

## MEDICION DE LA PRODUCCION BACTERIANA EN UN EMBALSE PATAGONICO. VARIACIONES ESPACIO TEMPORALES Y RELACIONES CON LA PRODUCCION PRIMARIA

MIGUEL A. DI SIERVI, ALDO A. MARIAZZI Y JORGE L. DONADELLI

*Instituto de Limnología "Dr. Raúl A. Ringuelet", C.C. 712, 1900 La Plata, Argentina.  
Contribución Nº 619.*

**SUMMARY: Measurement of bacterial production in a Patagonian reservoir. Spatial and temporal variations and relationships with primary production.**

The purpose of this work is the assessment of the relationships between bacterioplanktonic biomass and secondary production and biomass and primary production of the phytoplankton. The research was carried out at the Ezequiel Ramos Mexía reservoir, a 816 km<sup>2</sup> waterbody located in Neuquén province (Argentina). Similar trends were observed at the three sampling sites, with maximum values of bacterial production in coincidence with primary production peaks in the water column. Significant values of bacterial production also occurred in the aphotic zone. Maximum production rates were observed in summer, seasonal variations revealing a pattern similar to that of the primary production. Temperature seems to be an important regulator of this trend. The lack of correlation between bacterial numbers and their production rates suggests that in winter, when bacterial densities are highest and their production is lowest, most bacteria are in starvation or dormant stages.

**KEY WORDS:** Bacteria, algae, production, (<sup>3</sup>H)-thymidine, space-time variations.

**RESUMEN: Medición de la producción bacteriana en un embalse patagónico. Variaciones espacio temporales y relaciones con la producción primaria.**

El propósito básico de este trabajo es la evaluación de las relaciones entre la biomasa y producción secundaria del bacterioplancton y la biomasa y producción primaria del fitoplancton. La investigación se realizó en el embalse Ezequiel Ramos Mexía, un cuerpo de agua de 816 Km<sup>2</sup> localizado en la provincia de Neuquén (Argentina). Se observó un comportamiento similar en las tres estaciones de muestreo, con valores máximos de producción bacteriana en coincidencia con los de producción primaria en la columna de agua. También se registraron valores importantes de producción bacteriana en la zona afótica. Las tasas máximas se observaron en verano y las variaciones estacionales tuvieron igual comportamiento que las de la producción primaria. La temperatura parece ser un importante regulador de dichas variaciones. La falta de correlación entre el número de bacterias y su producción sugiere que los altos valores de bacterias en invierno, en coincidencia con una baja actividad, estarían asociados a estados de vida latente de gran parte de las bacterias.

**PALABRAS CLAVE:** Bacterias, algas, producción, (<sup>3</sup>H)-timidina, variaciones espacio temporales.

## INTRODUCCION

Las bacterias han sido reconocidas como eslabones básicos de la cadena alimentaria (Sorokin, 1978; Pomeroy, 1974; Williams, 1981).

El fitoplancton puede proveer de materia orgánica a las bacterias directamente a través de la excreción o de la lisis de células muertas. Por otro lado, las bacterias proveen al fitoplancton de nutrientes que pueden ser suministrados en cantidades limitantes, siendo el crecimiento fitoplanctónico, en tales casos, directamente dependiente de la actividad bacteriana.

El flujo de energía en un ambiente acuático está representado en los múltiples circuitos de circulación entre los diferentes organismos que lo pueblan. Conocer todos estos caminos es una ardua tarea a la que están abocados muchos investigadores. Nuestro trabajo, desarrollado en el embalse Exequiel Ramos Mexía, tuvo como objetivo estimar la producción secundaria bacteriana y producción primaria algal a lo largo de un año, con el fin de efectuar un aporte al conocimiento de las complejas relaciones existentes entre bacterias y algas. La ubicación y características del embalse se describen detalladamente en Mariazzi *et al.* (1991).

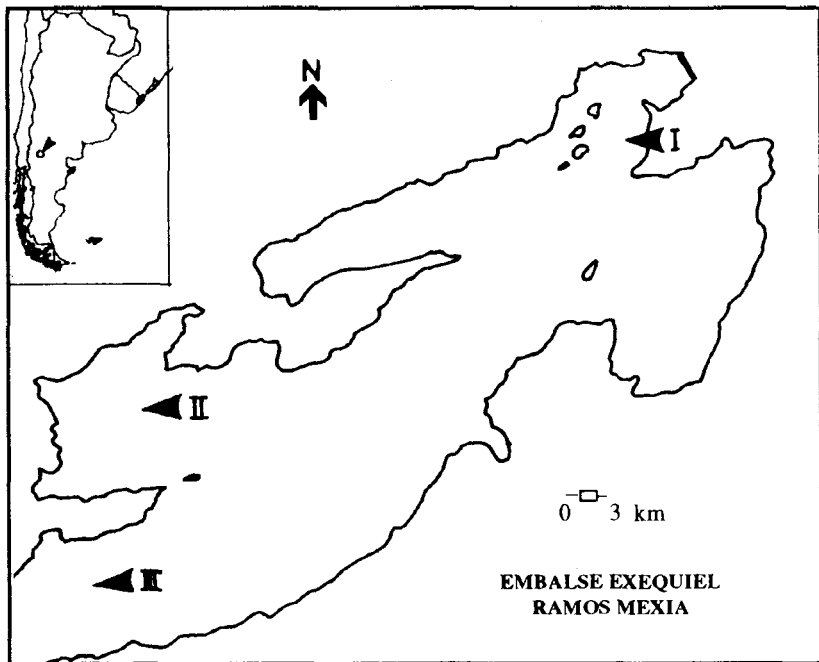


Fig. 1: Ubicación de las estaciones de muestreo en el embalse Exequiel Ramos Mexía

## MATERIALES Y METODOS

Los muestreos fueron mensuales desde agosto de 1985 a agosto de 1986, y en tres estaciones (fig. 1). Se obtuvieron muestras de superficie, (1), (2,5), (5), (7,5), (10), (15), (20) metros y fondo (a un metro sobre el sedimento). Los relevamientos se efectuaron con una botella de tipo van Dorn y en particular para la clorofila, mediante un sistema de bombeo. La temperatura se midió directamente de la boca de bombeo con un termómetro. La clorofila se determinó según Lorenzen (1967). La producción primaria (PP) se midió *in situ* según Steemann Nielsen (1952). Dos botellas claras y una oscura por cada profundidad se inocularon con 4 mCi de  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$  y se incubaron por cuatro horas entre las 10 y las 14 hs. aproximadamente. Luego el agua se filtró por filtros de 0,45  $\mu\text{m}$ . Los filtros se colocaron en viales, se secaron y se solubilizaron con 1 ml de acetato de etilo. Luego se agregaron 10 ml de un cóctel con base de tolueno y se midió la radiactividad en un espectrómetro Beckman LS-100, determinándose el quenching por el método de la relación de canales.

La producción secundaria bacteriana (PSB) se midió incubando por 4 horas al mediodía, siguiendo la metodología de Fuhrman y Azam (1982) con algunas modificaciones (Riemann, 1984). Las muestras de 50 ml, por duplicado, fueron inoculadas con 2,5 nM de (metil- $^3\text{H}$ )timidina, 50 - 80 Ci.mmol<sup>-1</sup> (New England Corp., Boston, Mass., USA). La producción bacteriana se detuvo por el agregado de formol (2% conc. final). Las muestras se filtraron por filtros de 0,2  $\mu\text{m}$  y se procesaron de la misma forma que para la producción primaria. Las lecturas de radiactividad fueron corregidas con una curva de "quenching" realizada con estándares de tolueno tritiado, calculándose la eficiencia con lecturas del estándar externo.

Los moles de ( $^3\text{H}$ )-timidina incorporados fueron calculados por la fórmula:

$$\text{moles} = (\text{des/min})/(\text{AS}) \times 4,5 \times 10^{-13}$$

donde *des/min* son las desintegraciones por minuto sobre el filtro, *AS* es la actividad específica de la solución de timidina en Ci/mmol y  $4,5 \times 10^{-13}$ , el número de curies por des/min.

La producción bacteriana fue calculada de acuerdo a la siguiente ecuación (Bell *et al.*, 1983):

$\text{mgC} \cdot \text{h}^{-1} : \text{nmoles de } (^3\text{H})\text{timidina en el extracto insoluble en ácido tricloroacético} \times \text{factor de conversión (cel/nmol)} \times \text{carbono celular promedio} \times 60 / \text{tiempo de incubación (minutos)}$ .

La producción bacteriana fue calculada como un rango establecido por el uso de dos factores de conversión  $2 \times 10^9$  -  $1,08 \times 10^{10}$  cel.nmol<sup>-1</sup> para los meses de temperaturas menores a 13 °C y  $1,08 \times 10^{10}$  -  $3,3 \times 10^{10}$  cél.nmol<sup>-1</sup> para los meses cálidos (noviembre a abril), (Di Siervi, M. *et al.*, 1995).

Las bacterias se cuantificaron y se estimaron los volúmenes por el método de

microscopía de epifluorescencia con naranja de acridina (Hobbie *et al.*, 1977). La biomasa se calculó multiplicando el volumen medio de cada muestra por el factor  $1,21 \times 10^{-13}$  grC. $\mu\text{m}^{-3}$  (Watson *et al.*, 1977).

## RESULTADOS

A partir de los meses fríos y hasta el verano, hubo aumentos graduales de la producción primaria (PP) y también de la secundaria bacteriana (PSB). A partir de noviembre, los registros de PP fueron irregulares aunque se apreció un marcado aumento de la misma cuando la temperatura superó los 13 °C. En diciembre, la PSB aumentó desde superficie hasta los 5 metros, disminuyendo luego hasta los 10 metros, tal como ocurrió con la producción algal. De enero a abril hubo una estrecha relación entre ambas producciones. En mayo y junio la producción primaria disminuyó en forma muy marcada, siendo también muy baja la PSB en la zona fótica. En julio y agosto hay un leve aumento de ambas producciones. La temperatura media anual fue de 13,4 °C, con una máxima en enero de 20 °C en superficie. La mínima se registró en junio y julio con 6 °C.

La PP tuvo sus máximos valores a los 2,5 y 5 metros y el comportamiento de la PSB fue similar para la zona fótica, con altos valores a los 5 metros y en la zona cercana al límite de transparencia. Es decir, hay un desfase vertical con respecto a la PP, encontrándose también valores importantes en la zona afótica, lo que indicaría la presencia de procesos de activa descomposición orgánica en los estratos más profundos (Fig. 2).

En las tres estaciones de muestreo observamos que la PP fue acompañada por un ciclo anual de PSB de comportamiento bastante similar, con una baja producción invernal y con máximos valores en los meses cálidos, en los que la temperatura promedio estuvo alrededor de los 17-18 °C.

La PP estuvo entre 1 y 173 mgC. $\text{m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ . Si bien las tasas de producción bacteriana se estimaron a partir de dos factores de conversión, cuyo resultado final es un rango, la PSB osciló entre valores promedios de 1 y 54 mgC. $\text{m}^{-2}.\text{h}^{-1}$  en las distintas estaciones (Fig. 3). El porcentaje de PSB respecto de la PP tomada como 100 % estuvo entre un máximo de 45 % en enero y mínimos cercanos a 2 % en mayo y junio.

Las tasas de crecimiento y producción bacterianas son mayores en períodos de mayor temperatura. Prueba de ello fueron las tasas de crecimiento instantáneo calculadas, de 100 horas para julio, cuando la temperatura fue de 6 °C y de solamente 11 horas en diciembre, con temperaturas cercanas a 20 °C.

Resultó llamativo un comportamiento opuesto entre el número de bacterias y su producción. En la estación I se registraron dos picos máximos precisamente en los meses en los que la PSB fue menor. Esto no representaría un hecho casual, ya que los mismos resultados se apreciaron en las demás estaciones (Fig. 4). Algo similar ocurrió entre PP y clorofila. Por

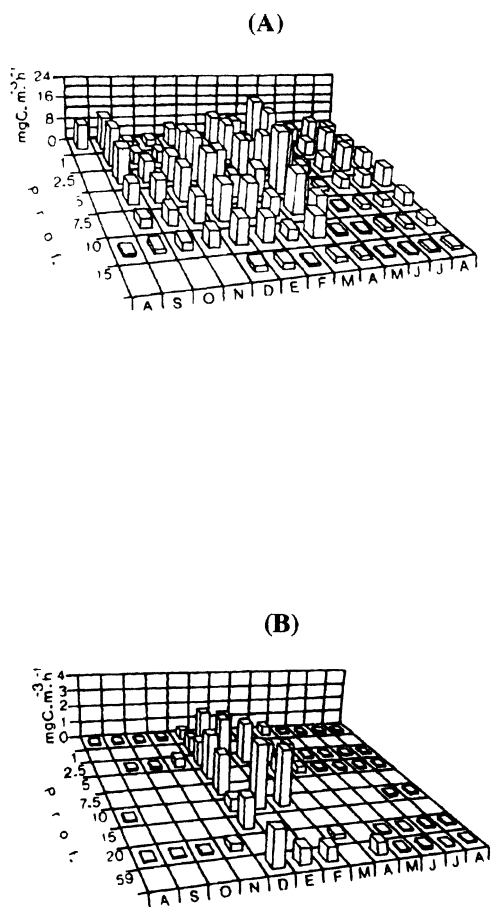


Fig. 2: Perfiles verticales de la producción primaria (A) y producción secundaria bacteriana (valores promedio del rango, B) en la estación I, desde agosto de 1985 a agosto de 1986.

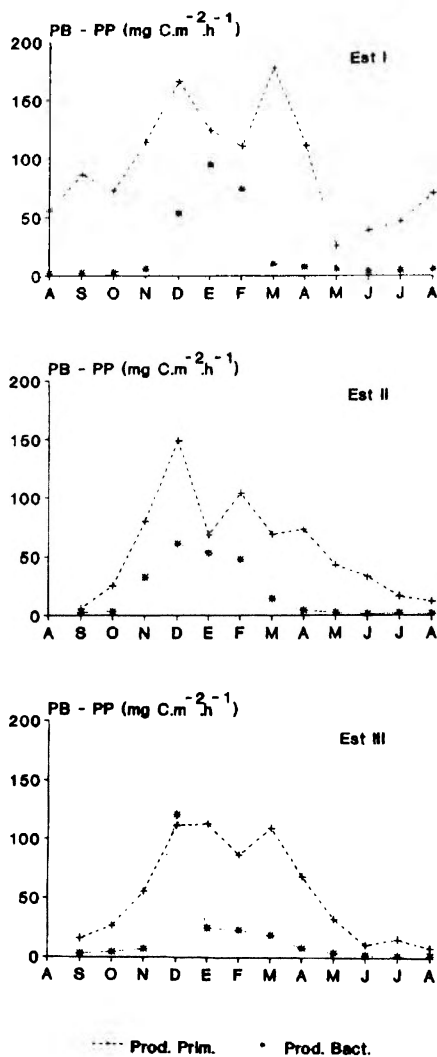
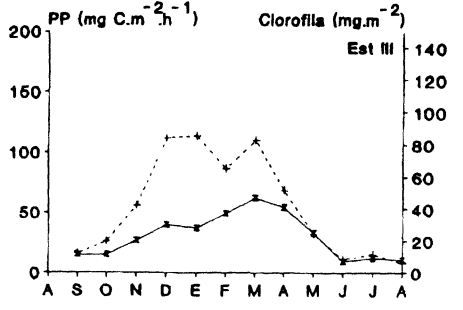
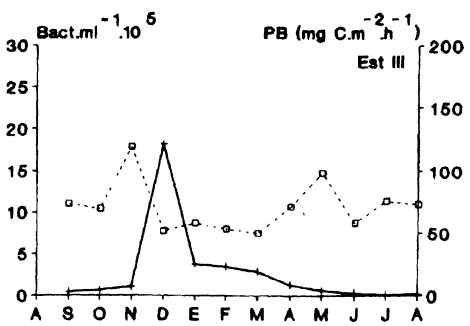
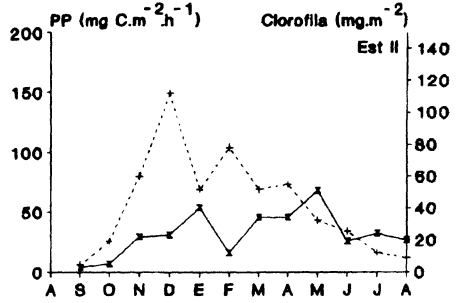
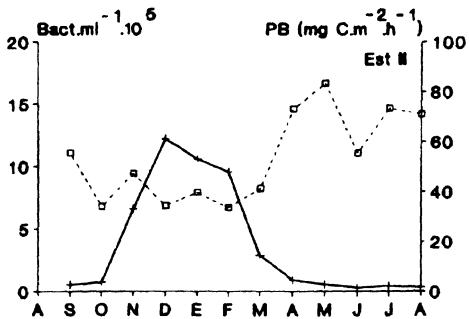
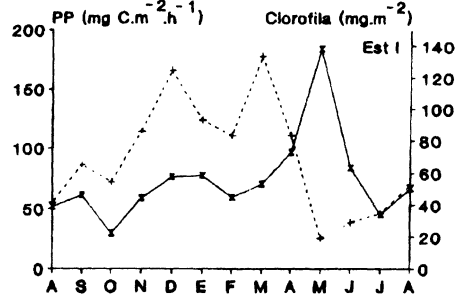
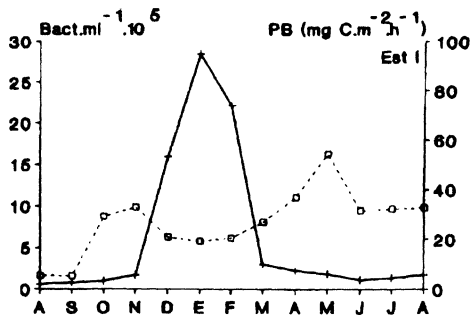


Fig. 3: Valores de producción primaria y producción secundaria bacteriana (promedio del rango), registrados en las estaciones I, II y III.



— Prod. Bact.    - - - Bacterias totales

- - - Prod. Prim.    — Clorofila

Fig. 4: Valores de producción secundaria bacteriana (valores promedio del rango) y número de bacterias totales (promedio de la columna de agua) registrados en las estaciones I, II y III.

Fig. 5: Valores de producción primaria y clorofila registrados en las estaciones I, II y III.

ejemplo, en la estación III la producción primaria fue mayor en los meses de verano, mientras que la cantidad de clorofila fue notoriamente alta en marzo, abril y mayo (Fig. 5).

## DISCUSION

Durante el año de trabajo, pudieron reconocerse tres subperíodos en la producción bacteriana, el primero de baja actividad; el segundo, de índices máximos en los meses de verano y el tercero, con una producción que retornó a valores muy bajos. También en profundidad, mensualmente se apreciaron notables diferencias verticales.

Las bacterias son capaces de crecer rápidamente en aguas libres de partículas, a expensas de materia orgánica disuelta (Ammerman *et al.*, 1984), la cual provendría originalmente del fitoplancton (Ducklow & Kirchman, 1983). Los nutrientes pueden llegar al medio no sólo por lisis celular sino que su concentración está ligada a la excreción de materia orgánica durante la fotosíntesis. Aunque las bacterias difieren en el grado de dependencia a los exudados algales, muchos autores consideran al crecimiento bacteriano entre el 10 y el 80 % (Larsson & Hagström, 1982; Riemann, 1983; Bell *et al.*, 1983; Bell & Kuparinen, 1984). De este modo también en el embalse Ramos Mexía, el fitoplancton sería el generador de la materia orgánica necesaria para el crecimiento y producción bacterianos, lo cual fue comprobado por la evidente relación entre PP y PSB, mucho más manifiesta ante el aumento de la temperatura. Si se considera una eficiencia bacteriana del 60 % (Calow, 1977), el porcentaje de la producción algal que se necesitaría para sostener la producción de las bacterias sería mucho mayor a los indicados. En enero sería del 76 %, con un mínimo cercano al 4 % en época invernal. Además de lo excretado por el fitoplancton, habría otros procesos que son importantes en el aporte de materia orgánica disuelta utilizable por las bacterias y no considerados, pero que explicarían un porcentaje aún mayor. Además, dado que la PP está limitada al período de luz solar, mientras que las bacterias producen durante las 24 horas, estos porcentajes superarían olgadamente el 100 % de la producción primaria, especialmente en la época estival.

En los sedimentos habría una considerable producción bacteriana. En condiciones de calma, debido a la sedimentación de materia orgánica y bacterias, aumenta la producción en el fondo, pero este material vuelve a la columna de agua debido a la turbulencia inducida por los vientos (Moriarty *et al.*, 1985b). Es por esta causa que la interfase agua sedimento sea una región de intensa actividad, en la que se efectuaría la mayor actividad heterotrófica (Novitsky, 1983). Esto explicaría el aumento aquí registrado de la PSB en las zonas más profundas del lago, con picos por debajo de los 15 metros en la estación I y una importante y regular producción cercana al fondo en las estaciones II y III.

Muchas veces los datos de actividad bacteriana o algal son utilizados con ligereza para justificar la ubicación de un ambiente determinado en alguna categoría trófica. En Bell *et al.* (1983) se efectúa una revisión de los distintos valores de producción calculados por varios

autores y con distintos métodos. Los datos calculados en el Embalse Ramos Mexía son semejantes a los indicados para lagos eutróficos, mientras que en base a una serie de variables, fue caracterizado como oligo mesotrófico por Mariazzi *et al.* (1991).

El clásico modelo de crecimiento bacteriano en un cultivo, comienza con un crecimiento logarítmico sigue luego exponencial, estacionario y finalmente declinante. Pero en ambientes naturales la situación es más compleja, con bacterias en diversos estados de crecimiento al mismo tiempo. El cambio anual y paralelo de la tasa de producción bacteriana y el ciclo de crecimiento algal, sugirieron que la población bacteriana en el embalse dependía principalmente de la producción primaria como un recurso accesible y continuo de nutrientes. Para la utilización de tales recursos, la bacteria no sólo debe estar en el sistema sino que debe ser activa. Con los conteos directos se obtiene sólo el número de bacterias, pero sin llegar a conocer su estado fisiológico. El gran número de pequeñas células presentes en las muestras de invierno, indicarían que no todas son activas y que están en un estado de latencia (Morita, 1983). Novitsky (1983) consideró que el incremento de la actividad bacteriana es debido a un gran número de bacterias activas, en un grado mayor que a un alto porcentaje de células activas o al aumento de la actividad celular. En nuestro estudio se observó un aumento de producción ligado a un aumento de la temperatura, lo que estaría dado por un aumento del porcentaje de células activas debido a un menor número de bacterias totales y una mayor biomasa por aumento del volumen de los individuos productivos (Mariazzi *et al.*, en prensa). Quizás pueda justificarse en forma semejante la discrepancia observada entre PP y clorofila, como también que, a una temperatura adecuada, exista una estrecha relación entre presencia y actividad de algas y bacterias.

Teniendo en cuenta que la PSB es cuantitativamente importante, se confirma una vez más que el bacterioplancton actúa como un eslabón fundamental en la cadena alimentaria. Su producción se desarrolla principalmente a expensas de materia orgánica disuelta. Este material, aún en muy baja concentración en las aguas, tras ser convertido en partículas nutricionales es reciclado en la cadena trófica. Pero no se puede considerar un modelo que se construya sólo en base a las producciones de algas y bacterias y a la temperatura, pues sería una simplificación que desprendería las seguramente numerosas e importantes variables que puedan actuar al mismo tiempo. Hay muchos organismos que consumen bacterioplancton, lo que establecería una cadena entre materia orgánica disuelta y bacterioplancton y entre bacterias y zooplancton. Los caminos entre estos eslabones son probablemente complejos y se necesitarán estudios específicos de cada uno de ellos para su total comprensión.

## BIBLIOGRAFIA

- AMMERMAN, J. W., FUHRMAN, J. A., HAGSTRÖM, A. & AZAM, F. 1984. Bacterioplancton growth in seawater: I. growth kinetics and cellular characteristics in seawater cultures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 18: 31-39.



- BELL, R. T. & KUPARINEN, J. 1984. Assessing phytoplankton and bacterioplankton production during early spring in Lake Erken, Sweden. *Appl. Environ. Microbio.* 48: 1221-1230.
- BELL, R. T., AHLGREN, G. M. & AHLGREN, I. 1983. Estimating bacterioplankton production by measuring (<sup>3</sup>H)thymidine incorporation in a eutrophic swedish lake. *Appl. Environ. Microbio.* 45: 1709-1721.
- CALOW, p. 1977. Conversion efficiencies in heterotrophic organisms. *Biol. Rev.* 52: 385-409.
- DI SIERVI, M. A., MARIAZZI, A. A. y DONADELLI, J. L. 1995.c. Medición de la producción bacteriana en un embalse patagónico - Aspectos metodológicos. Este volumen.
- DUCKLOW, H. W. & KIRCHMAN, D. L. 1983. Bacterial dynamics and distribution during a spring diatom bloom in the Hudson River PLume, U.S.A. *J. Plankton Res.* 5: 333-355.
- FUHRMAN, J. A. & AZAM, F. 1982. Thymidine incorporation as a measure if heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: evaluation and field results. *Mar. Biol.* 66: 109-120.
- HOBBIE, J. E., DALEY, R. J. & JASPER, S. 1977. Use of Nuclepore filters for counting bacteria by epifluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbio.* 33: 1225-1228.
- LARSSON, V. & HAGSTRÖM, A. 1982. Fractionated phytoplankton primary production, exudate release and bacterial production in a Baltic eutrophication gradient. *Marine Biology* 47: 57-70.
- LORENZEN, C. J. 1967. Determination of chlorophyll and phaeopigments: Spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.* 12: 343-346.
- MARIAZZI, A. A., CONZONNO, V. H., ECHENIQUE, R & LABOLLITA, H. A. 1991. Physical and chemical characters, phytoplankton and primary production of Ezequiel Ramos Mexía Reservoir (Argentina). *Hydrobiologia* 209: 107-116.
- MARIAZZI, A. A., DI SIERVI M. A. & DONADELLI J. L. 1995. Annual cycle of bacterial numbers, biovolumes and productivities in the Exequiel Ramos Mexía reservoir (Río Negro, Argentina). En Prensa, *Invernat. Verein.Limnol.*
- MORIARTY, D. J. W., BOON, P. I., HANSEN, J. A., HUNT, W. G., POINER, I. R., POLLARD, P. C., SKYRING, G. W. & WHITE, D. C. 1985. Microbial biomass and productivity in seagrass beds. *Geomicrobiol. J.* 4: 21-51.
- MORITA, R. T. 1983. Starvation of heterotrophs in the marine environments. *Adv. Microb. Ecol.* 6: 171-198
- NOVITSKY, J. A. 1983. Heterotrophic activity throughout a vertical profile of seawater in sediment in halifax harbor, Canada. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 1753-1760.
- POMEROY, L. R. 1974. The ocean's food web, a changing paradigm. *Bioscience* 24: 499-504.
- RIEMANN, B. 1983. Biomass and production of phyto- and bacterioplankton in eutrophic lake Tystrup, Denmark. *Freshwat. Biol.* 13: 389-398.
- RIEMANN, B. 1984. Determining growth of natural assemblages of freshwater bacteria by means of <sup>3</sup>H-thymidine incorporation into DNA: Comments on methodology. *Arch. Hydrobiol.*

*Beith. Ergebn. Limnol.* 19: 67-80.

- SOROKIN, Y. I. 1978. Decomposition of organic matter and nutrient regeneration. In: *Mar. Ecol.*, vol. IV. Ed.: O. Kinne. Willy Interscience, Chichester, p. 501-616.
- STEEMANN NIELSEN, E. 1952. The use of radioactive carbon ( $^{14}\text{C}$ ) for measuring organic production in the sea. *J. Conseil* 18: 117-140.
- WATSON, S. W., NOVITSKY, T. J., QUINBY, H. L. & VALOIS, F. W. 1977. Determination of bacterial number and biomass in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 940-947.
- WILLIAMS, P. J. 1981. Incorporation of microheterotrophic processes into the classical paradigm of the planktonic food web. *Kieler Meeresforsch. Sonderh.* 5: 1-28.