratamientos ensayados, con promedios de 0.08 a 0.12 μmol CH₄/ml_{sed}. Este comportamiento no mostró diferencias significativas entre los tratamientos para esta época (H=23.66, p=0.12884).

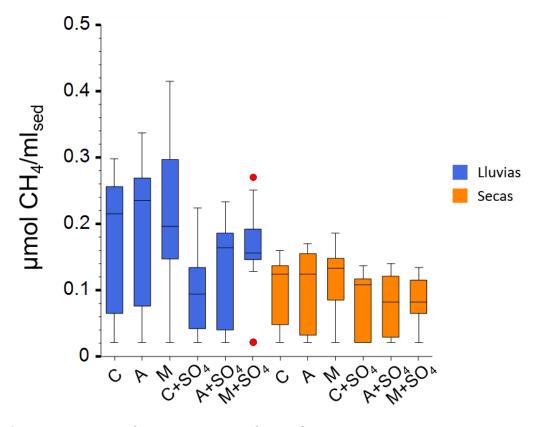


Figura 20. Variación de la producción de CH₄ en los seis tratamientos en las épocas de lluvias y secas en la laguna costera de La Mancha, Veracruz. C= control, C+SO₄²⁻= control+sulfato, A= acetato, A+SO₄²⁻= acetato+sulfato, M= metanol, M+SO₄²⁻= metanol+sulfato.

Con base en las pendientes de la fase de crecimiento, se observó una producción temprana de metano en el tratamiento con metanol y una mayor producción en los primeros cinco días de las cinéticas (Fig. 19), tratamiento que también presentó los mayores valores de pendientes durante esta fase, lo cual indica que el metanol fue el sustrato con mayor aprovechamiento, sugiriendo que la principal vía metabólica en el sistema es la metanogénesis metilótrofa (Tabla 11). La producción similar de CH₄ entre las tres estaciones puede indicar una homogeneidad en las poblaciones metanógenas presentes en los sedimentos de la laguna costera de La Mancha.

9.3 Emisiones de gases a la atmósfera

En la Tabla 13 se presentan los valores promedio de las emisiones de metano y dióxido de carbono para las tres épocas climáticas, observándose un comportamiento inverso, ya que las emisiones de CH₄ se incrementaron en lluvias y descendieron en secas. Al contrario, ocurrió con el CO₂, cuyas emisiones fueron más altas en secas y las más bajas se registraron en lluvias. Los valores de las pruebas de ANOVA, así como el análisis de comparación múltiple para las emisiones de CH₄ y CO₂, se presentan en la Tabla 14.

Tabla 13. Emisiones de CH₄ y CO₂ en las tres épocas climáticas en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

Emisiones	Lluvias	Nortes	Secas
CH ₄ (mg/m ² /d)	16.0 ± 21.77	2.63 ± 1.91	0.55 ± 0.55
CO_2 (g/m ² /d)	0.51 ± 0.62	3.77 ± 1.69	6.43 ± 3.34

Tabla 14. Resultados de las pruebas de ANOVA (F) y análisis de comparación múltiple (ACM) de las emisiones de CH₄ y CO₂.

Emisiones	F/H	р	ACM
CH ₄ (mg/m ² /d)	8.655	0.00181	LI>S
CO_2 (g/m ² /d)	14.6902	0.0001	LI <s< td=""></s<>

LI=Iluvias, N=nortes, S=secas

^{*}No normales, prueba de Kruskal-Wallis (H)

9.3.1 Emisiones de metano (CH₄)

En lluvias las emisiones de metano fueron superiores que en nortes y secas, siendo estadísticamente significativas la diferencia (F=8.655 y p=0.00181), hubo, además, una mayor variabilidad en las emisiones, con intervalos de 0.8-65 mg/m²/d (Fig 21). Espacialmente, en las tres épocas climáticas las emisiones de metano fueron disminuyendo desde la desembocadura del río Caño Grande hacia la zona de la comunicación marina de la laguna (Fig. 22).

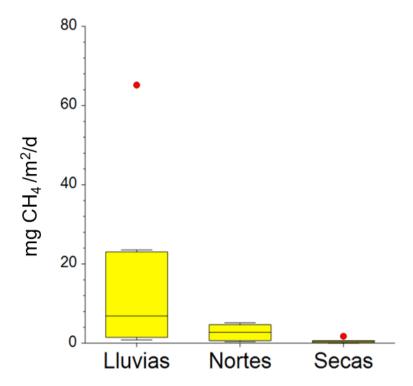


Figura 21. Variación temporal de las emisiones de CH₄ en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

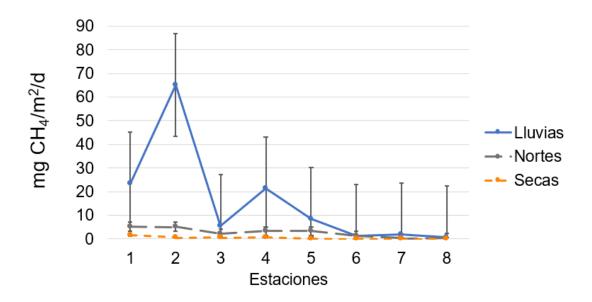


Figura 22. Variación espacial de las emisiones de CH₄ en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

9.3.2 Emisiones de dióxido de carbono (CO₂)

En la temporada de secas se registraron los mayores valores de emisiones de CO₂ con un promedio de 6.43 g/m²/d, con intervalos de 2.16-11.8 g/m²/d. Por el contrario, en lluvias se presentó el menor promedio de emisiones con 0.5 g/m²/d, las diferencias fueron estadísticamente significativas (F=14.6902, p=0.00010) (Fig. 23). Espacialmente, en las tres épocas climáticas las emisiones de CO₂, al igual que en el caso del metano, disminuyeron conforme aumenta la influencia marina cercana a la boca de la laguna (Fig. 24).

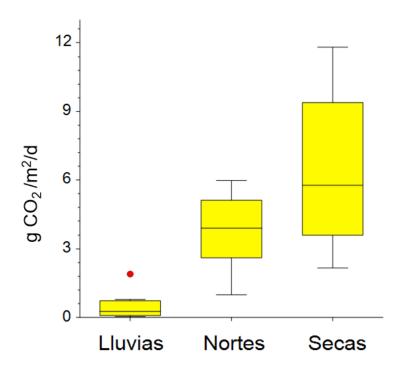


Figura 23. Variación temporal de las emisiones de CO₂ en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

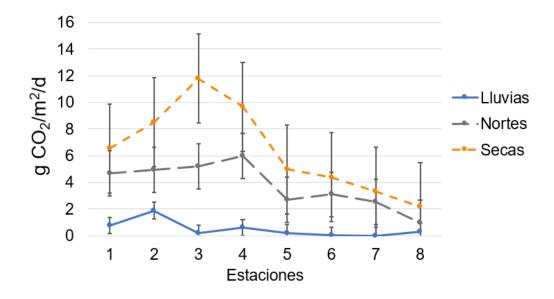


Figura 24. Variación espacial de las emisiones de CO₂ en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

9.4 Análisis estadístico.

Análisis de Componentes Principales (ACP)

El ACP permitió obtener las correlaciones entre las variables fisicoquímicas evaluadas para el fondo de la columna de agua, el sedimento y las emisiones de CH₄ y CO₂ (Tabla 15). Dicho análisis mostró que las emisiones de CH₄ se encuentran correlacionadas positivamente con la temperatura, las concentraciones de carbohidratos y sólidos volátiles, así como con el porcentaje de arcilla en el sedimento; Se determinó también una mayor correlación negativa con el oxígeno disuelto y el ORP (Tabla 15).

Tabla 15. Correlaciones de las variables fisicoquímicas en la columna de agua y sedimento de la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

Variable -	ones	Columna de agua					Sedimentos						
Variable	CH₄	CO ₂	рН	Temp	OD	Sal	ORP	Carb	sv	SF	Arena	Limo	Arcilla
CH₄	1	-0.25	-0.36	0.32	-0.41	0.33	-0.56	0.31	0.63	-0.34	-0.07	-0.08	0.22
CO ₂	-0.25	1	0.13	-0.17	-0.19	-0.6	0.28	0.05	-0.54	0.48	-0.25	-0.08	0.32
рН	-0.36	0.13	1	0.23	0.03	0.13	0.05	-0.49	-0.43	-0.03	0.25	-0.04	-0.37
Temp	0.32	-0.17	0.23	1	-0.49	0.63	-0.4	0.13	0.49	-0.55	0.03	0.17	-0.1
OD	-0.41	-0.19	0.03	-0.49	1	-0.2	0.71	-0.57	-0.56	0.12	0.43	-0.14	-0.53
Sal	0.33	-0.6	0.13	0.63	-0.2	1	-0.44	0	0.55	-0.39	0.25	-0.04	-0.23
ORP	-0.56	0.28	0.05	-0.4	0.71	-0.44	1	-0.39	-0.64	0.31	0.04	0.04	-0.23
Carb	0.31	0.05	-0.49	0.13	-0.57	0	-0.39	1	0.58	-0.16	-0.75	0.43	0.79
SV	0.63	-0.54	-0.43	0.49	-0.56	0.55	-0.64	0.58	1	-0.47	-0.29	0.26	0.34
SF	-0.34	0.48	-0.03	-0.55	0.12	-0.39	0.31	-0.16	-0.47	1	-0.05	-0.26	0.16
Arena	-0.07	-0.25	0.25	0.03	0.43	0.25	0.04	-0.75	-0.29	-0.05	1	-0.65	-0.83
Limo	-0.08	-0.08	-0.04	0.17	-0.14	-0.04	0.04	0.43	0.26	-0.26	-0.65	1	0.18
Arcilla	0.22	0.32	-0.37	-0.1	-0.53	-0.23	-0.23	0.79	0.34	0.16	-0.83	0.18	1

p=0.0000

Para los componentes principales, el Componente Principal 1 (CP1) se integró por ocho variables, principalmente las emisiones de gases (CH₄ y CO₂) y las variables del fondo de la columna de agua (temperatura, salinidad, ORP y oxígeno disuelto), así como los sólidos volátiles y sólidos fijos en el sedimento. El Componente Principal 2 (CP2) se conformó por cuatro variables correspondientes a las características granulométricas del sedimento (% de arcilla, % de limo, %de arena) y el pH. En la Tabla 16 se presentan los eigenvalores y el porcentaje de varianza que explican cada uno de los factores, el ACP indica que hasta el CP2 se explica la variación del 59.37% de los datos analizados.

Tabla 16. Eigenvalores y porcentaje de varianza de los factores del ACP.

Componente	Total	Porcentaje de la varianza	Porcentaje acumulado
1	4.53	34.84	34.84
2	3.19	24.53	59.37
3	1.47	11.32	70.69
4	1.45	11.13	81.82
5	0.65	5.04	86.85
6	0.51	3.95	90.81
7	0.40	3.06	93.87
8	0.37	2.81	96.68
9	0.19	1.43	98.12
10	0.10	0.75	98.86
11	0.08	0.62	99.48
12	0.06	0.46	99.94
13	0.01	0.06	100.00

En la Figura 25 se presenta el patrón espacial de las estaciones de acuerdo con la ordenación de los componentes principales 1 y 2. Durante la época de lluvias se presentó una mayor variabilidad de los datos correspondientes a las variables ambientales que conforman el CP1, dicha variabilidad se correlacionó positivamente con las emisiones de CH4, la temperatura, el porcentaje de sólidos volátiles y el gradiente de salinidad en el sistema. En la época de nortes se observa un conjunto de datos más definido, durante dicha temporada se presentó menor variabilidad en los datos, obteniéndose correlaciones positivas con las emisiones de CO2, gradiente de la concentración de oxígeno disuelto y el porcentaje de sólidos fijos. En la época de secas, el conjunto de observaciones se encuentra más disperso y definido por el CP2, con gradientes en el pH, emisiones de CO2 y porcentaje de sólidos fijos.

La estación 1, tanto en nortes como en secas, presentó un comportamiento similar a la variabilidad de datos correspondiente en lluvias. Por otro lado, la estación 8 presentó un comportamiento semejante durante las tres épocas muestreadas, caracterizándose por tener mayores emisiones de CO₂, pH alcalino, un 100% de arena en el sedimento y emisiones bajas de CH₄.

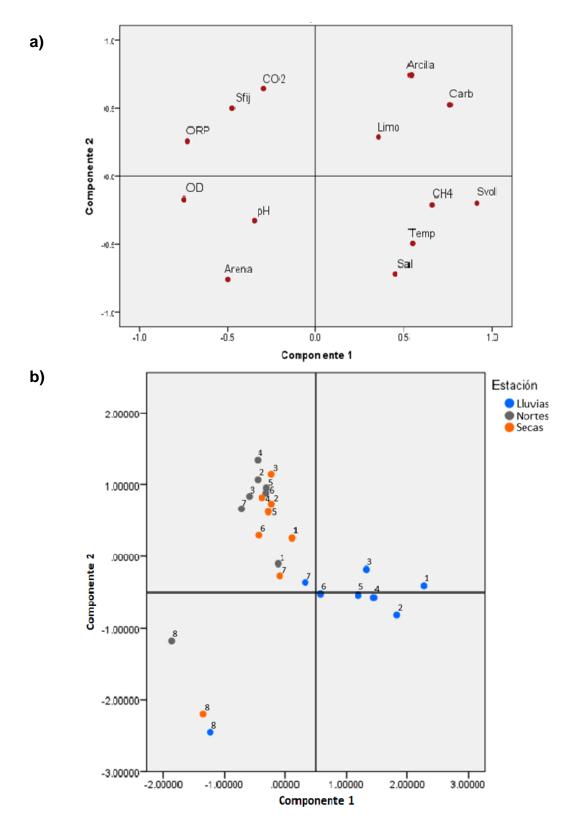


Figura 25. Análisis de Componentes Principales. a) Correlaciones de las variables b)Diagrama de ordenación de las estaciones para los CP1 y CP2 en las épocas climáticas analizadas en la laguna costera de La Mancha, Veracruz.

10. Discusión

10.1 Caracterización ambiental

El comportamiento ambiental de la laguna de La Mancha reflejó los cambios estacionales de las épocas climáticas de la región: secas, lluvias y nortes.

En lo que respecta a la temperatura, los valores que se obtuvieron siguen el patrón reportado en la literatura para el área de estudio (López-Portillo *et al.*, 2009; Ruíz y López-Portillo, 2014; Torres-Alvarado *et al.*, 2016; Arellano-Torres *et al.*, 2019).

La estación climatológica No 30353 de la Comisión Nacional del Agua ubicada en la zona de la laguna costera de La Mancha registró temperaturas atmosféricas máximas de 40°C en los meses de mayo a julio, los cuales corresponden con la época de secas, misma en la que se obtuvieron las máximas temperaturas en la laguna. La Mancha al ser una laguna tropical, registra la mayor insolación durante el verano (Ruíz y López-Portillo, 2014).

Los valores que se obtuvieron para La Mancha siguen el patrón reportado por Cabello-Pasini *et al.* (2002) en la laguna costera Estero de Punta Banda en Baja California, México quienes registraron mayores temperaturas a finales de verano (septiembre-octubre) y a estudios realizados en la India en manglares y estuarios, reportando mayores temperaturas durante lluvias de verano (Biswas *et al.*, 2007; Chauhan *et al.*, 2015), mientras que en nortes se han registrado las menores temperaturas para sistemas costeros tropicales en México (Mendoza-Mojica *et al.*, 2013; Torres-Alvarado *et al.*, 2013; Marín-Muñiz *et al.*, 2015; Chuang *et al.*, 2017).

La presencia de gradientes químicos dinámicos de los ecosistemas costeros tropicales es el resultado del balance entre el aporte de agua dulce y marina, así como de su variación estacional, que en conjunto influyen en las características fisicoquímicas de estos ambientes (Biswas *et al.*, 2007; Duck y da Silva, 2012).

La salinidad es una variable importante en los sistemas costeros y puede ser considerada como un factor de estrés en el ambiente, ya que altera los ciclos biogeoquímicos especialmente en los sedimentos, donde también afecta la biomasa y comunidad microbiana (Chambers *et al.*, 2011; Tong *et al.*, 2017).

Las variaciones temporales de salinidad en la laguna de La Mancha obedecieron al incrementar el aporte de agua dulce por el río Caño Grande durante la época de lluvias, sumado a las mayores precipitaciones que se registraron entre junio y septiembre, siendo agosto el mes con la mayor precipitación (273 mm) (CONAGUA, 2020), lo que en conjunto determinó un descenso de la salinidad. Por el contrario, la evaporación fue la causa del incremento de la salinidad durante secas (Arellano-Torres *et al.*, 2019). Asimismo, la dinámica de apertura y cierre de la boca de la laguna, también influyó en la salinidad del sistema.

Duck y da Silva (2012) mencionan que, en las lagunas costeras, a nivel espacial, la salinidad puede variar desde agua dulce hasta valores euhalinos, dependiendo de las condiciones climáticas y la conexión con el mar. Durante la temporada de lluvias se pudo observar dicho gradiente en la laguna de La Mancha y al igual que en otros sistemas, se observaron zonas marcadas de salinidad, agua dulce desde los afluentes (Río Caño Grande), agua salobre en el centro y condiciones euhalinas en la boca de la laguna. Araujo *et al.* (2018) registraron la existencia de un gradiente semejante, pero en secas en un estuario en la India. Aunado a lo anterior, en la laguna se presentó un gradiente vertical de la salinidad, caracterizado por una masa de agua de menor salinidad en la superficie y una de mayor salinidad y densidad que se desplaza por el fondo.

Estudios previos realizados en la laguna de La Mancha reportan intervalos de salinidad similares a los obtenidos en el presente estudio, así como la variabilidad estacional y gradientes mencionados (López-Portillo *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2012; Ruíz y López-Portillo, 2014; Torres-Alvarado *et al.*, 2016).

La variabilidad del pH en los sistemas costeros depende del aporte de agua dulce, la entrada de agua marina y de la actividad biológica que se llevan a cabo en el ecosistema, principalmente por la fotosíntesis y respiración, los cuales aumentan y disminuyen, respectivamente, los valores de pH. La dinámica de estos factores da como resultado condiciones ligeramente ácidas al haber un mayor aporte de agua dulce y condiciones alcalinas.

En la laguna de La Mancha el comportamiento del pH estuvo relacionado con la salinidad. Durante la época de secas, la existencia de condiciones alcalinas obedeció al aumento de salinidad, por el ingreso de agua marina (Provoost *et al.,* 2010; Carstensen y Duarte, 2019). La influencia del agua marina sobre el pH también se observó en las estaciones cercanas a la boca de comunicación con el océano, donde se registraron características alcalinas.

Los valores de pH se encontraron dentro de los intervalos reportados para ecosistemas costeros en el Golfo de México (Mendoza-Mojica *et al.*, 2013; Torres-Alvarado *et al.*, 2013; Marín-Muñiz *et al.*, 2015; Torres-Alvarado *et al.*, 2016).

Aunado al gradiente de salinidad, en la laguna costera La Mancha se presentó un gradiente de oxígeno disuelto en el fondo de la columna de agua, con condiciones anóxicas y subóxicas en la conexión con el río y características óxicas en las inmediaciones a la boca de la laguna, esto puede explicarse por el aporte de materia orgánica derivado del escurrimiento terrestre y por el ingreso de hojarasca del manglar, el cual es más abundante en la zona de influencia fluvial. El aporte de materia orgánica favorece los procesos metabólicos de mineralización aerobia, disminuyendo las concentraciones de oxígeno disuelto en estas zonas. También el aporte de materia orgánica aumenta la turbidez en la columna disminuyendo los procesos de producción primaria y favoreciendo la metanogénesis (Biswas *et al.*, 2007; Koné *et al.*, 2010).

El potencial de oxido-reducción es un indicador de las condiciones de óxidoreducción de los ecosistemas, es un regulador de los elementos químicos, controlando su solubilidad, como el caso de los iones de H⁺; el ORP generalmente presenta una alta correlación, inversamente proporcional, con los valores de pH (Hambrick *et al.*, 1980; Jayawardana *et al.*, 2011).

Las variaciones de potencial de oxido-reducción en La Mancha también estuvieron relacionadas con las temporadas climáticas, registrándose condiciones reductoras en lluvias, las cuales estuvieron asociadas a mayor concentración de sólidos volátiles y carbohidratos, pH neutros y condiciones anóxicas en el fondo de la columna de agua; mientras que en nortes y secas prevalecieron condiciones más oxidantes, con menor concentración de materia orgánica, pH alcalinos y mayor concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua.

Los nutrientes en sistemas costeros son de gran importancia ya que determinan la tasa de procesos biológicos como la producción primaria y son considerados como indicadores de procesos de eutrofización. Al ser sistemas con variaciones estacionales se observan fluctuaciones en las concentraciones de nutrientes (Contreras *et al.*, 1996).

Las concentraciones de nutrientes obtenidas fueron, sin embargo, menores a las registradas por Contreras-Espinoza *et al.* (2005) para la laguna costera de La Mancha (aunque se encontró el mismo comportamiento), observándose menores concentraciones de formas nitrogenadas y mayores concentraciones de fósforo y ortofosfatos. Sólo se encontraron diferencias temporales en las concentraciones de fósforo las cuales fueron mayores durante lluvias. Por otro lado, aunque no se encontraron diferencias, el aumento de amonio (NH₄+) durante lluvias también ha sido registrado para estos sistemas por el aporte de agua dulce (Chambers *et al.*, 2013).

Las concentraciones de fósforo en sistemas costeros se ven afectados por la entrada externa al sistema mediante aportes fluviales y por el reciclaje interno en el sistema, al igual el potencial de oxido-reducción se considera como un factor importante en el control de la liberación del fósforo de los sedimentos, aumentando las concentraciones de este en condiciones reductoras (Li *et al.*, 2016).

Los sedimentos en los ecosistemas costeros se ven influenciados por la presencia de vegetación, la acción de las mareas, los vientos y los aportes dulceacuícola y marino. Estos factores contribuyen a modificar la textura del sedimento, su potencial redox, la concentración de materia orgánica y nutrientes (Sebastián y Chacko, 2006; De Moraes *et al.*, 2014; Pradhan *et al.*, 2020).

Uno de los principales factores que influyen en las características de los sedimentos de los ecosistemas costeros, es la presencia de ríos que desembocan en éstos, permitiendo no sólo la entrada de agua dulce sino también de materia orgánica y nutrientes, (Dan et al., 2021). El mayor aporte de agua dulce en la época de lluvias se ha asociado con un incremento en los sólidos volátiles y carbohidratos en el sedimento de esta laguna costera (Torres- Alvarado et al., 2016)

En un estudio similar de Torres-Alvarado *et al.* (2013) en dos lagunas costeras tropicales en la zona del Pacífico, se registraron mayores concentraciones de sólidos volátiles en la época de lluvias y menores en secas mientras que los carbohidratos presentaron poca variabilidad.

En cuanto a las características de la textura del sedimento, se han mencionado que, en los ecosistemas costeros, son comunes los limos y las arcillas en sedimentos superficiales de zonas cercanas a manglares y ríos, mientras que zonas cercanas al mar predominan las arenas. Esta distribución granulométrica fue determinada en La Mancha, observándose sedimentos más finos en zonas cercanas al río y manglar mientras que las arenas aumentaron hacia la boca de la laguna.

En la laguna costera La Mancha la textura predominante en los sedimentos fueron las arcillas (>50%) y en menor porcentaje las arenas. Dan *et al.* (2021) analizaron la textura de sedimentos en una bahía costera subtropical encontrando un mayor porcentaje de limo (59.36%) seguido de arcilla (30%) y en menor porcentaje arenas (10%). Estudios realizados en estuarios y lagunas costeras tropicales han reportado un mayor porcentaje de arenas en estos sistemas en comparación con lo obtenido en La Mancha (Sudhanandh *et al.*, 2011; Calva-Benítez y Torres-Alvarado, 2011; Torres-Alvarado *et al.*, 2016).

10.2 Dinámica metanogénica

La producción y emisión de metano en un ecosistema dependen de factores abióticos (variables fisicoquímicas) y bióticos, entre estos últimos destacan la actividad metanogénica y la metanotrofía.

La metanogénesis está presente en la laguna costera de La Mancha, como lo demuestran las cuantificaciones de la producción y emisión de metano en todos los meses y estaciones analizadas. Esta actividad fue favorecida por las condiciones fisicoquímicas existentes tanto en la columna de agua como en el sedimento: temperatura, pH, ORP, niveles de oxígeno, concentraciones de fósforo orgánico, contenido orgánico (sólidos volátiles y carbohidratos), así como sedimentos limo-arcillosos.

La metanogénesis se desarrolla en valores óptimos de temperatura entre 35°C y 42°C, y se presenta en un amplio intervalo de pH, con valores de 5.6 a 10 (Van Leerdam *et al.*, 2008a; Nazaries *et al.*, 2013; Tong *et al.*, 2017). Asimismo, requiere de ORP reductores, alrededor de -200 mV, debido a que las concentraciones de oxígeno disuelto son menores y se favorecen los procesos anaerobios (Hambrick *et al.*, 1980; Jayawardana *et al.*, 2011;). Estas condiciones estuvieron presentes en la laguna de La Mancha.

A pesar de que la laguna de La Mancha registra una importante actividad metanogénica, la dinámica de ésta se caracterizó por cambios temporales, asociados a las diferentes épocas climáticas, así como por variaciones espaciales; que en conjunto estuvieron determinadas por la temperatura y el balance entre los aportes dulceacuícolas y marinos a la laguna.

La fluctuación en la temperatura, salinidad y condiciones fisicoquímicas determinaron los cambios en la producción y emisión de metano (CH₄) y bióxido de carbono en la laguna costera de La Mancha.

En la temporada de lluvias, la producción y emisión de metano aumentaron, relacionándose con un incremento de la temperatura, una disminución de la salinidad, ORP reductores y mayor contenido de componentes orgánicos.

En relación con la producción de metano, se ha establecido que en los ambientes tropicales las tasas de producción son mayores porque la temperatura acelera los procesos metabólicos (St. Louis *et al.*, 2000; González-Valencia *et al.*, 2014).

En lo que respecta a la salinidad, el incremento del aporte de agua dulce en lluvias favorece la producción de metano al disminuir la salinidad y la concentración de sulfatos, permitiendo también la entrada de materia orgánica y nutrientes al ecosistema, lo que influye en el depósito de biomasa y en los procesos de mineralización (Chambers *et al.*, 2013).

La influencia de los sulfatos sobre la metanogénesis fue evaluada en los experimentos de mineralización, determinándose en aquellos donde se adicionaron sulfatos, un descenso en la producción de metano, lo que puede atribuirse a la competencia por sustratos, particularmente por el acetato, entre las arqueas metanógenas y las bacterias sulfato reductoras (Biswas *et al.*, 2011). En presencia de sulfatos, la sulfato reducción domina la descomposición de la materia orgánica por ser un metabolismo energéticamente más favorable que la metanogénesis, disminuyendo o suprimiendo la actividad de las arqueas metanógenas (Pattnaik *et al.*, 2000; Waldron *et al.*, 2007; Chambers *et al.*, 2011; Poffenbarger *et al.*, 2011). Chambers *et al.* (2011) observaron una reducción de 70-90% en la producción total de CH₄ en tratamientos adicionados con agua de mar conteniendo sulfatos. En la laguna costera de La Mancha, la presencia de bacterias sulfato reductoras fue demostrada por Torres-Alvarado *et al.* (2016).

No obstante, lo anterior, en ambientes marinos y salobres se ha observado que la metanogénesis se lleva a cabo utilizando como sustratos compuestos metilados que las bacterias sulfato reductoras no utilizan en su metabolismo; al igual, la metanogénesis metilotrofa es favorecida en condiciones euhalinas, bajo las cuales la metanogénesis acetoclástica no se lleva a cabo (Potter *et al.*, 2009).

Aunque la actividad metanogénica se observó en todos los tratamientos de los experimentos de mineralización, se determinó una producción de CH₄ temprana en los tratamientos adicionados con metanol, así como los mayores picos de producción a partir de dicho sustrato, por lo cual la principal vía de la metanogénesis en los sedimentos de la laguna de La Mancha es la metilotrofa. Se ha observado que, en el caso de biorreactores inoculados con sedimento estuarino, al agregar metanol aumenta la actividad metanogénica y la biomasa en el sedimento (Van Leerdam *et al.*, 2008a). La mayor producción de CH₄ al utilizar metanol como sustrato se registró durante la época de lluvias. Torres-Alvarado *et al.* (2016) también reportaron una mayor producción de CH₄ en los tratamientos con metanol en esta misma época.

La producción de CH₄ tanto con acetato como con metanol, sugiere cambios en las vías metabólicas (Potter *et al.*, 2009). Edmonds *et al.* (2009) atribuyen cambios en la producción de CH₄ dependiendo de las vías metabólicas metanogénicas, sugiriendo que las especies dominantes en sedimentos de ecosistemas costeros tienen múltiples estrategias metabólicas posibles para adaptarse a un entorno variable y que pueden apoyarse en interacciones con otras especies.

En la laguna de La Mancha el incremento en las emisiones de CH₄ también estuvo relacionado con una mayor temperatura. En diversos estudios se ha determinado que existe una correlación positiva entre esta variable y las emisiones de CH₄ (Levipan *et al.*, 2007; Poffenbarger *et al.*, 2011; Verma *et al.*, 2012). Asimismo, se han encontrado correlaciones significativas entre las emisiones de metano y la latitud en la que se encuentra el ecosistema, observándose un incremento en las emisiones de CH₄ en zonas tropicales, mientras que las mismas disminuyen conforme la latitud aumenta hacia los polos (Batsviken *et al.*, 2004; Chauhan *et al.*, 2015).

A partir de la dinámica metanogénica se estimó una emisión anual de 3.15 t/ha de CH_4 en la superficie de la laguna costera de La Mancha con promedios de $16.0 \pm 21.77 \text{ mg/m}^2/\text{d}$ en lluvias, $2.63 \pm 1.91 \text{ mg/m}^2/\text{d}$ en nortes y $0.55 \pm 0.55 \text{ mg/m}^2/\text{d}$ en secas, dichas emisiones fueron mayores a las recopiladas por Ortiz-Llorente y

Alvarez-Cobelas (2012) para océanos y similares a la producción en estuarios, pero menores a los ecosistemas de agua dulce. En comparación con estudios realizados en humedales del Golfo de México, las emisiones de la laguna costera de La Mancha fueron menores a lo registrado por Marín-Muñiz *et al.* (2015) quienes obtuvieron emisiones de 1244.4 mg/m²/d en lluvias, 671.2 mg/m²/d en nortes y 44.1 mg/m²/d en secas, si bien las emisiones registradas en este estudio fueron menores, el comportamiento entre estudios fue similar, con un incremento de las emisiones de CH₄ durante lluvias.

En los ecosistemas costeros las mayores concentraciones de CH₄ generalmente se observan cerca de las zonas de afluencia de agua continental, el aporte de aguas continentales a las lagunas costeras a través de los ríos durante la época de lluvias conlleva la entrada de sedimento, materia orgánica y nutrientes al sistema, lo cual estimula la metanogénesis y reduce las concentraciones de sulfatos en la columna de agua (Koné *et al.*, 2010; Borrel *et al.*, 2011). Los resultados de Verma *et al.* (2002) y Rao y Sarma (2016) también señalan la época de lluvias como la de mayor emisión de metano. Las emisiones registradas en la temporada de lluvias fueron superiores a los intervalos obtenidos por Hirota *et al.* (2007), de 0.01 a 0.34 mg/m²/h.

Además de la disminución de la salinidad en lluvias, las emisiones de CH₄ en esta época estuvieron asociadas a pH neutros y valores de ORP promedio de –100 mV, resultados que fueron similares a los obtenidos por Marín-Muñiz *et al.* (2015) para humedales costeros en el Estado de Veracruz. Mendoza-Mojica *et al.* (2013) señalan que en las lagunas tropicales se mantiene una relación positiva entre las emisiones de CH₄ y el contenido de materia orgánica y nutrientes que ingresan al ecosistema por los aportes fluviales, importantes en la temporada de lluvias. En cuanto a los nutrientes, el fósforo total y el carbono orgánico son las variables más útiles para describir las emisiones de CH₄ (Batsviken *et al.*, 2004).

En la temporada de secas, la producción y emisión de metano disminuyeron, relacionándose con un aumento de la salinidad, mayores concentraciones de oxígeno disuelto en el fondo de la columna de agua, ORP oxidantes y menor contenido de componentes orgánicos. En los ecosistemas costeros en condiciones

de mayor salinidad y contenido de sulfatos, se ha reportado una menor actividad metanogénica (Tong *et al.*, 2017), debido a que las arqueas metanógenas compiten por sustratos con las bacterias sulfato reductoras.

Aunado a lo anterior, la temporada de secas se caracterizó por presentar un incrementó en las emisiones de CO₂. Uno de los factores que afectan la variación de las emisiones de CO₂ es la disponibilidad de oxígeno en los ecosistemas, ya que la tasa de descomposición de la materia orgánica se acelera y la producción de CO₂ aumenta, mientras que las emisiones de CH₄ disminuyen (Marin-Muñiz *et al.*, 2015).

Las emisiones de CO₂, fueron similares a lo reportado por Marin-Muñiz *et al.* (2015) quienes también registraron mayores emisiones de CO₂ en la época de secas (11.25 g/m²/d) y menores en lluvias (3.85 g/m²/d) para humedales tropicales. En su estudio señalan una relación positiva entre las emisiones de CO₂ y el potencial redox del sedimento con condiciones oxidantes (+256 mV), lo cual también se corresponde con las características ambientales de La Mancha.

Inubushi *et al.* (2003) también reportaron mayores emisiones de CO₂ en secas en una turbera tropical en el sur de Kalimantan, debido a que se redujo la actividad metanogénica por las condiciones aerobias del sedimento.

Mendoza-Mojica *et al.* (2013) cuantificaron emisiones de CH₄ y CO₂ en dos lagunas costeras tropicales, encontrando mayores emisiones de CO₂ (95 a 5585 mg/m²/d) en comparación con el CH₄ (1 a 97 mg/m²/d) y atribuyendo dicha variación a la influencia de la salinidad y la temperatura, encontrando una relación positiva entre las emisiones de CO₂ con aguas cálidas polihalinas debido a una menor solubilidad del CO₂ que resulta en un incremento en las tasas de emisiones a la atmósfera.

11. Conclusiones

La laguna costera de La Mancha presentó variaciones ambientales anuales como resultado de la influencia de las diferentes épocas climáticas y del balance entre el aporte de agua dulce y marina al sistema.

La época de lluvias presentó altas temperaturas, un gradiente de salinidad y de oxígeno disuelto, valores neutros y básicos de pH, así como una mayor concentración de sólidos volátiles y carbohidratos.

La época de nortes se caracterizó por la presencia de frentes fríos, causando un descenso tanto en la temperatura ambiental como en la columna de agua, se registraron condiciones mesohalinas y polihalinas en la columna de agua y condiciones óxicas con valores neutros de pH.

La época de secas presentó las mayores temperaturas, condiciones polihalinas en la columna de agua, valores de pH básicos, la presencia de un gradiente de oxígeno disuelto y las menores concentraciones de carbohidratos y sólidos volátiles.

La actividad metanogénica estuvo presente en las tres épocas climáticas con diferencias estacionales en la laguna costera de La Mancha, registrando las mayores emisiones y producciones durante la época de lluvias, y siendo menores en secas.

Las estaciones ubicadas en el Río Caño Grande y cercanas al mismo presentaron las mayor producción y emisión de CH₄ y se caracterizaron por ser oligohalinas con intervalos de oxígeno disuelto cercanos a la anoxia, altas temperaturas y mayores concentraciones de carbohidratos, sólidos volátiles y fósforo.

En la actividad cinética, los tratamientos libres de sulfatos presentaron la mayor producción de CH₄, siendo el metanol el principal sustrato con un aprovechamiento en los primeros días de las cinéticas.

Se registraron emisiones de CO_2 en la laguna de La Mancha, las cuales fueron superiores a las emisiones de CH_4 y tuvieron un comportamiento inverso a la dinámica metanogénica.

12. Perspectivas futuras

El presente estudio aporta información de las características temporales para las variables ambientales de la laguna costera de La Mancha, Veracruz, así como una contribución al conocimiento de la actividad metanogénica que se desarrolla en el sistema, tanto para la producción de metano en el sedimento como el aporte de emisiones de metano a la atmósfera. A partir de los resultados obtenidos se plantean las siguientes propuestas para investigaciones futuras:

- Análisis de cinéticas para la época de nortes, complementando de esta manera el conocimiento de la producción de metano en el sistema a lo largo del año.
- Caracterizar a la comunidad de arqueas metanógenas presentes en el sistema a través de análisis molecular.
- Realizar muestreos con repetición en las variables ambientales con el fin de poder detallar los estudios espaciales mediante análisis estadísticos a lo largo de las estaciones de muestreo del sistema.

13. Bibliografía

Abril, G., Guérin, F., Richard, S., Delmas, R., Galy-Lacaux, C., Gosse, P., & Matvienko, B. (2005). Carbon dioxide and methane emissions and the carbon budget of a 10-year-old tropical reservoir (Petit Saut, French Guiana). *Global Biogeochemical Cycles*, *19*, 1-16.

An, A. K., Tyagi, V. K., Kumar, M., & Cetecioglu, Z. (2022). Methanotrophic bacterial biorefineries: resource recovery and GHG mitigation through the production of bacterial biopolymers. In *Clean energy and resource recovery: wastewater treatment plants as biorefineries, Volume* 2 (pp 155-178). Elsevier.

APHA, AWWA and WEF. 1995. Standard Methods for the Examination of Water, wastewater and Sewage. 19th ed. APHA. Inc., Washington DC.

Araujo, J., Pratihary, A., Naik, R., Naik, H., & Naqvi, S. W. A. (2018). Benthic fluxes of methane along the salinity gradient of a tropical monsoonal estuary: Implications for CH₄ supersaturation and emission. *Marine Chemistry*, 202, 73-85.

Arellano-Torres, E., Correa-Metrio, A., López-Dávila, D., Escobar, J., Curtis, J. H., & Cordero-Oviedo, M. C. (2019). Mid to late Holocene hydrological and sea-level change reconstructions from La Mancha coastal lagoon, Veracruz, Mexico. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 520*, 150-162.

Balch, W. E., Fox, G. E., Magrum, L. J., Woese, C. R., & Wolfe, R. S. (1979). Methanogens: reevaluation of a unique biological group. *Microbiological Reviews*, *43*(2), 260-296.

Bapteste, É., Brochier, C., & Boucher, Y. (2005). Higher-level classification of the Archaea: evolution of methanogenesis and methanogens. *Archaea*, 1(5), 353-363.

Bastviken, D., Cole, J., Pace, M., & Tranvik, L. (2004). Methane emissions from lakes: Dependence of lake characteristics, two regional assessments, and a global estimate. *Global Biogeochemical Cycles*, *18*, 1-12.

Bastviken, D., Cole, J. J., Pace, M. L., & Van de Bogert, M. C. (2008). Fates of methane from different lake habitats: Connecting whole-lake budgets and CH₄ emissions. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, *113*(G2), 1-13.

Bastviken, D., Santoro, A. L., Marotta, H., Pinho, L. Q., Calheiros, D. F., Crill, P., & Enrich-Prast, A. (2010). Methane emissions from Pantanal, South America, during the low water season: toward more comprehensive sampling. *Environmental Science & Technology*, *44*(14), 5450-5455.

Bendschneider, K. & R. J. Robinson. (1952). A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea-water. *Journal of Marine Research*, *11*, 87-96.

Biswas, H., Mukhopadhyay, S. K., Sen, S., & Jana, T. K. (2007). Spatial and temporal patterns of methane dynamics in the tropical mangrove dominated estuary, NE coast of Bay of Bengal, India. *Journal of Marine Systems*, *68*, 55-64.

Borrel, G., Jézéquel, D., Biderre-Petit, C., Morel-Desrosiers, N., Morel, J. P., Peyret, P., & Lehours, A. C. (2011). Production and consumption of methane in freshwater lake ecosystems. *Research in Microbiology*, *162*(9), 832-847.

Bridgham, S. D., Cadillo-Quiroz, H., Keller, J. K., & Zhuang, Q. (2013). Methane emissions from wetlands: biogeochemical, microbial, and modeling perspectives from local to global scales. *Global Change Biology*, *19*(5), 1325-1346.

Cabello-Pasini, A., Lara-Turrent, C., & Zimmerman, R. C. (2002). Effect of storms on photosynthesis, carbohydrate content and survival of eelgrass populations from a coastal lagoon and the adjacent open ocean. *Aquatic Botany*, *74*(2), 149-164.

Calva-Benítez, L. G., & Torres-Alvarado, R. (2011). Carbono orgánico y características texturales de sedimentos en áreas del pasto marino *Thalassia testudinum* en ecosistemas costeros del sureste del Golfo de México. *Universidad y Ciencia*, 27(2), 133-144.

Carstensen, J., & Duarte, C. M. (2019). Drivers of pH variability in coastal ecosystems. *Environmental Science & Technology*, *53*(8), 4020-4029.

Chambers, L. G., Reddy, K. R., & Osborne, T. Z. (2011). Short-term response of carbon cycling to salinity pulses in a freshwater wetland. *Soil Science Society of America Journal*, *75*(5), 2000-2007.

Chambers, L. G., Osborne, T. Z., & Reddy, K. R. (2013). Effect of salinity-altering pulsing events on soil organic carbon loss along an intertidal wetland gradient: a laboratory experiment. *Biogeochemistry*, *115*(1-3), 363-383.

Chauhan, R., Datta, A., Ramanathan, A. L., & Adhya, T. K. (2015). Factors influencing spatio-temporal variation of methane and nitrous oxide emission from a tropical mangrove of eastern coast of India. *Atmospheric Environment*, *107*, 95-106.

Chávez, V., Mendoza, E., Ramírez, E., & Silva, R. (2017). Impact of inlet management on the resilience of a coastal lagoon: La Mancha, Veracruz, Mexico. *Journal of Coastal Research*, 77, 51-61.

Chen, Y. H., & Prinn, R. G. (2006). Estimation of atmospheric methane emissions between 1996 and 2001 using a three-dimensional global chemical transport model. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, *111*(D10), 1-25.

Chuang, P. C., Young, M. B., Dale, A. W., Miller, L. G., Herrera-Silveira, J. A., & Paytan, A. (2017). Methane fluxes from tropical coastal lagoons surrounded by mangroves, Yucatán, Mexico. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 122(5), 1156-1174.

Comisión Nacional del Agua. (2020). *Resúmenes mensuales de temperaturas y lluvias*. Disponible en: https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias.

Contreras, F., Castañeda, O., Torres-Alvarado, R., & Gutiérrez, F. (1996). Nutrientes en 39 lagunas costeras mexicanas. *Revista de Biología Tropical*, 417-425.

Contreras-Espinosa, F., Rivera-Guzmán, N. E., & Segura-Aguilar, R. (2005). Nutrientes y productividad primaria fitoplanctónica en una laguna costera tropical intermitente (La Mancha, Ver.) del Golfo de México. *Hidrobiológica*, *15*(3), 299-310.

Costa, K. C., & Leigh, J. A. (2014). Metabolic versatility in methanogens. *Current Opinion in Biotechnology*, *29*, 70-75.

Dan, S. F., Li, S., Yang, B., Cui, D., Ning, Z., Huang, H., Zhou, J., & Yang, J. (2021). Influence of sedimentary organic matter sources on the distribution characteristics and preservation status of organic carbon, nitrogen, phosphorus, and biogenic silica in the Daya Bay, Northern South China Sea. *Science of The Total Environment*, 783, 146899.

De Moraes, P. C., Franco, D. C., Pellizari, V. H., & Sumida, P. Y. G. (2014). Effect of plankton-derived organic matter on the microbial community of coastal marine sediments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *461*, 257-266.

Deborde, J., Anschutz, P., Guérin, F., Poirier, D., Marty, D., Boucher, G., & Abril, G. (2010). Methane sources, sinks and fluxes in a temperate tidal Lagoon: the Arcachon lagoon (SW France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *89*(4), 256-266.

Deng, L., Liu, Y., & Wang, W. (2020). Anaerobic Digestion Microorganisms. In *Biogas Technology* (pp. 1-29). Springer Nature, Singapore.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, *28*(3), 350-356.

Duck, R. W., & da Silva, J. F. (2012). Coastal lagoons and their evolution: a hydromorphological perspective. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *110*, 2-14.

Edmonds, J. W., Weston, N. B., Joye, S. B., Mou, X., & Moran, M. A. (2009). Microbial community response to seawater amendment in low-salinity tidal sediments. *Microbial Ecology*, *58*(3), 558-568.

Folk, R.L. (1974). *Petrology of Sedimentary Rocks. Hempill* Pub. Co., Austin, Texas, 82p. Gastil, R.

Furlanetto, L. M., Marinho, C. C., Palma-Silva, C., Albertoni, E. F., Figueiredo-Barros, M. P., & de Assis Esteves, F. (2012). Methane levels in shallow subtropical lake sediments: dependence on the trophic status of the lake and allochthonous input. *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters*, *42*(2), 151-155.

Furtado, A. L. D. S., Casper, P., & Esteves, F. D. A. (2002). Methanogenesis in an impacted and two dystrophic coastal lagoons (Macaé, Brazil). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *45*(2), 195-202.

García, J. L., Patel, B. K., & Ollivier, B. (2000). Taxonomic, phylogenetic, and ecological diversity of methanogenic Archaea. *Anaerobe*, *6*(4), 205-226.

González-Valencia, R., Sepulveda-Jauregui, A., Martinez-Cruz, K., Hoyos-Santillan, J., Dendooven, L., & Thalasso, F. (2014). Methane emissions from Mexican freshwater bodies: correlations with water pollution. *Hydrobiologia*, *721*(1), 9-22.

Hambrick III, G. A., DeLaune, R. D., & Patrick Jr, W. H. (1980). Effect of estuarine sediment pH and oxidation-reduction potential on microbial hydrocarbon degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, *40*(2), 365-369.

Hernández, M. E. (2010). Suelos de humedales como sumideros de carbono y fuentes de metano. *Terra Latinoamericana*, *28*(2), 139-147.

Herrera J & Morales S. 2010. Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. Durán R y Méndez M (Eds) CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA. 496 pp.

Hirota, M., Senga, Y., Seike, Y., Nohara, S., & Kunii, H. (2007). Fluxes of carbon dioxide, methane and nitrous oxide in two contrastive fringing zones of coastal lagoon, Lake Nakaumi, Japan. *Chemosphere*, *68*(3), 597-603.

Inland Waters Directore, Water Quality Branch. (1974). Analythical Methods Manual. Ottawa, Canada.

Inubushi, K., Furukawa, Y., Hadi, A., Purnomo, E., & Tsuruta, H. (2003). Seasonal changes of CO₂, CH₄ and N₂O fluxes in relation to land-use change in tropical

peatlands located in coastal area of South Kalimantan. *Chemosphere*, *52*(3), 603-608.

Jayawardana, D. T., Pitawala, H. M. T. G. A., & Ishiga, H. (2011). Chemical stability relations of sediments and water in tsunami affected Sri Lankan lagoons: the effect on groundwater chemistry. *Journal of Geological Society of Sri Lanka*, *14*, 71-19.

Kellermann, M. Y., Wegener, G., Elvert, M., Yoshinaga, M. Y., Lin, Y. S., Holler, T., & Hinrichs, K. U. (2012). Autotrophy as a predominant mode of carbon fixation in anaerobic methane-oxidizing microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(47), 19321-19326.

Koné, Y. J. M., Abril, G., Delille, B., & Borges, A. V. (2010). Seasonal variability of methane in the rivers and lagoons of Ivory Coast (West Africa). *Biogeochemistry*, 100(1), 21-37.

Levipan, H. A., Quiñones, R. A., Johansson, H. E., & Urrutia, H. (2007). Methylotrophic methanogens in the water column of an upwelling zone with a strong oxygen gradient off Central Chile. *Microbes and Environments*, *22*(3), 268-278.

Li, Z., Sheng, Y., Yang, J., & Burton, E. D. (2016). Phosphorus release from coastal sediments: impacts of the oxidation-reduction potential and sulfide. *Marine pollution bulletin*, *113*(1-2), 176-181.

López-Portillo, J., Lara-Domínguez, A. L., Ávila-Ángeles, A., Vázquez-Lule, A. D., & CONABIO. (2009). Caracterización del sitio de manglar La Mancha. *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO)(Ed.)*. Sitios de manglar con relevancia biológica y con necesidades de rehabilitación ecológica. CONABIO, México.

Marín-Muñiz, J. L., Hernández, M. E., & Moreno-Casasola, P. (2015). Greenhouse gas emissions from coastal freshwater wetlands in Veracruz Mexico: effect of plant community and seasonal dynamics. *Atmospheric Environment*, 107, 107-117.

Martínez, M. L., Vázquez, G., López-Portillo, J., Psuty, N. P., García-Franco, J. G., Silveira, T. M., & Rodríguez-Revelo, N. A. (2012). Dinámica de un paisaje complejo en la costa de Veracruz. *Investigación Ambiental Ciencia y Política Pública*, *4*(2), 151-160.

Mendoza-Mojica, M., Martínez-Arroyo, A., Espinosa-Fuentes, M. D. L. L., Peralta-Rosales, O., & Castro Romero, T. (2013). Caracterización de dos lagunas costeras del pacífico tropical mexicano en relación con el contenido de carbono y la captura y emisión de CH₄ y CO₂. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29(2), 145-154.

Nazaries, L., Murrell, J. C., Millard, P., Baggs, L., & Singh, B. K. (2013). Methane, microbes and models: fundamental understanding of the soil methane cycle for future predictions. *Environmental Microbiology*, *15*(9), 2395-2417.

Orphan, V. J., House, C. H., Hinrichs, K. U., McKeegan, K. D., & DeLong, E. F. (2002). Multiple archaeal groups mediate methane oxidation in anoxic cold seep sediments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *99*(11), 7663-7668.

Ortíz-Llorente, M. J., & Alvarez-Cobelas, M. (2012). Comparison of biogenic methane emissions from unmanaged estuaries, lakes, oceans, rivers and wetlands. *Atmospheric Environment*, *59*, 328-337.

Palma-Silva, C., Marinho, C. C., Albertoni, E. F., Giacomini, I. B., Barros, M. P. F., Furlanetto, L. M., & de Assis Esteves, F. (2013). Methane emissions in two small shallow neotropical lakes: the role of temperature and trophic level. *Atmospheric Environment*, *81*, 373-379.

Pattnaik, P., Mishra, S. R., Bharati, K., Mohanty, S. R., Sethunathan, N., & Adhya, T. K. (2000). Influence of salinity on methanogenesis and associated microflora in tropical rice soils. *Microbiological Research*, *155*(3), 215-220.

Pavel, A., Durisch-Kaiser, E., Balan, S., Radan, S., Sobek, S., & Wehrli, B. (2009). Sources and emission of greenhouse gases in Danube Delta lakes. *Environmental Science and Pollution Research*, *16*(1), 86-91.

Penger, J., Conrad, R., & Blaser, M. (2012). Stable carbon isotope fractionation by methylotrophic methanogenic archaea. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(21), 7596-7602.

Penning, H., Claus, P., Casper, P., & Conrad, R. (2006). Carbon isotope fractionation during acetoclastic methanogenesis by *Methanosaeta concilii* in culture and a lake sediment. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(8), 5648-5652.

Poffenbarger, H. J., Needelman, B. A., & Megonigal, J. P. (2011). Salinity influence on methane emissions from tidal marshes. *Wetlands*, *31*(5), 831-842.

Potter, E. G., Bebout, B. M., & Kelley, C. A. (2009). Isotopic composition of methane and inferred methanogenic substrates along a salinity gradient in a hypersaline microbial mat system. *Astrobiology*, *9*(4), 383-390.

Pradhan, U. K., Sahoo, R. K., Pradhan, S., Mohany, P. K., & Mishra, P. (2020). Textural analysis of coastal sediments along east coast of India. *Journal of the Geological Society of India*, *95*(1), 67-74.

Provoost, P., Van Heuven, S., Soetaert, K., Laane, R. W. P. M., & Middelburg, J. J. (2010). Seasonal and long-term changes in pH in the Dutch coastal zone. *Biogeosciences*, 7(11), 3869-3878.

Purvaja, R., & Ramesh, R. (2001). Natural and anthropogenic methane emission from coastal wetlands of South India. *Environmental Management*, *27*(4), 547-557.

Rao, G. D., & Sarma, V. V. S. S. (2016). Variability in concentrations and fluxes of methane in the Indian estuaries. *Estuaries and Coasts*, *39*(6), 1639-1650.

Reeburgh, W. S. (2007). Oceanic methane biogeochemistry. *Chemical Reviews*, 107(2), 486-513.

Rolston, D. E. (1986). Gas flux. *Methods of Soil Analysis: Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, *5*, 1103-1119.

Ruiz, M., & López-Portillo, J. (2014). Variación espacio-temporal de la comunidad de macroinvertebrados epibiontes en las raíces del mangle rojo *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae) en la laguna costera de La Mancha, Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical*, 62(4), 1309-1330.

Schmid, M., Ostrovsky, I., & McGinnis, D. F. (2017). Role of gas ebullition in the methane budget of a deep subtropical lake: what can we learn from process-based modeling?. *Limnology and Oceanography*, *62*(6), 2674-2698.

Schubert, C. J., Vazquez, F., Lösekann-Behrens, T., Knittel, K., Tonolla, M., & Boetius, A. (2011). Evidence for anaerobic oxidation of methane in sediments of a freshwater system (Lago di Cadagno). *FEMS Microbiology Ecology*, *76*(1), 26-38.

Sebastián, R., & Chacko, J. (2006). Distribution of organic carbon in tropical mangrove sediments (Cochin, India). *International Journal of Environmental Studies*, 63(3), 303-311.

Shinn, M. B. (1941). Colorimetric method for determination of nitrate. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*, *13*(1), 33-35.

Solórzano, L., (1969). Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypoclorite method. *Limnology and Oceanography*, *14*, 799-801.

St. Louis, V. L., Kelly, C. A., Duchemin, É., Rudd, J. W., & Rosenberg, D. M. (2000). Reservoir Surfaces as Sources of Greenhouse Gases to the Atmosphere: a Global Estimate. *BioScience*, *50*(9), 766-775.

Strickland, J. D. H., & Parsons, T. R. (1968). A manual of sea water analysis (pp 310), Bulletin of Fisheries Research Board of Canada, Ottawa.

Sudhanandh, V. S., Udayakumar, P., Ouseph, P. P., Amaldev, S., & Babu, K. N. (2011). Dispersion and accumulation trend of heavy metals in coastal and estuarine sediments and its textural characteristics, a case study in India. *Journal of Human Ecology*, *36*(2), 85-90.

Sun, Z., Wang, L., Tian, H., Jiang, H., Mou, X., & Sun, W. (2013). Fluxes of nitrous oxide and methane in different coastal *Suaeda salsa* marshes of the Yellow River estuary, China. *Chemosphere*, *90*(2), 856-865.

Thauer, R. K., Kaster, A. K., Seedorf, H., Buckel, W., & Hedderich, R. (2008). Methanogenic archaea: ecologically relevant differences in energy conservation. *Nature Reviews Microbiology*, *6*(8), 579-591.

Tong, C., Cadillo-Quiroz, H., Zeng, Z. H., She, C. X., Yang, P., & Huang, J. F. (2017). Changes of community structure and abundance of methanogens in soils along a freshwater–brackish water gradient in subtropical estuarine marshes. *Geoderma*, 299, 101-110.

Torres R, Gutiérrez F & Contreras F. 2002. Calentamiento atmosférico: la importancia de la metanogénesis y los humedales. *ContactoS*, *43*, 19-31.

Torres-Alvarado, M. R., Fernández, F. J., Ramírez Vives, F., & Varona-Cordero, F. (2013). Dynamics of the methanogenic archaea in tropical estuarine sediments. *Archaea*, *2013*, 582646.

Torres-Alvarado, M. R., Calva-Benítez, L. G., Álvarez-Hernández, S., & Trejo-Aguilar, G. (2016). Anaerobic microbiota: spatial-temporal changes in the sediment of a tropical coastal lagoon with ephemeral inlet in the Gulf of Mexico. *Revista de Biología Tropical*, *64*(4), 1759-1770.

Tremblay, A., Varfalvy, L., Garneau, M., & Roehm, C. (Eds.). (2005). *Greenhouse gas Emissions-Fluxes and Processes: hydroelectric reservoirs and natural environments*. Springer Science & Business Media.

Van Leerdam, R. C., Bonilla-Salinas, M., de Bok, F. A., Bruning, H., Lens, P. N., Stams, A. J., & Janssen, A. J. (2008 a). Anaerobic methanethiol degradation and methanogenic community analysis in an alkaline (pH 10) biological process for liquefied petroleum gas desulfurization. *Biotechnology and Bioengineering*, *101*(4), 691-701.

Van Leerdam, R. C., de Bok, F. A., Bonilla-Salinas, M., Van Doesburg, W., Lomans, B. P., Lens, P. N., & Janssen, A. J. (2008 b). Methanethiol degradation in anaerobic bioreactors at elevated pH (> 8): Reactor performance and microbial community analysis. *Bioresource Technology*, *99*(18), 8967-8973.

Varona-Cordero, F., Gutiérrez-Mendieta, F. J., & Rivera-Monroy, V. H. (2014). In situ response of phytoplankton to nutrient additions in a tropical coastal lagoon (La Mancha, Veracruz, Mexico). *Estuaries and Coasts*, *37*(6), 1353-1375.

Vavilin, V., Rytov, S., & Conrad, R. (2017). Modelling methane formation in sediments of tropical lakes focusing on syntrophic acetate oxidation: Dynamic and static carbon isotope equations. *Ecological Modelling*, *363*, 81-95.

Verma, A., Subramanian, V., & Ramesh, R. (2002). Methane emissions from a coastal lagoon: Vembanad Lake, West Coast, India. *Chemosphere*, 47(8), 883-889.

Vieira, R. P., Clementino, M. M., Cardoso, A. M., Oliveira, D. N., Albano, R. M., Gonzalez, A. M., & Martins, O. B. (2007). Archaeal communities in a tropical estuarine ecosystem: Guanabara Bay, Brazil. *Microbial Ecology*, *54*(3), 460-468.

Waldron, P. J., Petsch, S. T., Martini, A. M., & Nüsslein, K. (2007). Salinity constraints on subsurface archaeal diversity and methanogenesis in sedimentary rock rich in organic matter. *Applied Environmental Microbiology*, 73(13), 4171-4179.

Welte, C., & Deppenmeier, U. (2014). Bioenergetics and anaerobic respiratory chains of aceticlastic methanogens. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1837(7), 1130-1147.

Welti, N., Hayes, M., & Lockington, D. (2017). Seasonal nitrous oxide and methane emissions across a subtropical estuarine salinity gradient. *Biogeochemistry*, *132*(1), 55-69.

Whitman, W. B., Bowen, T. L., & Boone, D. R. (2006). The methanogenic bacteria. In *The prokaryotes* (pp 165-207). Springer, New York, NY.

Zhu, L., Qin, B., Zhou, J., Van Dam, B., & Shi, W. (2018). Effects of turbulence on carbon emission in shallow lakes. *Journal of Environmental Sciences*, *69*, 166-172.



ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00212

Matrícula: 2183801749

Actividad metanogénica y emisiones de metano en la laguna costera de la Mancha, Veracruz

En la Ciudad de México, se presentaron a las 12:00 horas del día 26 del mes de junio del año 2022 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. FREDERIC THALASSO SIRET
DRA. MONICA DEL PILAR BONILLA SALINAS
DR. FRANCISCO JOSE GUTIERREZ MENDIETA
DRA. FLORINA RAMIREZ VIVES

de G
obte

MAES

DE:

y de
Reg1
Autó

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGIA

DE: ALMA VIANI GARCIA PEREZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

aprobar

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

ais

PRESIDENTE

DR. FREDERIC THALASSO SIRET

VOCAL

ALMA VIANI GARCIA PEREZ ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DRA. MONICA DEL PILAR BONILLA SALINAS

VOCAL

DR. FRANCISCO JOSE GUTIERREZ MENDIETA SECRETARIA

DRA. FLORINA RAMIREZ VIVES